

MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

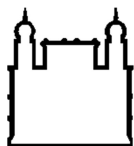
Doutorado em Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

**USO DE FLUIDO ORAL E SANGUE SECO EM PAPEL DE FILTRO COMO
ESPÉCIMES CLÍNICOS PARA INCREMENTO DO DIAGNÓSTICO E ESTUDO DE
PREVALÊNCIA DA HEPATITE B E AVALIAÇÃO DO NÍVEL DO CONHECIMENTO
SOBRE AS HEPATITES VIRAIS EM DIFERENTES GRUPOS NO BRASIL**

HELENA MEDINA CRUZ

RIO DE JANEIRO

Maio de 2018



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

HELENA MEDINA CRUZ

Uso de fluido oral e sangue seco em papel de filtro como espécimes clínicos para incremento do diagnóstico e estudo de prevalência da hepatite B e avaliação do nível do conhecimento sobre as hepatites virais em diferentes grupos no Brasil

Tese apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

Orientadora: Prof. Dra. Livia Melo Villar

RIO DE JANEIRO

MAIO DE 2018

Cruz, Helena Medina.

Uso de fluido oral e Sangue Seco em Papel de Filtro como espécimes clínicos para incremento do diagnóstico e estudo de prevalência da hepatite B e avaliação do nível do conhecimento sobre as hepatites virais em diferentes grupos no Brasil / Helena Medina Cruz. - Rio de Janeiro, 2018.

xvi, 220 f.; il.

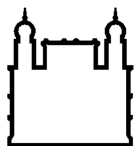
Tese (Doutorado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2018.

Orientadora: Livia Melo Villar.

Bibliografia: f. 177-194

1. Diagnóstico da hepatite B. 2. Sangue seco em papel filtro. 3. Fluido oral. 4. Conhecimento sobre hepatites virais. 5. Brasil sem Miséria. I. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da Biblioteca de Manguinhos/ICICT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

AUTOR: HELENA MEDINA CRUZ

USO DE FLUIDO ORAL E SANGUE SECO EM PAPEL DE FILTRO COMO
ESPÉCIMES CLÍNICOS PARA INCREMENTO DO DIAGNÓSTICO E ESTUDO DE
PREVALÊNCIA DA HEPATITE B E AVALIAÇÃO DO NÍVEL DO CONHECIMENTO
SOBRE AS HEPATITES VIRAIS EM DIFERENTES GRUPOS NO BRASIL

ORIENTADOR (ES): Profa. Dra. Livia Melo Villar

Aprovada em: 28/05/2018

EXAMINADORES:

Prof. Dra. Caroline Cordeiro Soares - Presidente (IOC/FIOCRUZ)

Prof. Dr. Orlando da Costa Ferreira Junior (UFRJ/RJ)

Prof. Dr. Marco Aurélio Pereira Horta (IOC/FIOCRUZ)

Prof. Dra. Luciane Almeida Amado Leon (IOC/FIOCRUZ)

Prof. Dra. Rosane Moreira Silva de Meirelles (UERJ/RJ)

Rio de Janeiro, 28 de Maio de 2018

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Hepatites Virais
do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ.

Agradecimentos

À minha orientadora, Dra. Livia Melo Villar, por mais essa oportunidade e confiança. Agradeço por compartilhar seus conhecimentos comigo, mas principalmente por ter aceitado a tarefa de me orientar e guiar nos caminhos da ciência, desde a iniciação científica. Serei eternamente grata.

À minha Filha, Luana, agradeço por mudar as prioridades em minha vida. O amor incondicional e, mesmo na difícil tarefa de conciliar a maternidade com o doutorado, não poderia ter tido melhor experiência. Amo você!

Ao meu marido, Flavio Nascimento, por apoiar a difícil decisão de fazer o doutorado e por isso, estar sempre longe, inclusive com nossa filha. Agradeço por todo amor, carinho, paciência, por me escutar, aguentar minhas reclamações e estar sempre ao meu lado, sendo um grande amigo e companheiro. Obrigada por estar nessa caminhada ao meu lado. Amo você!

Agradeço à minha família que sempre torceu por mim, principalmente meus pais e meu irmão por serem minha base, mas especialmente à minha mãe, Alice, pois nada seria possível sem sua ajuda, carinho, companheirismo e por cuidar de mim e da minha filha em tantos momentos. Não há palavras que expressem minha gratidão.

Aos meus amigos e minhas primas-amigas que estiveram comigo de longe e de perto nesse período, brigando, brincando, rindo, ajudando e aconselhando: Ana Carolina Fonseca, Brunna Marques, Elisângela Ferreira, Isabel Medina, Jorlan Fernandes, Juliana Miguel, Juliana Proença, Luísa Medina, Lyana Lima, Marjorie Lima, Paula Medina, Thais Souza e Vanessa Cortes. A amizade e carinho de vocês foram fundamentais nesse período

Agradeço às amigas “mamães de Setembro/2016-RJ” pelas muitas conversas sobre a maternidade, pelo apoio durante o doutorado, por me ouvirem inúmeras vezes, pela torcida e, por serem um ponto de equilíbrio e de escape nos momentos de “surto”.

Agradeço a toda a equipe do Ambulatório de Hepatites Virais e do Laboratório de Hepatites Virais, que estiveram ao longo desses anos, não apenas no doutorado, mas também durante toda minha trajetória científica, me auxiliando nas coletas e testagens, compartilhando momentos alegres e também tristes. Seria injusto colocar nomes e me esquecer de alguém, todos tiveram importância nessa conquista. Em especial, agradeço à Dra Elisabeth Lampe, chefe do Laboratório de Hepatites Virais, pela confiança e oportunidade, e ao saudoso Dr. Adilson José de Almeida (*in memoriam*) que foi essencial no desenvolvimento de várias etapas desse (e de muitos) trabalho, serei sempre grata por ter tido a oportunidade de conhecer e aprender tanto com ele.

Às demais alunas da Dra Livia Villar pela oportunidade de aprender mais com seus projetos e pela convivência ao longo dos anos.

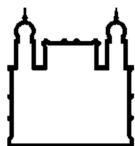
Agradeço aos colaboradores que auxiliaram na seleção, envio e obtenção de amostras e questionários para o desenvolvimento do trabalho: Dra Ana Rita Motta-Castro, Dr. Antônio Henrique Almeida de Moraes Neto, Dra. Claudia Ivantes, Dra. Cristiane Villela-Nogueira, Dra. Cristianne Bezerra, Dra. Erotildes Leal, Dr. Filipe Aníbal, Flavio Milagres, Dr. Francisco Bastos, Dra. Jakeline Barbosa, Dr. Jeová Colares, Dr. José Napoleão da Cruz, Dra. Jurema Corrêa da Mota, Dra. Kycia do Ó, Dra. Lia Laura Lewis-Ximenez, Dr. Marcelo Santos Cruz, Maria de Fátima Alencar, Dra. Priscila Flores, Dr. Tarcisio Matos de Andrade, Dra. Vanessa de Paula. Muito obrigada!

À FIOCRUZ e ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do IOC, em especial, à coordenadora Martha Muttis e aos professores do curso que contribuíram com todos os ensinamentos recebidos.

À CAPES e FIOCRUZ pelo fornecimento da bolsa de estudos que foram fundamentais para a realização deste trabalho

E claro, aos voluntários do estudo, pois sem eles nada disso seria possível.

A persistência é o menor caminho
do êxito". (Charles Chaplin)



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

**USO DE FLUIDO ORAL E SANGUE SECO EM PAPEL DE FILTRO COMO ESPÉCIMES CLÍNICOS
PARA INCREMENTO DO DIAGNÓSTICO E ESTUDO DE PREVALÊNCIA DA HEPATITE B E
AVALIAÇÃO DO NÍVEL DO CONHECIMENTO SOBRE AS HEPATITES VIRAIS EM DIFERENTES
GRUPOS NO BRASIL**

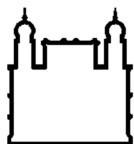
RESUMO

TESE DE DOUTORADO EM MEDICINA TROPICAL

Helena Medina Cruz

A utilização de amostras alternativas ao soro, bem como a avaliação do nível de conhecimento sobre as Hepatites Virais (HV) poderiam contribuir no aumento do acesso ao diagnóstico do vírus da hepatite B (HBV) e elaboração de planos para prevenção e controle das HVs. O objetivo deste trabalho foi determinar a aplicabilidade do uso de fluido oral e sangue seco em papel filtro (SSPF) para a detecção do HBV em áreas de difícil acesso, bem como avaliar a percepção sobre HVs em diferentes grupos. Na avaliação dos testes de diagnóstico para HBV, três grupos foram incluídos: G1) Alta prevalência, G2) Baixa prevalência e G3) Indivíduos com vulnerabilidade para aquisição de HBV. Foram obtidas 1296 amostras pareadas de fluido oral e soro para avaliação do desempenho da detecção do marcador anti-HBc e 2309 amostras pareadas de SSPF e soro para avaliação do desempenho da detecção de HBsAg, anti-HBc e anti-HBs. Também foram avaliados o teste comercial otimizado e teste comercial próprio para detecção do HBsAg em SSPF. Para avaliar o conhecimento sobre HV, dois estudos foram realizados utilizando um instrumento de coleta de dados. O primeiro estudo foi composto por 247 participantes em um evento de saúde na região Sudeste e moradores de uma cidade do Norte do País enquanto o segundo foi composto por 447 indivíduos provenientes de cinco diferentes populações: ambulatório de HV da região Sudeste; Centro médico das regiões Sul e Nordeste, e comunidades carentes das regiões Sudeste e Nordeste. O teste de detecção de anti-HBc em fluido oral e SSPF e de HBsAg em SSPF apresentou melhor desempenho no grupo de alta prevalência (67,7%; 75,5%; 77,3%, respectivamente); também houve boa concordância do SSPF com o soro entre indivíduos vulneráveis na detecção do anti-HBc (75,2%). O teste de detecção de anti-HBs em SSPF apresentou baixo desempenho em todos os grupos avaliados (<44,5%). O teste de anti-HBc em fluido oral e em SSPF apresentou maior sensibilidade quando considerados os indivíduos com infecção ativa (92,7%; 98,4%, respectivamente). O teste de detecção de anti-HBs em SSPF apresentou maior sensibilidade entre indivíduos com altos títulos de anticorpo. Observamos bom desempenho do teste de detecção de HBsAg em SSPF pelo EIE comercial otimizado e EIE próprio. Foi observado baixo nível de conhecimento sobre as HVs entre indivíduos de Manaus e RJ no estudo 1 e indivíduos do Centro médico de Fortaleza e comunidades carentes no estudo 2. Por outro lado, conhecimento desejável foi observado em ambulatórios da região Sudeste e Sul do Brasil. Concluímos que o fluido oral e SSPF podem ser empregados como alternativa ao soro na detecção dos marcadores HBsAg e anti-HBc em estudos de prevalência para HBV, especialmente em grupos com infecção ativa. O teste anti-HBs em SSPF não foi uma boa alternativa para avaliar a imunidade da infecção pelo HBV. O conhecimento sobre HVs observado indica que há necessidade de aumentar o acesso à educação, e promover campanhas de educação em saúde, especialmente entre indivíduos de comunidades carentes e com menor escolaridade.

Palavras-chave: Diagnóstico, Hepatite B, Sangue seco em papel filtro, Fluido oral, Conhecimento, Hepatites Virais, Brasil sem Miséria.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

USEFULNESS OF ORAL FLUID AND DRIED BLOOD SPOTS AS CLINICAL SPECIMEN TO DIAGNOSIS AND PREVALENCE STUDY OF HEPATITIS B AND EVALUATION OF VIRAL HEPATITIS KNOWLEDGE LEVEL IN DIFFERENT BRAZILIAN GROUPS

ABSTRACT

PHD THESIS IN MEDICINA TROPICAL

Helena Medina Cruz

The use of alternative samples to serum as well as the evaluation of the Viral Hepatitis (VH) knowledge level could contribute to increase the access to hepatitis B virus (HBV) diagnosis and to develop programs for HVs prevention and control. The objective of this study was to determine the applicability of oral fluid and dried blood spots (DBS) for the detection of HBV in remote areas and evaluate VHs perception in different groups. Three different groups were included in the evaluation of HBV diagnostic tests: G1) High prevalence, G2) Low prevalence and G3) Individuals with vulnerability to HBV acquisition. Paired oral fluid and serum samples were obtained from 1,296 individuals to evaluate the performance of anti-HBc marker detection and 2,309 persons gave paired DBS and serum samples to evaluate the performance of HBsAg, anti-HBc and anti-HBs detection tests. In addition, a commercial optimized test to DBS samples and a commercial test developed for HBsAg detection in DBS were evaluated. To evaluate VH knowledge, two studies were performed using a data collection instrument. The first study was composed of 247 participants recruited at health event in the Southeast region and residents of a city in the North of the country. The second study was composed of 447 individuals from five different populations: HV outpatient clinic in the Southeast region; Medical center of the South and Northeast regions, and underprivileged communities of the Southeast and Northeast regions. Anti-HBc detection test in oral fluid and DBS and HBsAg detection test in DBS showed the best performance in the high prevalence group (67.7%, 75.5%, 77.3%, respectively); there was also good agreement results for DBS and serum in vulnerable individuals (75.2%). Anti-HBs detection test in DBS showed low performance in all groups studied (<44.5%). Anti-HBc detection in oral fluid and DBS showed higher sensitivity when only active cases of HBV infection were considered (92.7%, 98.4%, respectively). Anti-HBs detection test in DBS showed the highest sensitivity among individuals showing elevated antibody titers. Good performance was observed for both assays (optimized commercial assay and specific assay) for HBsAg detection in DBS. A low HVs knowledge was observed among individuals from Manaus and RJ in study 1 and among individuals from Medical Center of Fortaleza and underprivileged communities in study 2. On the other hand, desirable knowledge was observed in outpatient clinics in the Southeast and Southern regions of Brazil. Oral fluid and DBS may be used as an alternative to serum for detecting HBsAg and anti-HBc markers in HBV prevalence studies, especially in groups with active infection. Anti-HBs test in DBS was not a good alternative to evaluate the immunity of HBV infection. HVs knowledge level observed indicates that is necessary increase the access to education and promote health education campaigns, especially among individuals from underprivileged communities and with lower education level.

Key words: Diagnosis, Hepatitis B, Dried blood spots, Oral fluid, Knowledge, Viral hepatitis, Brasil sem Miséria.

Sumário

Lista de Figuras.....	xiv
Lista de Quadros.....	xiv
Lista de sinais, símbolos e unidades de medidas.....	xv
Lista de siglas e abreviaturas.....	xv
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Hepatite B.....	2
1.1.1. Breve Histórico.....	2
1.1.2. Estrutura viral.....	3
1.1.3. Estrutura genômica.....	4
1.1.4. Replicação viral.....	8
1.1.5. Transmissão.....	10
1.1.6. Patologia e manifestações clínicas.....	11
1.1.7. Epidemiologia.....	15
1.1.8. Prevenção e Tratamento.....	18
1.1.9. Diagnóstico.....	20
1.1.10. Uso de fluido oral e sangue seco em papel de filtro como espécimes alternativos ao soro no diagnóstico do HBV.....	25
1.2. Avaliação do nível de conhecimento sobre as hepatites virais.....	30
1.2.1. Conhecimento em saúde.....	30
1.2.2. Aspectos gerais das hepatites virais.....	31
1.2.3. Conhecimento sobre as Hepatites virais.....	36
2. JUSTIFICATIVA.....	38

3. OBJETIVOS.....	40
3.1. Objetivo Geral	40
3.2. Objetivos específicos	40
4. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	41
5. RESULTADOS	41
5.1. Artigo 1: Usefulness of oral fluid samples for hepatitis B antibody detection according to background prevalence.....	44
5.2. Artigo 2: Dried Blood Spot samples as alternative specimen to evaluate hepatitis B virus prevalence in different endemicity groups.....	76
5.3. Artigo 3: Comparison of the performance of enzyme immunoassays for hepatitis B and C detection in Dried Blood Spot.....	100
5.4. Artigo 4: A cross-sectional study of viral hepatitis perception among residents from Southeast and North Regions of Brazil.....	108
5.5. Artigo 5: Cross sectional study to determine viral hepatitis knowledge in different urban populations in Brazil	120
5.6. Material educativo: Folheto educativo	157
6. DISCUSSÃO.....	160
6.1. Avaliação do uso de fluido oral e sangue seco em papel de filtro como espécimes clínicos alternativos ao diagnóstico e estudos de prevalência da Hepatite B.....	160
6.2. Avaliação do nível de conhecimento de diferentes populações sobre as hepatites virais.	168
6.3. Contribuição do presente estudo ao Plano Brasil sem Miséria	172
7. CONCLUSÕES.....	174
8. RECOMENDAÇÕES DO ESTUDO	176

9. REFERÊNCIAS	177
10. ANEXOS.....	195
10.1. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa no estudo de conhecimento nas cidades de Rio de Janeiro e Manaus	195
10.2. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa no estudo em diferentes populações	196
6.1. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do estudo com fluído oral e SSPF 203	
11. APÊNDICES	210
11.1. Termo de consentimento livre esclarecido estudo com fluído oral.....	210
11.1. Termo de consentimento livre esclarecido estudo de conhecimento	212
11.2. Termo de consentimento livre esclarecido para estudo com SSPF	213
11.3. Questionário Sócio demográfico	215
11.4. Questionário sobre conhecimento das Hepatites Virais no estudo nas cidades do Rio de Janeiro e Manaus	217
11.5. Questionário sobre conhecimento das Hepatites Virais no estudo de diferentes populações	218

Lista de Figuras

Figura 1.1 Esquematização do vírus da hepatite B	3
Figura 1.2 Partículas completas e incompletas do HBV.....	4
Figura 1.3 Representação esquemática do genoma do vírus da hepatite B.	5
Figura 1.4 Esquematização da Replicação do HBV	10
Figura 1.5 Evolução dos marcadores do HBV nas infecções agudas e crônicas.....	13
Figura 1.6 Prevalência do HBV de acordo com o marcador HBsAg no mundo.	16
Figura 1.7 Número de casos confirmados de HBV em cada região do Brasil em 2016	17
Figura 1.8 Fluxograma para testagem de amostras no diagnóstico do HBV	24
Figura 1.9 Esquematização do HAV (1); HCV (2); HDV (3) e HEV (4).....	31
Figura 1.10 Proporção de casos de HVs segundo as regiões brasileiras entre 1999 e 2016.	35

Lista de Quadros

Quadro 1.1 Significados dos marcadores sorológicos do vírus da hepatite B.....	23
Quadro 1.2 Interpretação dos resultados no diagnóstico da hepatite B.	23
Quadro 1.3 Relação de ensaios utilizando amostras de fluido oral na detecção do HBV.....	27
Quadro 1.4 Relação de ensaios utilizando amostras de SSPF na detecção dos marcadores HBsAg, anti-HBc e anti-HBs em diferentes populações.	29
Quadro 1.5 Relação de alguns estudos avaliando o conhecimento sobre Hepatites virais em diferentes populações do mundo nos últimos anos.	37

Lista de sinais, símbolos e unidades de medidas.

nm – nanômetro
% - porcentagem
Pb- Pares de bases
UI – Unidades Internacionais
mL – Mililitro
µL – Microlitro

Lista de siglas e abreviaturas

AgAu – Antígeno Austrália
ALT – Alanina aminotransferase
anti-HBc IgM – Anticorpos dirigidos contra o HBcAg do tipo IgM
anti-HBc IgG – Anticorpos dirigidos contra o HBcAg do tipo IgG
anti-HBc total – Anti-HBc IgM + anti-HBc IgG
anti-HBe – Anticorpo contra o antígeno “e” do HBV
anti-HBs – Anticorpo contra o HBsAg
anti-HDV – Anticorpos contra o antígeno Delta
AST – Aspartato aminotransferase
bDNA – Técnica de DNA ramificado
BSA – do inglês *Bovine Serum Albumin* – Albumina de soro bovino
BSM – Brasil sem Miséria
CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
cccDNA – DNA circular covalentemente fechada
CEP – Comitê de Ética em Pesquisa
CHC – Carcinoma hepatocelular
CLIA – Imunoensaio de quimioluminescência
DNA – Ácido desoxirribonucleico
DO – Densidade ótica
DR – Sequência de nucleotídeos diretamente repetidas
ds-DNA – DNA de cadeia dupla
ECLIA – Imunoensaio de eletroquimioluminescência
EIE – Ensaio imunoensaio enzimático
HAV – Vírus da Hepatite A
HBcAg – Antígeno do core do HBV
HBeAg – Antígeno “e” do HBV
HBsAg - Antígeno de superfície do HBV
HBV – Vírus da Hepatite B
HBxAg – Antígeno “x” do vírus da hepatite B
HCV – Vírus da Hepatite C
HDV – Vírus da Hepatite D

HEV – Vírus da Hepatite E
HIV – Vírus da imunodeficiência humana
HSH – Homens que fazem sexo com homens
HV – Hepatite Viral
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IGHAHB – Imunoglobulina Humana anti-hepatite tipo B
IST – Infecção sexualmente transmissível
MDS – Ministério do Desenvolvimento Social
MEIA – Ensaio imunoenzimático de micro-partículas
NANB – Hepatites conhecidas como “não-A não-B”
NTCP – Polipeptídeo cotransportador de taurocolato de sódio
OMS – Organização Mundial de Saúde
ORFs – do inglês *Open Reading Frame* – Fases abertas de leitura
PBS – do inglês *Phosphate Buffer Saline* – Tampão fosfato-salino
PCDT – Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas
PCR – Reação em cadeia de polimerase
pgRNA – RNA prégenômico
PNI – Programa Nacional de Imunizações
RC-DNA – do inglês *relaxed circular DNA* - DNA circular relaxado
RIA – Radioimunoensaio
RNA – Ácido ribonucleico
RNAm – RNA mensageiro
RNase – Ribonuclease
SH – do inglês “sérum hepatites” – hepatite sérica
SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SSPF – Sangue Seco em Papel de Filtro
SUS – Sistema Único de Saúde
TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecido
TR – Testes Rápidos
UDI – Usuários de Drogas Injetáveis

1. INTRODUÇÃO

Hepatite é o nome dado ao processo inflamatório que acomete o fígado e pode ser causada por diversos fatores, tais como: consumo excessivo de álcool, utilização de determinados medicamentos, doença autoimune, infecções bacterianas, e virais. A hepatite viral (HV) pode ser causada por cinco agentes etiológicos, o vírus da hepatite A (HAV), o vírus da hepatite B (HBV), o vírus da hepatite C (HCV), o vírus da hepatite D (HDV) e o vírus da hepatite E (HEV) (Ministério da Saúde, 2012; Focaccia, 2013, WHO, 2018). Esses vírus causam doenças clinicamente semelhantes, porém etiológica e epidemiologicamente distintas. A forma aguda da infecção pode levar a casos fulminantes e ocorre entre todas as hepatites. Já a forma crônica da infecção ocorre entre as hepatites B, C e D, causando sérios agravos em sua decorrência, tais como cirrose e carcinoma hepatocelular (CHC) (CDC, 2012).

Em sua maioria, são doenças silenciosas, que muitas vezes passam despercebidas. Os sintomas podem ser ausentes ou leves no início da infecção ou só aparecerem quando a doença está em estado avançado e já com a presença de alguma complicação (Focaccia, 2013; WHO, 2018). As manifestações clínicas mais comuns de hepatite viral são: febre, fraqueza, dor abdominal, náusea, vômito, perda de apetite, urina escura, icterícia e fezes pálidas (Focaccia, 2013).

As HVs são uma das principais causas de doenças infecciosas que pode levar ao óbito no mundo. Em 2015, um número estimado de 325 milhões de indivíduos estava cronicamente infectados por HBV ou HCV e cerca de 1,34 milhão de indivíduos morreu em decorrência dos seus agravos (WHO, 2018). A distribuição destas infecções é universal, embora a magnitude dos diferentes tipos varie de região para região. No Brasil, também há grande variação regional na prevalência de cada hepatite (Ministério da Saúde, 2012). De 1999 a 2016, foram notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) 561.058 casos confirmados de HVs no Brasil (Ministério da Saúde, 2017).

1.1. Hepatite B

1.1.1. Breve Histórico

A Hepatite B foi documentada cientificamente pela primeira vez em 1895 entre trabalhadores em Bremen, na Alemanha, que receberam vacina contra a varíola preparada a partir de linfa humana e logo após, desenvolveram quadro de icterícia (Hollinger, 1994; Schimid, 1994; Fonseca, 2010). Porém, somente no final dos anos 30 que a transmissão parenteral da hepatite foi estabelecida, a partir da observação de casos de icterícia ocorridos dois a sete meses após a inoculação em voluntários de vacina contra febre amarela, preparada com adição de soro humano para fins de estabilização do produto (Findlay & MacCallum, 1937).

No ano de 1945, foi esclarecida a existência de duas formas de hepatite, a hepatite infecciosa e a icterícia sérica, com períodos de incubação e modo de transmissão distintos (Paul et al., 1945). Nessa época então, foi proposto a utilização do nome hepatite A para a hepatite infecciosa e hepatite B para a icterícia sérica.

Em 1965, foi identificado no soro pertencente a um aborígene australiano um antígeno que recebeu o nome de antígeno Austrália (AgAu) e reagia com o soro de dois doentes hemofílicos politransfundidos (Blumberg Alter & Visnich, 1965). Prince, em 1968, isolou um antígeno em sangue durante o período de incubação de uma hepatite pós transfusional, que recebeu o nome de antígeno SH, relativo à hepatite sérica. Posteriormente, comprovou-se que o antígeno SH de Prince era o mesmo antígeno Austrália e mais tarde, passou a ser chamado de HBsAg.

Dane e colaboradores em 1970, por meio de microscopia eletrônica, identificaram a partícula viral completa do HBV (Partícula de Dane). No ano seguinte, após degradação da partícula de Dane com detergentes, foi encontrado um componente interno, o antígeno do Core ou HBcAg, que reagia com anticorpos específicos, descrevendo um novo sistema antígeno-anticorpo (Almeida, Rubenstein & Stott, 1971) e, em 1972, o antígeno “e” do vírus (HBeAg) e seu anticorpo correspondente (anti-HBe) foram descritos (Magnius & Espmark, 1972).

1.1.2. Estrutura viral

O HBV é classificado na família *Hepadnaviridae*, gênero *Orthohepadnavirus* (Dandri & Petersen, 2017) mede cerca de 42nm de diâmetro e internamente apresenta capsídeo icosaédrico eletrodense de aproximadamente 27nm de diâmetro que abriga uma molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA) parcialmente dupla fita, com 3200 pb (Takahashi *et al.* 1976).

A célula infectada pelo HBV libera partículas completas (partícula de Dane) compostas de envelope e nucleocapsídeo (Figura 1.1) e partículas incompletas não infecciosas, de formato esférico ou tubular (Figura 1.2), com cerca de 22nm de diâmetro. Diferente das partículas de Dane, as partículas incompletas não possuem nucleocapsídeo e DNA, além de serem encontradas em excesso no soro de indivíduos infectados (Gerlich, 2013), tendo importância nas estratégias de escape do vírus à resposta do sistema imunológico do hospedeiro (Moura, 1997; CDC, 2012). O envelope do HBV é formado por proteínas, lipídeos, carboidratos e pelo HBsAg, enquanto o capsídeo, presente apenas na partícula completa, é composto pelo HBcAg e pelo genoma viral (Inoue & Tanaka, 2016 Dandri & Petersen, 2017).

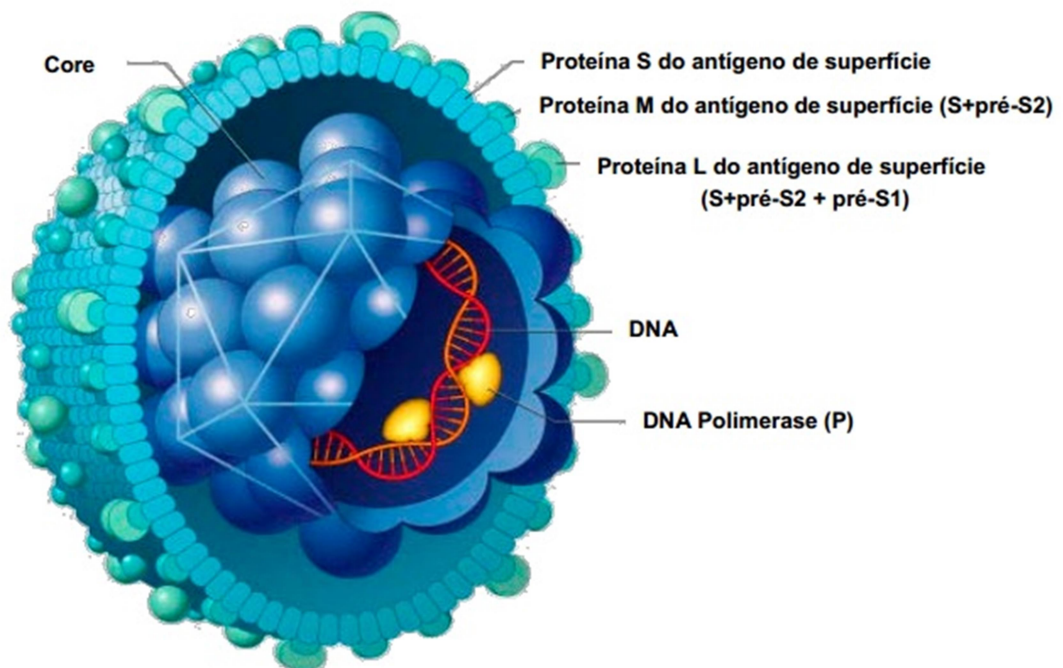


Figura 1.1 Esquemática do vírus da hepatite B (Fonte: AIDS.gov, 2018).

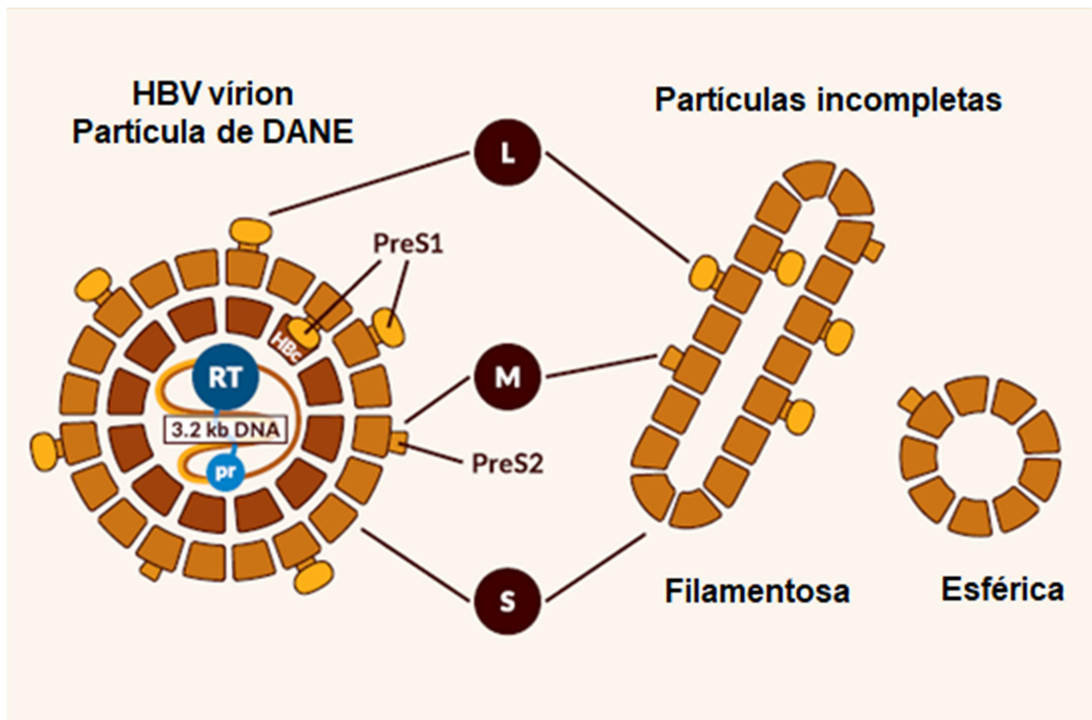


Figura 1.2 Partículas completas e incompletas do HBV
(Fonte: Adaptado de Dandri & Petersen, 2017)

1.1.3. Estrutura genômica

O genoma do HBV possui 3200 pb e apresenta quatro fases abertas de leitura (Open Reading Frame- ORFs) sobrepostas, correspondentes às regiões pré-S/S, pré-Core/Core, P e X (Ganem & Varmus, 1987; Tong & Revill, 2016) (Figura 1.3). A fita maior é complementar ao ácido ribonucleico (RNA) mensageiro e, por convenção, é denominada de negativa. A fita menor, denominada de positiva, apresenta a porção terminal 3' de tamanho variável. Na porção 5' terminal de ambas as fitas de DNA observa-se uma pequena sequência de 11 nucleotídeos que são diretamente repetidas (DR) designadas de DR1 e DR2. Tais sequências são importantes na iniciação da replicação do HBV (Ganem & Varmus, 1987; Wei *et al.*, 2010). Todos os genes são codificados pela fita longa e possuem pelo menos uma região de sobreposição, o que aumenta a capacidade da síntese protéica em aproximadamente 50%.do esperado para a totalidade do genoma (Ganem & Varmus, 1987).

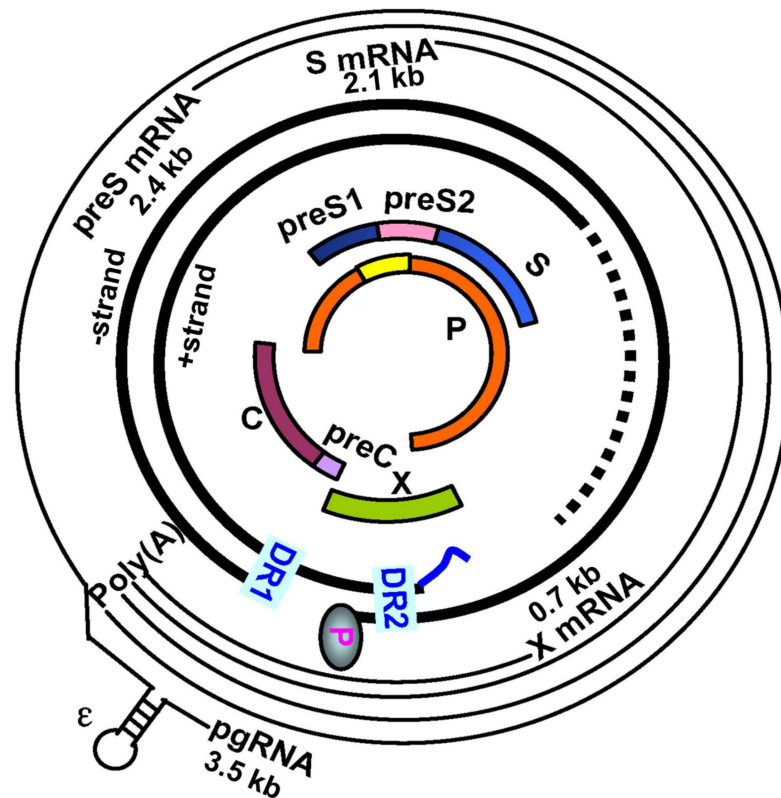


Figura 1.3 Representação esquemática do genoma do vírus da hepatite B.
(Fonte: Tong & Revill, 2016).

A ORF pré-S/S é a região do genoma responsável pela síntese das proteínas presentes no envelope viral (Sherlock, 1990; Yoshida *et al.*, 2005; Dandri & Locarnini, 2012; Pysopoulos, 2017). Nessa região estão incluídas as regiões pré-S1, pré-S2 e S com três códons de iniciação na mesma fase de leitura e que dão origem a três proteínas. A maior proteína ou L (do inglês *large*) é sintetizada nas regiões pré-S1, pré-S2 e S, a partir do códon de iniciação localizado no início da região pré-S1, é a maior das proteínas (368 aminoácidos) e a menos abundante (Dandri & Locarnini, 2012; Caligiuri *et al.*, 2016). A proteína de tamanho intermediário ou M (do inglês *middle*) com 281 aminoácidos é sintetizada nas regiões pré-S2 e S a partir do códon de iniciação localizado no início da região S e sua função é desconhecida (Dandri & Locarnini, 2012; Caligiuri *et al.*, 2016; Inoue & Tanaka, 2016). A menor proteína ou S (do inglês *small*) com 226 aminoácidos é sintetizada a partir do códon de iniciação localizado no início da região S, e é habitualmente conhecida por HBsAg (Datta *et al.*, 2012; Caligiuri *et al.*, 2016; Inoue & Tanaka, 2016). Essas proteínas possuem o mesmo códon de terminação, o qual se localiza no final da região S.

O gene C apresenta dois códons de iniciação na mesma fase de leitura aberta (regiões pré-core e core), que sintetizam duas proteínas com especificidades

antigênicas distintas: o HBeAg e o HBcAg. O HBeAg com 159 aminoácidos é uma proteína secretora, não estrutural e sua presença está associada à infectividade por ser produzida durante um estágio de replicação viral intensa. O HBeAg é traduzido a partir do primeiro códon de iniciação da região pré-C (Locarnini, 2004; Dandri & Locarnini, 2012; Pyrsopoulos, 2017). O HBcAg é uma proteína estrutural que forma o capsídeo e não é detectado no soro, apenas nos hepatócitos de pacientes com hepatite aguda ou crônica e é traduzido a partir do RNA pré-genômico (Locarnini, 2004; Dandri & Locarnini, 2012). O códon de iniciação para o HBcAg está localizado a 87 nucleotídeos após o sítio de iniciação da região pré-C. O polipeptídeo do core possui 185 aminoácidos, e o nucleocapsídeo viral é formado por 180 monômeros desta proteína que espontaneamente se agrupam para formar uma partícula icosaédrica (Nassal & Schaller, 1996).

O gene P com 832 aminoácidos é o maior gene do HBV, sobrepondo-se a todos os outros genes e englobando cerca de $\frac{3}{4}$ do genoma viral. Codifica uma enzima multifuncional com atividade de DNA polimerase, transcriptase reversa e ribonuclease (RNase H), e está envolvido na síntese de DNA (Inoue & Tanaka, 2016). A polimerase viral pode ser dividida em quatro domínios, o amino-terminal, que atua como proteína terminal ou primase, importante para o início da síntese da fita de DNA de polaridade negativa e no empacotamento da pgRNA, a região espaçadora que parece não ter função específica, domínio de transcriptase reversa e domínio carboxi-terminal que exibe atividade de RNase H essencial durante replicação do genoma (de Matos, 2007). A transcriptase reversa não tem a atividade de revisão da sequência de DNA enquanto realiza a replicação do vírus. Dessa forma, conduz à introdução de mutações randômicas no genoma do HBV. Além disso, sofre pressão seletiva devido à administração de agentes antivirais sendo responsável pela resistência aos mesmos (Caligiuri *et al.*, 2016).

O gene X codifica um pequeno polipeptídeo de 154 aminoácidos denominado HBxAg, que é uma proteína que estimula a transcrição e a replicação viral, além de mostrar-se eficiente em ativar as respostas imunes celular e humoral. O HBxAg também está relacionado com a regulação do ciclo celular e ativação das vias de sinalização (Wei *et al.*, 2010). Além disso, recentemente foi comprovado que o HBx induz o dano celular, bloqueando o reparo do DNA e induzindo a geração de CHC (Wang *et al.*, 2014; Dan *et al.*, 2016).

O antígeno de superfície do HBV apresenta alta heterogeneidade e baseado na sua reatividade, o HBV pode ser classificado em dez subtipos. O envelope

glicoproteico do HBV contém um epítipo grupo-específico, presente em todos os subtipos, denominado de determinante comum “a”, que também apresenta subdeterminantes antigênicos exclusivos (d/y e w/r), além de subtipos, conhecidos como: adw2, adw4, ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, adrq+, adrq- e ayr (Le Bouvier *et al.* 1972; Tiollais *et al.* 1985). A identificação dos subtipos pode ser útil na compreensão epidemiológica da infecção pelo HBV e, em alguns casos, ajudar a estabelecer rotas e mecanismos de transmissão (de Matos, 2007).

O HBV também é dividido em genótipos definidos por ordem alfabética e subgenótipos identificados pela nomenclatura por números. Os genótipos são definidos pela divergência nucleotídica no genoma completo do HBV em mais de 7,5% (Lampe *et al.*, 2017) e subgenótipos são definidos quando há divergência nucleotídica de 4 a 8% dentro de um mesmo grupamento genotípico (Kurbanov, Tanaka & Mizokami, 2010; Kramvis, 2014). O HBV é dividido em 8 genótipos (A-H), (Lampe *et al.*, 2017) com outros dois adicionais propostos (I e J) (Tran *et al.*, 2008; Tatematsu *et al.*, 2009) . Os genótipos A, B, C, D, F e I são classificados em subgenótipos A1-A4, B1-B5, C1-C16, D1-D7, F1-F4 e I1 e I2 (Tong & Revill, 2016). Reinfecção e infecção simultânea com diferentes genótipos do HBV são descritas (Kramvis, Kew & Francois, 2005; Schaefer, 2005). Os genótipos apresentam distribuição geográfica distinta e característica, no entanto, estudos recentes demonstram mudanças no seu padrão de distribuição, especialmente em regiões com elevados casos de migrações (Lampe *et al.*, 2017).

No Brasil, um estudo recente de avaliação dos genótipos corroborou com dados prévios de circulação predominante dos genótipos A, D e F. Também foi observada no estudo uma menor proporção dos tipos E, G, C e B, sendo sugerida uma relação entre a presença desses genótipos no país com o fluxo migratório de populações com origem nos países onde esses genótipos são mais frequentes (Lampe *et al.*, 2017).

Diferenças relacionadas à evolução, prognóstico da hepatite crônica e resposta à terapia antiviral em pacientes com HBV podem ser observadas de acordo com os genótipos do HBV. Como, por exemplo, maior predisposição de indivíduos com o genótipo A à cronicarem (Ito *et al.*, 2014), atraso na soroconversão do HBeAg, pior resposta ao tratamento com Interferon e maior risco de progressão entre indivíduos com genótipo C (Tong & Revill, 2016).

1.1.4. Replicação viral

A replicação do HBV ocorre nos hepatócitos e a interação entre o vírus e a célula é mediada por proteínas presentes no envelope viral e receptores dos hepatócitos (Sureau & Salisse, 2013). O receptor de polipeptídeo cotransportador de taurocolato de sódio (NTCP) foi recentemente identificado como receptor de entrada do HBV (Yan *et al.*, 2012).

O ciclo da replicação inicia-se então, com a entrada do vírus nos hepatócitos mediada pela ligação da proteína *large* ao NTCP hepatocelular e subsequentemente, internalizam-se em vesículas endossomais (Yan *et al.*, 2012; Ni *et al.*, 2014; Valaydon & Locarnini, 2017). O HBV é um pararetrovírus em virtude de sua estratégia de replicação remanescente dos retrovírus, ou seja, é um vírus de DNA, que replica o seu material genético gerando moléculas de RNA fita simples intermediárias, por meio da ação da enzima transcriptase reversa. O genoma presente no interior do capsídeo é parcialmente dupla fita de DNA circular relaxado (do inglês *relaxed circular DNA* – RC-DNA). A fita positiva é completada por ação da DNA polimerase celular, em uma forma circular covalentemente fechada (*covalently closed circular* - cccDNA) (de Matos, 2007; Inoue & Tanaka, 2016).

Este cccDNA é responsável pela persistência viral e altamente resistente à terapia antiviral (Inoue & Tanaka, 2016). É uma forma estável de DNA que permite que o HBV persista no hepatócito, portanto, garantindo a produção contínua de vírus. Ele é produzido cedo, dentro de 24 horas, e em grandes quantidades. Em uma infecção natural pelo HBV há mais de 50 cópias de cccDNA em um hepatócito (Valaydon & Locarnini, 2017).

A RNA polimerase celular transcreve o genoma do HBV a partir do cccDNA em RNAs diferentes em tamanhos. Existem dois transcritos genômicos de 3,5kb cada e três transcritos subgenômicos de 2.4 kb (RNAm para tradução da proteína *Large*), 2.1 kb (RNAm para a tradução das funções de transcrição de *Middle* e *Small*) e 0.7 kb (RNAm para tradução da proteína X) (Valaydon & Locarnini, 2017).

Os transcritos genômicos de 3,5kb incluem o RNA mensageiro (RNAm) pré-core e o RNA prégenômico (pgRNA). O RNAm de precore é semelhante à proteína do núcleo, mas tem uma extensão na extremidade terminal N e codifica para HBeAg. O pgRNA codifica para proteína do core e Pol e também é o modelo para transcrição reversa para gerar DNA de HBV sendo convertido em DNA de cadeia dupla (ds-DNA) (Locarnini & Omata, 2006; Valaydon & Locarnini, 2017).

No processo de transcrição reversa a partir do pgRNA, a polimerase do HBV inicia a sua função a partir da estrutura de *stem-loop* (estrutura em forma de grampo) da extremidade 5' até a formação de três ou quatro pares de base. Nesse ponto, a polimerase junto com a cadeia nascente de DNA é transferida para a cópia homóloga da DR1 na extremidade 3'. A polimerase viral então estende a cadeia de DNA de polaridade negativa enquanto a mesma enzima degrada o molde de RNA através da sua atividade de RNase H. Quando a polimerase do HBV alcança a extremidade 5', ela deixa uma pequena sequência de RNA intacta, o que compreende a sequência de DR1, o qual é translocado para anelar-se à região DR2 da extremidade 5' do DNA de polaridade negativa. Esse oligorribonucleotídeo é então utilizado como iniciador da fita de DNA de polaridade positiva pela polimerase viral. A fita de polaridade positiva é menor, pois não é completamente sintetizada, uma vez que logo que sua síntese é iniciada, as partículas do core, que contém o genoma viral adquirem o envoltório (Seeger & Zoulim, 2007; Quasdorff & Protzer, 2010).

O DNA recém-sintetizado, então, é transportado ao núcleo para manter o conjunto de cccDNA ou será envelopado com proteínas de superfície e exportados como novos vírions (Valaydon & Locarnini, 2017). O esquema da replicação do HBV está demonstrado na Figura 1.4. Mesmo após a formação de anticorpos contra o antígeno de superfície (anti-HBs), um risco de reativação ainda está presente no contexto da imunossupressão (Chang & Lewin, 2007; Vierling, 2007). Além disso, o DNA do HBV também tem a capacidade de se integrar ao genoma do hospedeiro após entrar no hepatócito. Especula-se que essa integração é responsável pela atividade hepatocarcinogênica intrínseca do HBV (Pyrsoopoulos, 2017).

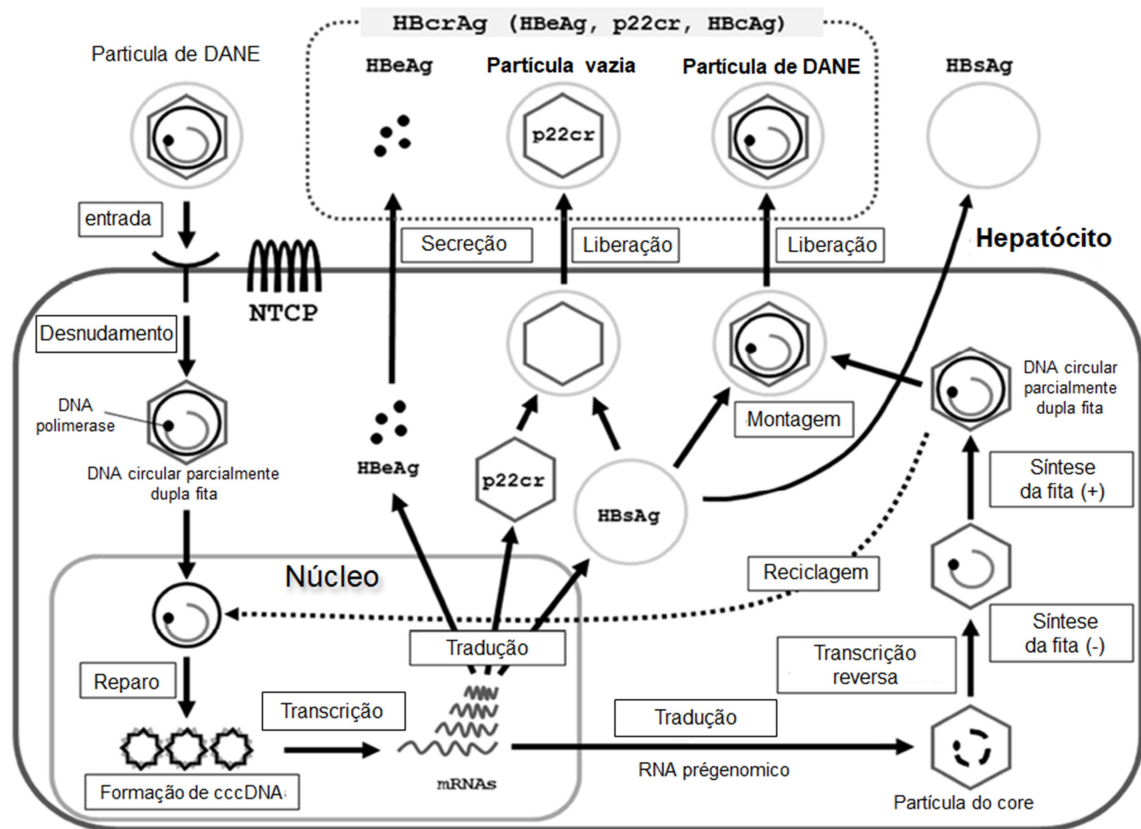


Figura 1.4 Esquemática da Replicação do HBV
(Fonte: Inoue & Tanaka, 2016).

1.1.5. Transmissão

A transmissão do HBV pode ocorrer por diferentes vias, tais como: sexual, vertical (mãe para o filho) e parenteral. A principal forma de transmissão é por exposição percutânea ou permucosa a fluidos corporais contendo HBV, principalmente o sangue (Inoue & Tanaka, 2016).

São consideradas pessoas em situação de risco para a infecção por hepatite B: crianças nascidas de mães infectadas, parceiros sexuais de pessoas infectadas, pessoas com múltiplos parceiros sexuais, pessoas com histórico de infecção sexualmente transmissível (IST), homens que fazem sexo com homens (HSH), usuários de drogas injetáveis (UDI), pessoas que possuem contatos domiciliares com infectados, profissionais expostos a material biológico no trabalho, pacientes de hemodiálise, pessoas privadas de liberdade e viajantes para regiões com taxas intermediárias ou altas de endemicidade da hepatite B (CDC, 2017).

A transmissão vertical pode ser intrauterina, pré e pós-parto e depende do perfil dos marcadores HBsAg e HBeAg nas gestantes. A probabilidade de transmissão vertical é maior quando a mãe é infectada pelo HBV no último semestre de gestação (60% dos casos) em comparação com infecção no primeiro trimestre da gravidez (<10% dos casos) (Ministério da Saúde, 2016). Além disso, quando a gestante é portadora de infecção crônica por HBV, o perfil sorológico HBsAg/HBeAg influencia na transmissão. Em grávidas HBsAg+/HBeAg+, a transmissão ocorre em 70-90% dos casos, já entre as gestantes HBsAg+/HBeAg-, esse índice varia de 40-70% (Ministério da Saúde, 2008). Sem a imunoprofilaxia adequada no momento do parto, a maioria das crianças recém-nascidas desenvolverá infecção aguda por HBV, com progressão para infecção crônica, além de complicações da doença hepática crônica na idade adulta (Ministério da Saúde, 2016).

A transmissão sexual pode ocorrer através de sêmen e secreções vaginais contaminadas em relações sexuais desprotegidas. Este tipo de transmissão é comum entre HSH com múltiplos parceiros e pelo fato do sexo anal ser mais traumático que o sexo vaginal, no entanto também é comum entre heterossexuais que têm múltiplos parceiros ou contato com profissionais do sexo. (Inoue & Tanaka, 2016) e apresenta taxas de transmissão de 40% para parceiros não-imunes de pacientes com infecção crônica (Inoue & Tanaka, 2016; Mohr, Boesecke & Wasmuth, 2017). No Brasil, dentre os casos notificados mais da metade não informou a causa de transmissão. Entretanto, dentre aqueles em que a provável fonte ou mecanismo de transmissão era conhecido, a maioria ocorreu por via sexual (51,2%), seguido por transmissões domiciliares (9,3%) e uso de drogas (4,3%) (Ministério da Saúde, 2016).

1.1.6. Patologia e manifestações clínicas

Durante a infecção pelo HBV, a resposta imune do hospedeiro provoca tanto o dano hepatocelular, quanto a eliminação viral (Lampertico *et al.*, 2015). A hepatite B pode se apresentar nas formas aguda, crônica ou fulminante. O período de incubação entre a exposição até o início dos sintomas varia de 60 a 150 dias, com média de 90 dias (Inoue & Tanaka, 2016), dependendo de fatores como idade do paciente, modo de transmissão, porta de entrada e resposta imune do hospedeiro (Befeler & Di Bisceglie, 2000; Juszczyk, 2000; de Matos, 2007).

A infecção pelo HBV causa doença clínica (icterícia) em 10% dos casos em menores de cinco anos e de 30-50% em maiores de cinco anos. Além disso, 30% dos casos em que há manifestações clínicas, as mesmas são brandas ou transitórias (de Matos 2007). A infecção é autolimitada na maioria dos pacientes adultos com infecção aguda. Cerca de 1% a 2% dos pacientes progridem para insuficiência hepática fulminante e <10% para infecção crônica (Meireles *et al.*, 2015; Inoue & Tanaka, 2016, Mohr, Boesecke & Wasmuth, 2017). No entanto, mais de 90% dos bebês e entre 25-50% das crianças entre um e cinco anos infectadas desenvolvem a infecção crônica (Inoue & Tanaka, 2016; Mohr, Boesecke & Wasmuth, 2017).

A infecção crônica pelo HBV pode gerar doença hepática compensada por anos, com contínua inflamação e necrose dos hepatócitos, progredindo para cirrose hepática e hipertensão portal, com edema, circulação colateral, ascite e encefalopatia, com risco de evolução para hepatocarcinoma (Focaccia, 2013). O risco de progressão para cirrose e carcinoma hepatocelular é proporcional aos títulos do DNA do HBV mantido persistentemente ao longo do tempo (Dienstag 2008).

O curso clássico da infecção aguda pelo HBV agudo é apresentado em quatro fases: período de incubação, prodrômica (pré-ictérica), doença clínica (ictérica) e de convalescência (Focaccia, 2013). Logo após o período de incubação ocorre a fase pré-ictérica que é caracterizada por sinais e sintomas inespecíficos como febre, mal-estar, fadiga, mialgia, anorexia, náuseas, além de perda de peso e dor no quadrante superior esquerdo e hepatomegalia. Pode ocorrer ainda a fase ictérica, que é resultado do aumento dos níveis de bilirrubina no sangue, ocasionando a presença de urina escura (colúria), fezes esbranquiçadas (acolia fecal) e pele, mucosa e esclerótica amarelados. Esta fase dura cerca de três a quatro semanas e nem sempre se faz presente. O período de convalescência é marcado pela eliminação viral e melhora do quadro clínico, com duração de 20 a 30 dias (Focaccia., 2013).

A forma aguda da infecção (Figura 1.5) inicia-se com o aparecimento do HBsAg em torno da 4^a à 6^a semana, antes mesmo do aparecimento dos sintomas. Simultaneamente ou logo após o aparecimento do HBsAg, o HBeAg pode ser detectado e sua presença indica replicação viral ativa e, com isso maior infectividade. Após o desaparecimento do HBeAg, surge o anticorpo anti-HBe que caracteriza o fim da fase replicativa do vírus (CDC 2012).

O antígeno do core do HBV (HBcAg) é intracelular e, por este motivo não é detectado no soro dos indivíduos infectados. Seu anticorpo, o anti-HBc, indica uma exposição prévia ao HBV. Poucos dias após o aparecimento do HBsAg, anticorpos dirigidos contra o HBcAg do tipo IgM (anti-HBc IgM) surgem e indicam infecção recente pelo HBV, em seguida, há o aparecimento dos anticorpos dirigidos contra o HBcAg do tipo IgG (anti-HBc IgG), que permanece detectável no soro em valores mais baixos, na maioria dos indivíduos, pelo resto da vida, mesmo após a cura, indicando infecção por HBV em um tempo indefinido no passado (CDC, 2012; Fourati & Pawlotski, 2016).

O fim da fase aguda ocorre quando o HBsAg desaparece e dá lugar ao anticorpo anti-HBs, algumas semanas ou meses depois, indicando a convalescença com evolução para cura e imunidade contra reinfeção (Ferreira, 2000; Park & Keefe 2004). Além dos antígenos e anticorpos, o HBV DNA também é encontrado no soro dos indivíduos com infecção aguda, estando associado com replicação viral, e seu desaparecimento na fase aguda indica a resolução espontânea da infecção (de Franchis *et al.* 2003; Pawlotsky, 2003; Fourati & Pawlotski, 2016). Além do aparecimento dos antígenos e anticorpos, o HBV DNA também é encontrado no soro de indivíduos na fase aguda, no momento da replicação viral, seu desaparecimento indica resolução da infecção espontaneamente (Pawlotsky, 2003; Fourati & Pawlotski, 2016).

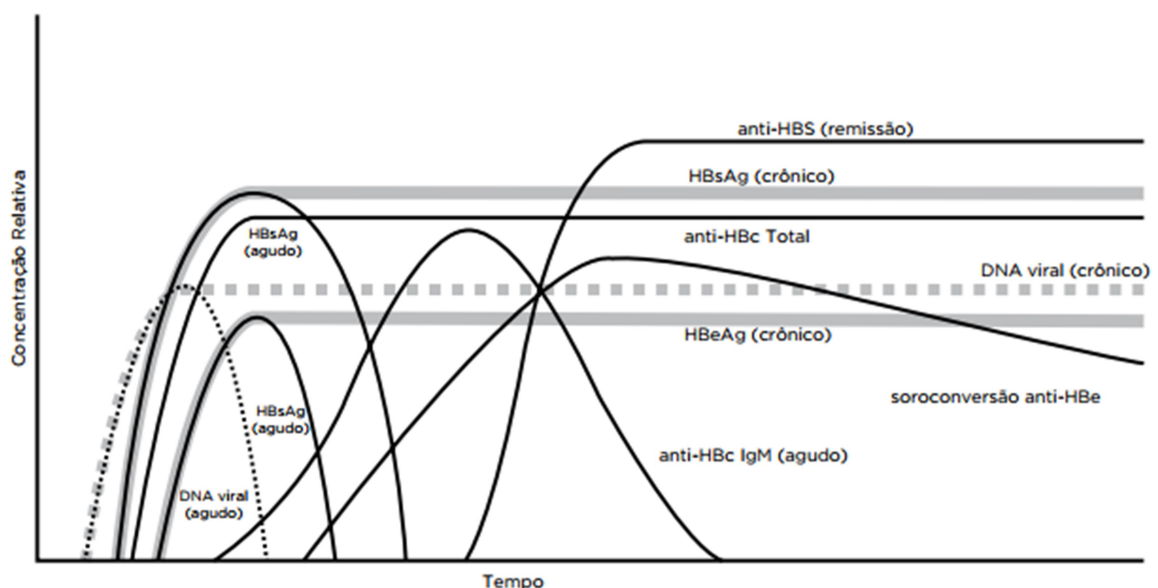


Figura 1.5 Evolução dos marcadores do HBV nas infecções agudas e crônicas (Fonte Ministério da Saúde, 2015).

O curso clínico da infecção crônica (Figura 1.5) é determinado pela persistência do HBsAg detectável independente do título no soro por mais de 6 meses, sem apresentar soroconversão para anti-HBs (Focaccia, 2013). Uma particularidade da infecção viral crônica é a possibilidade de evolução para câncer hepático, independentemente da ocorrência de cirrose, fato considerado pré-requisito nos casos de surgimento de carcinoma hepatocelular nas demais infecções virais crônicas (Ministério da Saúde, 2015). A infecção crônica pode então ser dividida em quatro fases de acordo com status do HBeAg, níveis de HBV-DNA e aminotransferases.

1) Fase de imunotolerância, caracterizada por intensa atividade de replicação viral revelada por altos títulos de HBeAg além de altos níveis de HBV-DNA, níveis normais de aminotransferases e níveis mínimos de inflamação e fibrose hepática;

2) Fase imunorreativa, caracterizada pela presença do HBeAg, níveis de aminotransferases elevados de forma persistente ou intermitente, níveis flutuantes de HBV DNA e necroinflamação e/ou fibrose;

3) Fase inativa, caracterizada por níveis baixos ou indetectáveis de HBeAg, com normalização das transaminases e, habitualmente, soroconversão do HBeAg para anti-HBe;

4) Fase de reativação, caracterizada pela reativação viral, com retorno da replicação com níveis elevados e flutuantes de enzimas hepáticas e replicação viral, porém com baixos níveis de HBV DNA (Ministério da Saúde, 2015; Fourati & Pawlotski, 2016).

A infecção pelo HBV pode ocorrer em indivíduos com a presença do HBV DNA no fígado, HBV DNA detectável ou não no soro, mas com o marcador HBsAg negativo, sendo conhecida como hepatite B oculta. O HBV DNA, quando presente no soro pode estar em níveis muito baixos (<200 UI/mL). De acordo com o perfil sorológico, a hepatite B oculta pode ser dividida em: soropositiva (anti-HBc e/ou anti-HBs positivos), neste caso, o HBsAg pode estar negativo após a resolução de uma infecção aguda ou após anos de infecção crônica; e soronegativa (anti-HBc e anti-HBs negativos) neste caso, os indivíduos podem ter perdido progressivamente os anticorpos específicos ou nunca os terem tido desde o início da infecção (Raimondo *et al.*, 2008). O HBsAg pode não ser detectado devido a mutações no gene S, que produzem um HBsAg não detectável por alguns testes sorológicos comerciais (Raimondo *et al.*, 2008; El Chaar *et al.*, 2010), mutações que pode reduzir a expressão de HBsAg, diminuir o reconhecimento do vírus pelo sistema imune e

prejudicar o final da replicação (Besharat et al., 2014) além da resposta imune do hospedeiro, co-infecção com outros agentes infecciosos, e fatores epigenéticos (Raimondo et al., 2007)

Baixos níveis de HBV-DNA podem ser detectados em mais de 30% de pacientes com doença no fígado de etiologia prévia desconhecida. (Lamontagne, Bagga & Bouchar, 2016). Com a melhoria da especificidade de técnica para detecção do HBV DNA, tem sido observado um aumento crescente do número de indivíduos portadores de HBV DNA como o único marcador de infecção (Bernieh, 2015).

1.1.7. Epidemiologia

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que 257 milhões de indivíduos vivem com a infecção pelo HBV, em que cerca de 240 milhões são portadores crônicos e foram documentadas 887 mil mortes no ano de 2015 em decorrência do HBV e suas complicações (WHO, 2018).

Em todo o mundo, a prevalência estimada da infecção crônica pelo HBV é de 3,7%. E, existe uma grande variação (0,1% a 20%) de prevalência nas diferentes partes do mundo de acordo com a presença o marcador HBsAg (Figura 1.6).

Nas regiões de baixa prevalência (<2%), o risco de infecção por HBV ao longo da vida é inferior a 20%, compreende cerca de 12% da população global e incluem a Europa Ocidental, os Estados Unidos e Canadá, Austrália e Nova Zelândia (Mohr, Boesecke & Wasmuth, 2017). Nestas regiões, a transmissão sexual e percutânea são as principais rotas de infecção e ocorre em grupos de alto risco relativamente bem definidos, que incluem usuários de drogas injetáveis, HSH, profissionais de saúde e pacientes que realizam transfusões de sangue regulares ou hemodiálise (Inoue & Tanaka, 2016).

Nas regiões de prevalência intermediária (2% a 7%), o risco de infecção é de 20 a 60%, compreende cerca de 43% da população global e inclui o países do Mediterrâneo, Japão, Ásia Central, Oriente Médio e América Latina e do Sul (Mohr, Boesecke & Wasmuth, 2017). Nessas regiões as transmissões sexuais, a percutânea e a vertical são as principais vias de infecção (Inoue & Tanaka, 2016).

Nas regiões de alta prevalência (≥8%), a probabilidade de infecção ao longo da vida é superior a 60% e incluem áreas do Sudeste Asiático, China e a África

Subsaariana (Mohr, Boesecke & Wasmuth, 2017). Altas taxas de prevalência também foram relatadas em outras populações em regiões remotas, como Bacia Amazônica e nativos do Círculo Ártico (Souto, 2016). Nessas regiões a transmissão vertical ocorre predominantemente.

Aproximadamente 45% dos indivíduos infectados com HBV vivem em regiões com economias em desenvolvimento e com alta densidade populacional, incluindo China, Sudeste Asiático, Indonésia, África Subsaariana, as Ilhas do Pacífico, partes do Oriente Médio e Bacia Amazônica (Inoue & Tanaka, 2016).

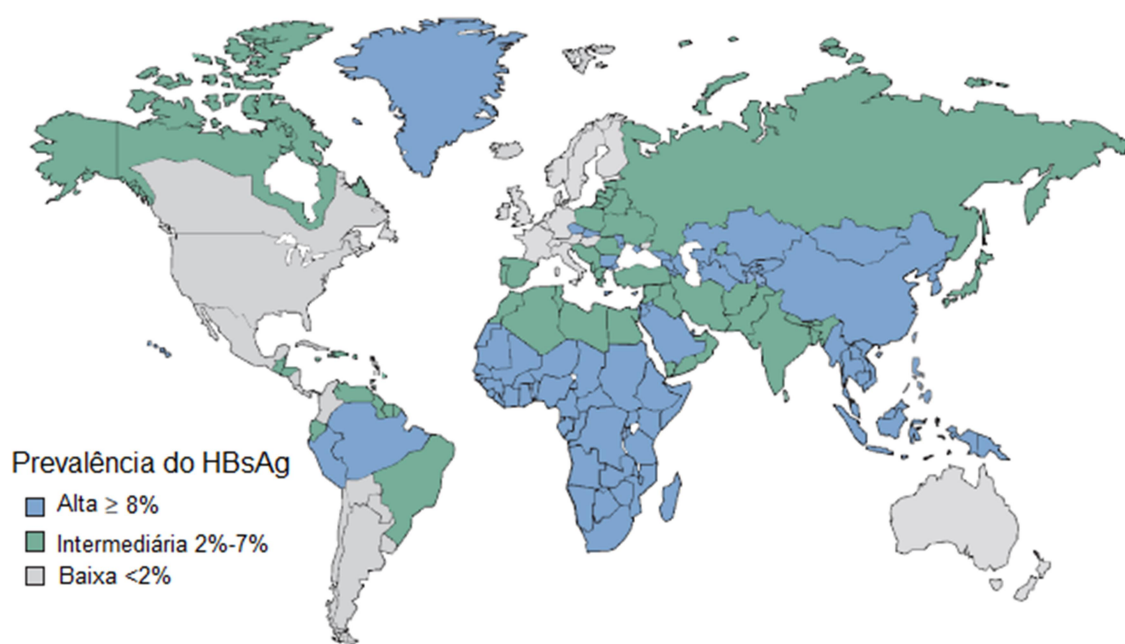


Figura 1.6 Prevalência do HBV de acordo com o marcador HBsAg no mundo.
(Fonte: adaptado de Price, 2014)

No Brasil, a hepatite B é uma doença de notificação compulsória. De 1999 até 2016, 212.031 casos confirmados foram notificados em todo o país. No ano de 2016, foram confirmados 14.199 casos sendo maior o número na região Sul seguido pelas regiões Sudeste, Norte, Nordeste e Centro-Oeste (Figura 1.7) (Ministério da Saúde, 2017).

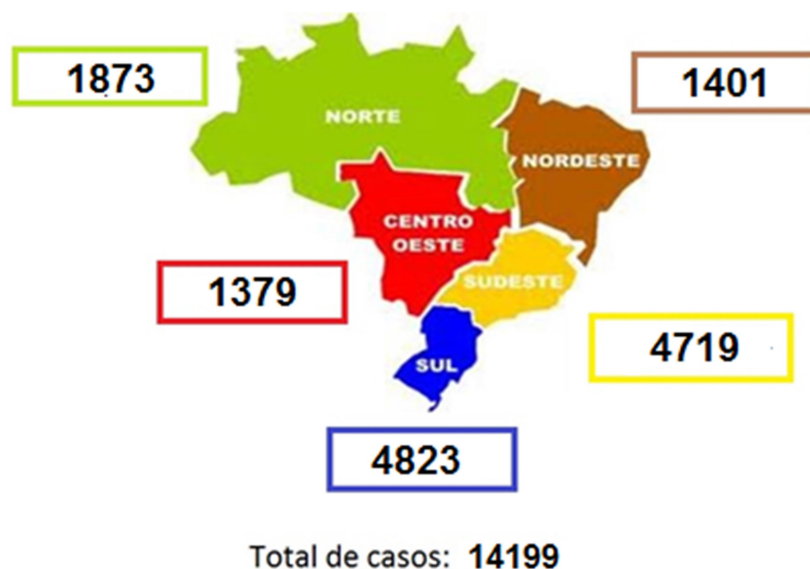


Figura 1.7 Número de casos confirmados de HBV em cada região do Brasil em 2016
(Fonte: Ministério da Saúde, 2017)

No período de 1999 até 2016, 54,2% dos casos ocorreram entre homens e 13,4% dos indivíduos apresentavam de 30 a 34 anos, porém em 2016 foi observada maior prevalência entre aqueles com 60 anos ou mais (13,1%). Nos últimos dez anos foi possível observar um aumento na taxa de detecção do HBV em indivíduos com 45 anos ou mais, e uma queda entre aqueles com idade inferior a 35 anos (Ministério da Saúde, 2017).

Entretanto, segundo Souto (2016), os dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) devem ser analisados com cautela, uma vez que o aumento do número de notificações parece corresponder a melhorias no sistema de vigilância epidemiológica e notificações para doenças transmissíveis no Brasil e, podem estar gerando a falsa impressão de que a prevalência de muitas doenças infecciosas está aumentando no país, apesar de melhores condições socioeconômicas e de higiene em uma grande parte do país.

Diminuições na prevalência de HBV, especialmente entre crianças, estão ocorrendo desde a implementação da vacina no calendário nacional, em 1998. Embora a análise dos números em bruto de notificações não sugira controle iminente do HBV no Brasil, a tendência de diminuição ou estabilidade da prevalência entre menores de 20 anos de idade indica os efeitos positivos da vacinação (Villar *et al.*, 2014a; Souto, 2016).

O inquérito epidemiológico de base populacional realizado no Brasil entre 2004 e 2009 demonstrou prevalência do marcador HBsAg menor que 1% no conjunto das capitais brasileiras de cada macrorregião e do Distrito Federal, além de aumento da positividade do anti-HBc IgM + IgG (anti-HBc total) de acordo com a idade. A prevalência dos marcadores anti-HBc e HBsAg foram maiores na Região Norte e menores na Região Centro-Oeste do Brasil (Ximenes *et al.*, 2010). Esses números classificaram o Brasil como uma região de baixa prevalência para hepatite B, porém o inquérito epidemiológico não avaliou locais com histórico de alta prevalência para infecção. Além disso, uma vez que essas regiões estão longe da capital, melhorias nas condições de vida e higiene são geralmente implementadas de maneira mais devagar (Souto, 2016)

Diferentes taxas de prevalência de hepatite B variam de acordo com o grupo populacional no Brasil. A infecção ativa foi observada em 8% de manicuras e/ou pedicuras em São Paulo (Oliveira & Foccacia, 2010); 6,2% dos usuários de crack no Rio de Janeiro e 0% neste mesmo tipo de população em Salvador (Santos-Cruz *et al.*, 2013), de 36,7% entre usuários de drogas ilícitas nas Ilha de Marajó (Andrade *et al.*, 2017). Prevalência global foi observada em 5,64% de gestantes em Goiás (Fernandes *et al.*, 2013) e em 21,8% de pessoas alojadas em abrigo público em Goiás (Carvalho *et al.*, 2017). Prevalências de infecção ativa e passada foram de 2,9% e 41,7% entre pacientes internados para tratamento de alcoolismo em Santa Catarina; 1,8% e 3,6% em crianças e adolescentes de escolas e creches no Rio de Janeiro; 0% e 5,9% entre profissionais da área da beleza no Rio de Janeiro; 0% e 4,1% de militares no Rio de Janeiro; 1,8% e 32,1% em indivíduos situados em localidades ribeirinhas de Rondônia; 0% e 15,7% entre alcoolistas em Minas Gerais (Pazeto *et al.*, 2012; Villar *et al.*, 2014; Villar *et al.*, 2014b; Villar *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2015; Cortes *et al.*, 2017).

1.1.8. Prevenção e Tratamento

A prevenção para a infecção pelo HBV tem como objetivo a redução de casos de hepatite B e seus agravos subsequentes. Algumas medidas são: educação em saúde pública, uso de materiais perfurocortantes descartáveis ou esterilizados, práticas sexuais mais seguras, por exemplo, com o uso de preservativos (Mohr, Boesecke & Wasmuth, 2017), a introdução em 1978 de testagem obrigatória para o

HBV em bancos de sangue, tornando esta via de transmissão remota (MS 2008) e a aplicação da vacina que é a principal medida de prevenção. A primeira vacina foi registrada em 1981 e era derivada do plasma de portadores do HBsAg, no entanto, em 1986 a vacina derivada de plasma foi substituída pela vacina contra o HBV produzida por engenharia genética, até hoje utilizada apresentando 90 a 95% de eficiência (Blumberg 2006). No Brasil, a vacina foi implementada em 1992 e, desde 1998, o Programa Nacional de Imunizações (PNI) do Ministério da Saúde recomenda que crianças, a partir do seu nascimento, sejam vacinadas contra HBV. Atualmente, o Sistema Único de Saúde (SUS) disponibiliza gratuitamente vacina contra o HBV em qualquer posto de saúde para todos os indivíduos de qualquer idade (Portal da saúde, 2017).

A imunização só é efetiva quando se toma as três doses, com intervalo de um mês entre a primeira e a segunda dose e de seis meses entre a primeira e a terceira dose. Ensaio clínicos mostram que a eficácia protetora está associada ao aparecimento de anticorpos anti-HBs em concentrações acima de 10 UI/mL, após o cronograma de vacinação adequado sendo estimado que a proteção dure por pelo menos 25 anos (Leuridan & Van Damme, 2011). No entanto, estudos com recém-nascidos mostram a negatificação dos anticorpos anti-HBs após 5 a 10 anos em 15 a 50% dos respondedores, parecendo ser proporcional aos títulos de anticorpos inicialmente adquiridos (Meireles *et al.*, 2015).

Cerca de 5% a 10% dos adultos vacinados não produzem níveis protetores de anti-HBs e podem ser considerados não-respondedores. Vários fatores foram associados a uma menor taxa de resposta à vacina da hepatite B, tais como: condições de armazenamento da vacina, administração fora das recomendações, idade, índice de massa corporal, alcoolismo crônico, cirrose ou insuficiência renal crônica, imunossupressão, transplante de órgãos, hemodiálise, diabetes tipo I, doença celíaca, tabagismo e abuso de drogas (Meireles *et al.*, 2015).

Algumas situações são recomendadas para administração de imunoglobulina humana anti-hepatite tipo B (IGHAHB): 1) Prevenção da infecção perinatal pelo HBV; 2) Vítimas de acidentes com material biológico HBV positivo ou fortemente suspeito de infecção por HBV; 3) Comunicantes sexuais de casos agudos de HBV; 4) Vítimas de violência sexual; 5) Imunodeprimidos após exposição de risco, mesmo que previamente vacinados (Ministério da Saúde, 2014).

Não existe um tratamento específico para a forma aguda da infecção, sendo realizado apenas para minimizar a sintomatologia. De acordo com o Protocolo

Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) para o Tratamento da Hepatite Viral Crônica B e Coinfecções (Ministério da Saúde, 2016), o tratamento da infecção crônica tem como objetivo principal a redução do risco de progressão da doença hepática e de seus desfechos primários, especificamente cirrose, CHC e óbito.

O desfecho ideal desejado após a terapia é a perda sustentada do HBsAg, com ou sem soroconversão para anti-HBs. Quando o resultado ideal é improvável, em pacientes HBeAg reagentes, a soroconversão para anti-HBe é um desfecho satisfatório; em pacientes HBeAg não reagentes e anti-HBe reagentes, o desfecho desejado é a normalização da ALT e a redução do HBV-DNA para menos de 2.000 UI/mL ou no limite de indetectabilidade. Nos pacientes cirróticos, a redução da carga viral e o desaparecimento do HBeAg, espontâneos ou induzidos por tratamento, associam-se à diminuição no risco de carcinogênese, descompensação clínica e melhora da qualidade de vida.

As opções farmacológicas disponíveis para o tratamento da hepatite viral crônica B e as coinfeções deste com HDV, vírus da imunodeficiência humana (HIV) e HCV são: alfapeguinterferona 2a e 2b, e os análogos de nucleosídeo entecavir e de nucleotídeo tenofovir (Ministério da Saúde, 2016). O tenofovir constitui a primeira linha de tratamento para a hepatite B crônica. Quando há contraindicação ao seu uso, indica-se o tratamento com entecavir. A alfainterferona é um grupo de proteínas e glicoproteínas com atividade antiviral, antiproliferativa e imunomoduladora, indicada para tratamento alternativo de 48 semanas, entre pacientes portadores de infecção pelo HBV com exame HBeAg reagente e deve ser substituída por tenofovir ou entecavir caso não ocorra soroconversão do anti-HBs ao final do tratamento

1.1.9. Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial do HBV é realizado através de testes bioquímicos, sorológicos e moleculares em amostras de soro ou plasma, (Villar *et al.*, 2015b). Os testes bioquímicos são empregados rotineiramente a fim de avaliar os níveis séricos das transaminases alanina e aspartato aminotransferases (ALT e AST respectivamente) e bilirrubinas; são testes inespecíficos que indicam dano hepático, mas não identificam o HBV. O aumento três vezes acima do valor normal das transaminases séricas e de 25 vezes acima do valor normal das bilirrubinas, indica

dano hepático. Os níveis de AST no sangue se correlacionam com o grau de cirrose hepática (Rotman, Brown & Hoofnagle, 2009).

Os testes sorológicos são utilizados para detecção de antígenos e anticorpos específicos do HBV. Diferentes metodologias de detecção são utilizadas, tais como: radioimunoensaio (RIA), ensaio imunoenzimático (EIE), imunoensaio de eletroquimioluminescência (ECLIA) imunoensaio de quimioluminescência (CLIA), ensaio imunoenzimático de micro-partículas (MEIA) (Villar *et al.*, 2015b). O HBsAg, anti-HBs e anti-HBe também podem ser detectados por meio de testes rápidos (TR), que usam a tecnologia de imunocromatografia de fluxo lateral (Ministério da Saúde, 2015; Cruz *et al.*, 2015; Cruz *et al.*, 2017).

O primeiro ensaio a ser utilizado no diagnóstico do HBV foi o RIA, que apresenta reagentes conjugado a radioisótopos (Yalow & Berson, 1959; Annesley, 2010) e por isso apresenta alto risco para quem opera o teste, apesar de ter boa sensibilidade (Villar *et al.*, 2015). O EIE e o ECLIA são os ensaios mais utilizados no diagnóstico laboratorial do HBV. Eles detectam antígenos e anticorpos e apresentam padrão de qualidade adequado e já padronizado, o que garante resultados confiáveis (Ministério da Saúde, 2015).

O ECLIA pode ser quantitativo ou qualitativo e envolvendo uso de substância luminescente e a captação e análise dessa luz para resultado é realizada em equipamento próprio que ainda tem custo elevado consumido pela enzima, produzirá um produto detectável (colorido ou insolúvel) (Ministério da Saúde, 2015). Já os EIEs foram desenvolvidos por volta dos anos 70 (Diepersloot *et al.*, 2000) e envolvem a imobilização de um antígeno (na detecção de anticorpo) em uma superfície sólida e o anticorpo da amostra se liga a esse antígeno, um conjugado (anticorpo ligado a uma enzima) é acrescentado ao sistema e se liga ao complexo enzimático (antígeno + anticorpo + anticorpo-enzima). A detecção ocorre por meio da incubação desses com um substrato que, ao ser consumido pela enzima, produzirá um produto detectável (colorido ou insolúvel) (Ministério da Saúde, 2015). Sensibilidade analítica de 4 UI/mL entre 17 EIEs para HBsAg foi descrita em estudo de revisão da literatura, no entanto a sensibilidade foi reduzida em amostras contendo genótipos /subtipos dos genes D / ayw3, E / ayw4, F / adw4 e S mutantes (Scheiblauer *et al.*, 2010). Além disso, resultados positivos fracos em ECLIA foram negativos em testes EIEs (Xu *et al.*, 2012).

Os testes rápidos foram desenvolvidos na década de 1990 para a detecção do HBsAg eles são simples, necessitam de poucos equipamentos, treinamento

mínimo para sua execução e são armazenados e realizados à temperatura ambiente (Villar *et al.*, 2015). Estes ensaios usam aglutinação de partículas, imunocromatografia, imunodot ou imunofiltração, o dispositivo contém um suporte sólido (celulose ou membranas de nylon, micropartículas de látex ou cartões de plástico) onde os antígenos virais ou anticorpos são fixados e os resultados podem ser lidos em até 10 min (Khuroo, Khuroo & Khuroo, 2014).

Atualmente, também são avaliados imunossensores criados a partir da nanociência e nanotecnologia no diagnóstico do HBV. Eles consistem em um aparelho de biosensibilidade baseado em ligantes de estado sólido que combinam reações imunoquímicas a transdutores. O elemento sensor é composto por meio da imobilização de antígenos ou anticorpos, e o evento de ligação é transformado em um sinal mensurável pelo transdutor proporcional à concentração de analito (Uliana *et al.*, 2014; Malhotra & Turne, 2003; Nakamura & Karube, 2003; Yao & Fu, 2014). Estudos com essa técnica demonstram a quantificação do HBsAg até 0,01 UI / mL, limite de detecção cerca de 40 vezes inferior ao do método EIA (Wang *et al.*, 2010; Hu, Zhao & Wan, 2011; Nourani, Ghourchian & Boutorabi, 2013). Um estudo recente observou resultados comparáveis os ensaios comerciais a partir do uso de nanopartículas em um medidor de glicose pessoal observou valores de limite de detecção de 0,3 a 0,4ng/ml⁻¹ para os subtipos "ay" e "ad" do HBsAg, respectivamente (Taebi, Keyhanfar & Noorbakhsh, 2018).

O HBV apresenta diferentes marcadores sorológicos com diferentes significados (Quadro 1.1) e a combinação destes marcadores possibilita definir a fase da infecção em que o paciente se encontra (Quadro 1.2). O Ministério da Saúde recomenda um fluxograma para testagem das amostras, em que o primeiro teste consiste em imunoensaio para detecção do HBsAg e caso o mesmo seja reativo, deve ser feito outro imunoensaio para detecção do anti-HBc total para que a amostra seja classificada como reagente para HBV. Caso o resultado do teste anti-HBc total seja negativo, deve ser realizado teste de quantificação de carga viral. (Figura 1.8) (Ministério da Saúde, 2015).

Quadro 1.1 Significados dos marcadores sorológicos do vírus da hepatite B.

(Fonte: adaptado de Ministério da Saúde, 2008).

Marcador	Significado
HBsAg	Primeiro marcador a aparecer no curso da infecção; Permanência por mais de 24 semanas após a infecção indica cronicidade.
Anti-HBc IgM	Marcador de infecção recente; Encontrado no soro até 32 semanas após a infecção.
Anti-HBc total (IgM + IgG)	Infecções agudas pela presença de IgM; Infecções crônicas pela presença de IgG; Representa contato prévio com o vírus.
HBeAg	Marcador de replicação viral; Positividade indica maior chance de transmissão.
Anti-HBe	Surge após o desaparecimento do HBeAg; Sua presença sugere redução ou ausência de replicação viral, exceto nas cepas com mutação pré-core (não produtoras da proteína “e”).
Anti-HBs	Surge após desaparecimento do HBsAg; Indicador de cura e imunidade; Está presente isoladamente em pessoas vacinadas.

Quadro 1.2 Interpretação dos resultados no diagnóstico da hepatite B.

(Fonte: Ministério da Saúde, 2015)

Teste sorológico	Resultado	Interpretação
HBsAg	Não reagente	Ausência de contato prévio com o HBV. Susceptível a infecção pelo HBV.
Anti-HBc total	Não reagente	
Anti-HBs	Não reagente	
HBsAg	Não reagente	Imune após infecção pelo HBV.
Anti-HBc total	Reagente	
Anti-HBs	Reagente	
HBsAg	Não reagente	Imune após vacinação contra o HBV.
Anti-HBc total	Não reagente	
Anti-HBs	Reagente	
HBsAg	Reagente	Infecção pelo HBV.
Anti-HBc total	Reagente	
Anti-HBs	Não reagente	

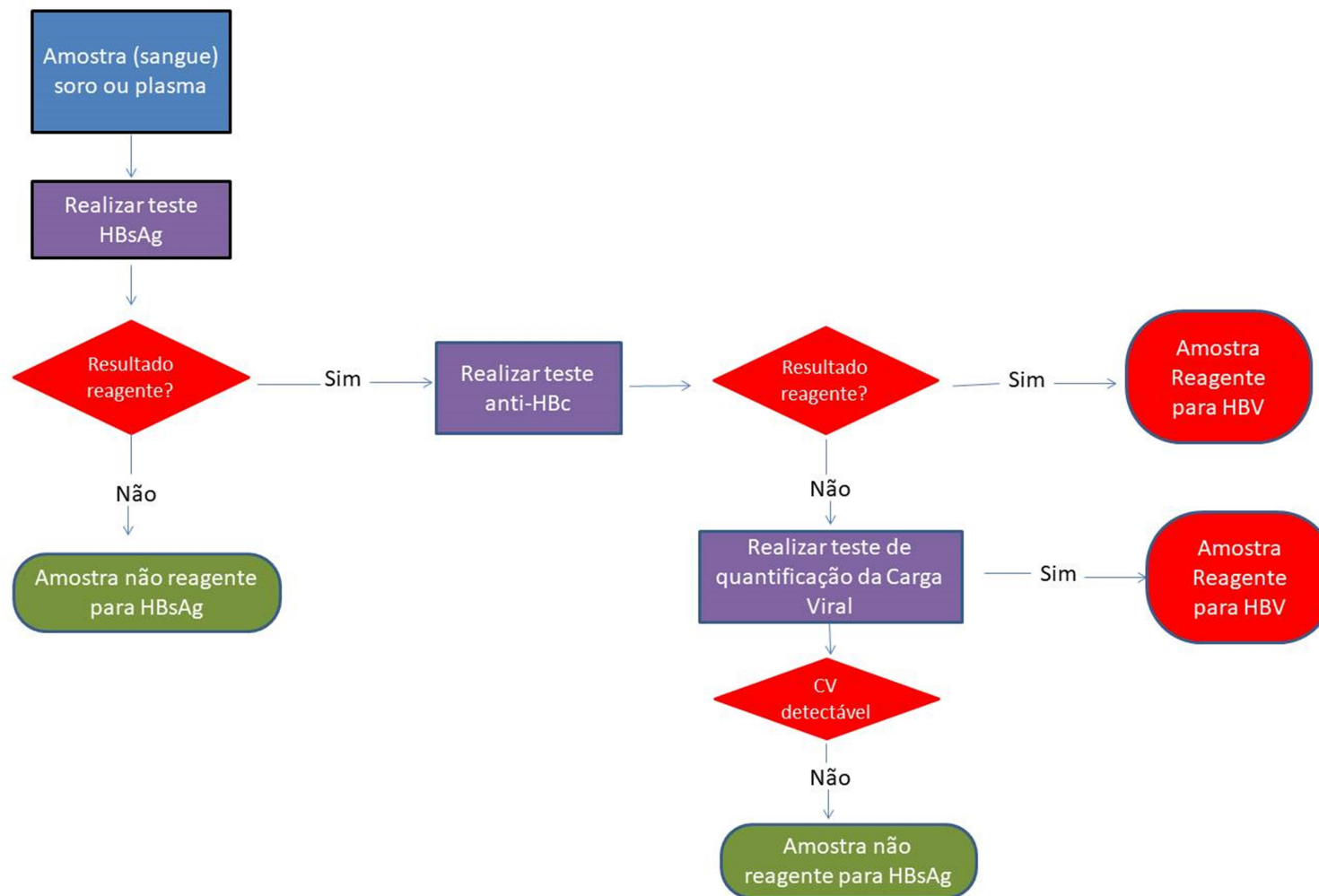


Figura 1.8 Fluxograma para testagem de amostras no diagnóstico do HBV
(Fonte: Ministério da Saúde, 2015)

Os testes moleculares detectam o genoma viral e podem ser qualitativos ou quantitativos (demonstrando a carga viral presente no soro ou plasma). Esses ensaios auxiliam no prognóstico e monitoramento da infecção (determinação de infecção ativa pelo HBV, diagnóstico precoce, confirmação de resultados sorológicos duvidosos e progressão para complicações), na definição do início da terapia, no monitoramento do tratamento e na identificação de resistência aos antivirais (Villar *et al.*, 2015b).

O HBV-DNA é detectado no início da infecção, cerca de 1 mês após a exposição ao vírus, chegando ao seu pico cerca de 3 meses após a exposição (usualmente mais de 10^8 cópias/mL) (Villar *et al.*, 2015b). Os ensaios comerciais e *in house* disponíveis para detectar e quantificar o DNA do HBV são baseados nos princípios de amplificação de alvo, como a reação em cadeia da polimerase (PCR) ou na amplificação do sinal, tais como a técnica de DNA ramificado (bDNA) e captura híbrida (Villar *et al.*, 2015b; Portilho *et al.*, 2018).

Atualmente, o método de escolha para detecção e quantificação do HBV-DNA, pela maioria dos laboratórios, é a PCR em tempo real devido a sua alta sensibilidade (10-15 UI/mL) e extensa faixa de detecção (variação de 7-8 log₁₀ UI/mL). Além disso, o risco de contaminação é menor e podem ser completamente automatizados, reduzindo a manipulação com amostras contaminadas e o tempo de trabalho do operador (Gullet & Nolte, 2015). No monitoramento da terapia, os testes mais sensíveis e com o menor limite de detecção são recomendados para detecção inicial da reativação. Além disso, o teste empregado deve igualmente quantificar todos os genótipos do HBV (Pawlotsky, 2008).

1.1.10. Uso de fluido oral e sangue seco em papel de filtro como espécimes alternativos ao soro no diagnóstico do HBV

O HBV DNA pode ser detectado em diferentes fluidos biológicos, como saliva, sêmen, leite materno, secreções pancreáticas, biliares e vaginal, lágrima, líquidos menstrual, pleural e nasofaríngeo (Komatsu *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2016). Segundo o CDC (2012), a concentração do vírus é alta em sangue e exsudatos, moderada em sêmen, fluido vaginal e saliva, baixa ou não detectável em urina, fezes, lágrimas e suor. Desses fluidos corporais, o soro, a saliva, o sêmen e as lágrimas demonstraram ser infecciosos em humanos ou em modelos experimentais

de animais (Krugman, Giles & Hammond, 1967; Bancroft *et al.*, 1977; Scott *et al.*, 1980; Komatsu *et al.*, 2012).

Para a realização de testes imunoenzimáticos, é necessária a coleta de amostras de sangue por punção venosa e obtenção da amostra de soro ou plasma. Para isto, é necessária infraestrutura para coleta e processamento das amostras de sangue, o que é bastante difícil em áreas remotas com recursos escassos. Além disso, essa coleta por ser invasiva e dolorosa, muitas vezes inviabiliza um estudo epidemiológico quando envolve grande número de indivíduos ou em grupos com acesso venoso difícil, como usuários de drogas endovenosas, idosos e crianças. Por este motivo, vários estudos têm avaliado o uso de espécimes clínicos alternativos, tais como fluido oral e sangue seco em papel filtro (SSPF), para a pesquisa de marcadores sorológicos da hepatite B (O'Connell *et al.*, 2001; Fisker *et al.*, 2002; Hutse *et al.* 2005; Amado *et al.*, 2006; Quoilin *et al.*, 2007; Forbi *et al.*, 2010; Cruz *et al.*, 2011; Villar *et al.*, 2011; Scalioni *et al.* 2013, Ross *et al.*, 2013; Kania *et al.*, 2013; Mössner *et al.* 2016; Stene-Johansen *et al.*, 2016; Cortes *et al.*, 2017; Flores *et al.*, 2017).

1.1.10.1. Uso de amostras de fluido oral no diagnóstico do HBV

A saliva tem um papel importante na manutenção da saúde oral, com atividade antiviral e antibacteriana, na lubrificação e reparo da mucosa oral, no paladar e na digestão (Castagnola *et al.*, 2011). Ela se origina das glândulas salivares mistura-se ao fluido originado na mucosa orofaríngea (sangue, células, bactérias, fungos e vírus), células epiteliais orais, detritos alimentares e compostos derivados do sangue, tais como proteínas plasmáticas, eritrócitos e leucócitos (Leon, 2013).

Logo, além do grande número de enzimas necessárias para a digestão dos alimentos, muitas moléculas circulatórias (DNA, RNA e proteínas) estão presentes nesse fluido (Wong *et al.*, 2015). A variedade de componentes não só protege a integridade dos tecidos bucais, mas também fornece biomarcadores salivares que estão sendo explorados como meios de monitoramento da saúde e doenças (Amado-Leon *et al.*, 2015).

Uma vez que a pipetagem da saliva não tratada pode ser difícil, foram desenvolvidos dispositivos projetados para coletar fluido oral, que são simples, seguros e convenientes de usar e fornecem uma amostra homogênea adequada

com baixa viscosidade (Leon, 2013). Além disso, a sua coleta é pouco invasiva, o que reduz a ansiedade e desconforto para o paciente e, para os profissionais de saúde (Lee, Garon & Wong, 2009). A técnica adequada de coleta de amostras é essencial para obter amostras confiáveis para a detecção viral porque a concentração de IgG entre as amostras de fluido oral é menor que as presentes nas amostras de soro (Chiappin *et al* 2007; Amado-Leon *et al.*, 2015).

A precisão da detecção dos marcadores de HBV nas amostras de fluido oral também depende do tipo de método de detecção empregado (Leon, 2013). Diversos estudos já demonstraram a utilização desse espécime clínicona detecção dos marcadores de HBV (Nokes *et al.*, 2001; Fisker *et al.*, 2002; Hutse *et al.* 2005; Amado *et al.*, 2006; Cruz *et al*, 2011; Arora *et al* 2012; Scalioni *et al.* 2013; Cortes *et al.*, 2017; Flores *et al.*, 2017), Nestes estudos, que estão listados no quadro 1.3, diferentes percentuais de sensibilidade, especificidade, coletores e testes de detecção foram relatados demonstrando a utilidade deste espécime.

Quadro 1.3 Relação de ensaios utilizando amostras de fluido oral na detecção do HBV.

Marcador	População	Coletor	Ensaio	Se%	Es%	Referência
Anti-HBc	Comunidade rural	Sponge swabe	Organon Teknika	43,0	87,0	Nokes <i>et al.</i> , 2001
Anti-HBc	Doadores de sangue e UDI	Omni-Sal	Murex ICE HBc	85,9	100,0	Fisker <i>et al.</i> , 2002
HBsAg	População geral	Oracol	ETI-MAK-4 Diasorin	90,7	100,0	Hutse <i>et al.</i> , 2005
Anti-HBc	Ambulatório de Hepatites Virais	Orasure	Organon Teknika	13,0	100,0	Amado <i>et al.</i> , 2006
HBsAg	Ambulatório de Hepatites Virais	Slivete	Radim	85,1	94,1	Cruz <i>et al.</i> , 2011
		Saliva total	Radim	93,6	92,6	
HBsAg	Pacientes com e sem HBV	NI	NI	74,3	100,0	Arora <i>et al.</i> , 2012
HBsAg	Ambulatórios de Hepatites e população do Pantanal do Mato Grosso do Sul	Chembio	Diasorin	95,2	100,0	Scalioni <i>et al.</i> , 2013
		Salivette	Radim	78,3	89,9	
HBsAg	Alcoolistas	Salivette	Diasorin	NR	100,0	Cortes <i>et al.</i> , 2017
Anti-HBc	Ambulatório de Hepatites Virais	Salivette	Diarorin	82,4%	96,9	Flores <i>et al.</i> , 2017

Legenda: Se: sensibilidade; Es: especificidade; UDI: Usuários de drogas injetáveis, NI: não informado; NR: Não realizado

1.1.10.2. Uso de amostras de SSPF no diagnóstico do HBV

O SSPF já é utilizado desde 1963 para diagnóstico de desordens metabólicas congênitas em recém-natos (Guthrie, 1963). No Brasil, seu uso no diagnóstico dessas desordens foi introduzido em 1976, pelo pediatra Benjamin J. Schmidt e se tornou obrigatório em todo o país em 1990, através da lei federal n. 8.069/90.

O uso de SSPF para detecção de HBsAg foi descrito inicialmente em 1978 (Farzadegan, Noori & Ala, 1978). De acordo com a portaria n.º 247 de 09 de novembro de 2012 do Ministério da Saúde, testes em papel de filtro podem ser utilizados para triagem da toxoplasmose, Imunoglobulina M (IgM) e Imunoglobulina G (IgG), Hepatite B (Anti-HBc e HBsAg), hepatite C (anti-HCV), TSH, sífilis recombinante e HIV em gestantes.

A principal vantagem do SSPF sobre o soro ou plasma é que a amostra pode ser armazenada à temperatura ambiente por semanas sem degradação de ácidos nucléicos (Stene-Johansen *et al.*, 2016). O SSPF pode ser preparado aplicando poucas gotas de sangue fresco coletado por punção venosa, ou pela punção digital com lanceta retrátil em um papel de filtro absorvente. O sangue é saturado no papel, seco a temperatura ambiente por 4 horas, e encaminhado dentro de um envelope para o laboratório.

O SSPF por ser aplicado em papel de filtro absorvente ocupa pouco espaço, e também não necessita de refrigeração para transporte, facilitando a coleta, principalmente em estudos populacionais de larga escala e áreas remotas, e o envio de amostras de áreas de difícil acesso para grandes centros urbanos (Villar *et al.*, 2011; Marques *et al.*, 2012; Dokubo *et al.*, 2014).

Diversos estudos já demonstraram a utilização do SSPF para detecção dos marcadores HBsAg, anti-HBc e anti-HBs, no entanto, diferentes papéis de filtro absorventes, tamanho de corte de papel, tampão de eluição, volume do tampão, volume de amostra empregada nos testes e tipo de método de detecção foram utilizados. Esses estudos demonstram, de forma geral, a utilidade deste espécime, um resumo dos valores de sensibilidade e especificidade encontrados nesses estudos se encontra no quadro 1.4.

Quadro 1.4 Relação de ensaios utilizando amostras de SSPF na detecção dos marcadores HBsAg, anti-HBc e anti-HBs em diferentes populações.

Marcador	n	População	Se%	Es%	País	Referência
HBsAg	10	NI	100,0	NR	Iran	Farzadegan, Noori & Ala 1978
HBsAg	NI	NI	100,0	100,0	Egito	Farghaly & Kotkat 1990
HBsAg	24	Pacientes de clínicas de hepatite,	100,0	100,0	Itália	Villa <i>et al.</i> , 1981
HBsAg	90	Pacientes em um Hospital	NR	100,0	Austrália	Zhuang <i>et al.</i> , 1982
HBsAg	90	População geral	100,0	100,0	Paquistão	Khan & Sadiq, 1996
HBsAg	300	População geral	78,6	88,6	Nigéria	Forbi <i>et al.</i> 2010
HBsAg	78	Controle negativo (70) e pacientes HBV ⁺ (8)	100,0	NR	Alemanha	Lukacs, 2005
HBsAg	150	Pacientes HBV ⁺ e HCV ⁺ e estudantes de medicina vacinados contra HBV	96,5	97,8	Malásia	Lee <i>et al.</i> , 2011
Anti-HBs	150		74,2	86,9		
HBsAg	133	Ambulatório de HV	97,6	96,7	Brasil	Villar <i>et al.</i> , 2011
Anti-HBc	155		90,5	92,6		
Anti-HBs	134		78,0	97,3		
HBsAg	NI	NI	98,0	100,0	Reino Unido	Brown, Klapper & Guiver, 2012
Anti-HBs	134		78,0	97,3		
HBsAg	32	Pacientes em clínica de hepatologia	100,0	100,0	República do Congo	Alidjinou, 2013
Anti-HBc			100,0	NA		
Anti-HBs			100,0	100,0		
HBsAg	218	Indivíduos atendidos em Centro para AIDS	96,0	100,0	Burquina Faso	Kania <i>et al.</i> , 2013
Anti-HBc			99,3	98,7		
HBsAg	299	População geral	98,6	100,0	Alemanha	Ross <i>et al.</i> , 2013
Anti-HBc	305		86,3	100,0		
Anti-HBs	310		94,3	100,0		
HBsAg	404	Clínicas de reabilitação, prisioneiros, pacientes com HVs e doadores de sangue	96,5	99,4	Dinamarca	Mössner <i>et al.</i> , 2016
Anti-HBc			68,0	99,6		
Anti-HBs			42,0	100,0		
HBsAg	347	Ambulatórios de HV e HIV	85,6	96,3	Brasil	Flores <i>et al.</i> , 2017
Anti-HBc	188	Campanhas de testagem para HVs no RJ	76,9	91,7		
HBsAg	202	HSH e pacientes HIV ⁺ e / ou HBV ⁺	90,0	99,0	Países Baixos	van Loo <i>et al.</i> , 2017

Legenda: Se: sensibilidade; Es: especificidade; ⁺: reagente; NI: Não informado, NR: Não realizado

1.2. Avaliação do nível de conhecimento sobre as hepatites virais

1.2.1. Conhecimento em saúde

O conhecimento pode ser definido como uma informação factual e interpretativa que leva à compreensão ou que é útil para se tomar alguma decisão ou desenvolver alguma ação informada previamente (Glanz *et al.*, 2002). O conhecimento das pessoas pode ser capturado, codificado, armazenado e disponibilizado para outros indivíduos (Savi, 2011). Enquanto a sua disseminação ocorre quando uma experiência, habilidade ou percepção de uma pessoa é adequadamente reconstruída por outro indivíduo a partir de uma ação de comunicação face a face ou pela interação com uma mídia (Savi, 2011).

O conhecimento sobre um determinado desfecho em saúde pode ser útil para ajudar a evitar o surgimento de um agravo, podendo também influenciar na busca pelo tratamento, quando já se tem informações precisas sobre a doença estabelecida (Ducan *et al.*, 2012). O conhecimento que se desvia dos conceitos biomédicos geralmente é denominado como "crenças" (Tannahill, 2008). As pesquisas de conhecimento são representativas de uma população específica, para coletar informações sobre o que é conhecido, acreditado e feito em relação a um tópico específico e é ainda a ferramenta de estudo mais utilizada na pesquisa de comportamento de busca de saúde (WHO, 2008).

Diversos estudos na área da saúde fazem a avaliação de conhecimento sobre os mais diferentes tópicos. No ano de 2017 alguns temas explorados foram, por exemplo: autismo, síndrome do cólon irritável, higienização das mãos, Zika, tuberculose, HPV (Tiwari & John, 2017; Kelava, Karabeg & Špehar, 2017; Labrague *et al.*, 2017; Huang *et al.*, 2017; Hassan *et al.*, 2017; Khan *et al.*, 2016). Quando é feita a avaliação do conhecimento sobre doenças infecciosas, as questões incluídas são relacionadas a causas, sintomas, transmissão, prevenção da infecção ou doença investigada (Eguchi & Wada, 2013, Wu *et al.*, 2015). No entanto, diversos fatores podem influenciar no conhecimento, como por exemplo, escolaridade, renda salarial mensal, idade, entre outros (Wu *et al.*, 2015).

1.2.2. Aspectos gerais das hepatites virais

Como citado anteriormente, as HVs podem ser causadas pelos vírus das hepatites A, B, C, D e E. O HAV (Figura 1.9) teve seu primeiro relato escrito em 1745 relacionado à epidemia na Ilha de Menorca, na Espanha (Cockayne, 1912), o termo “hepatite A” foi introduzido em 1944 (MacCallum, 1944). O HBV foi detalhado no tópico 1.1. O HCV (Figura 1.9) foi descrito no final da década de 80 como o principal agente etiológico das hepatites “não-A não-B” (NANB) (Choo *et al.*, 1989). O HDV (Figura 1.9) foi inicialmente descrito como sendo um antígeno do HBV (Rizzetto *et al.*, 1977), posteriormente, confirmou-se a presença de anticorpos contra o antígeno delta (anti-HDV) e a infecção pelo HBV, demonstrando que estes anticorpos somente eram detectados em pacientes HBsAg positivos (Rizzetto *et al.*, 1979). Já o HEV (Figura 1.9) foi descrito no início dos anos 80 e teve seu genoma identificado apenas em 1991 (Tam *et al.*, 1991).

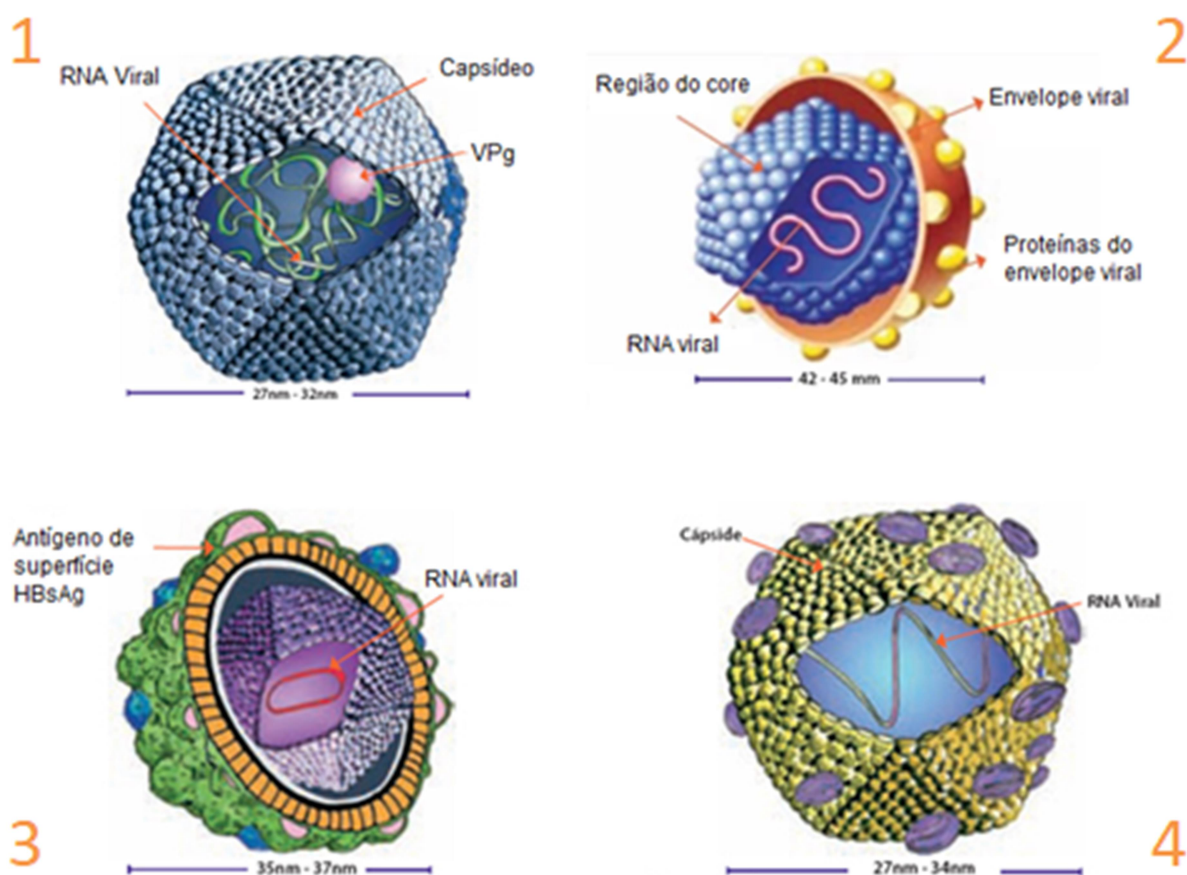


Figura 1.9 Esquematização do HAV (1); HCV (2); HDV (3) e HEV (4)
(Fontes: AIDS.gov, 2018).

O HAV e o HEV são transmitidos principalmente pela via fecal-oral por água ou alimentos contaminados (Ministério da saúde, 2012; Focaccia, 2013) podendo manter a viabilidade e infecciosidade por longos períodos em fomites, alimentos crus e pelo ambiente (Bell & Feinstone, 2004; Bosch *et al.* 2008; Mirazo *et al.* 2014).

A infecção pelo HAV usualmente resulta da exposição à comida ou água contaminada, porém, também pode ocorrer de forma horizontal, via pessoa-a-pessoa (Mohsen & Levy, 2017). A aglomeração de indivíduos susceptíveis associada aos maus hábitos higiênicos favorece a disseminação da doença (de Paula *et al.*, 2002; Villar *et al.*, 2002; Morais *et al.*, 2006). A transmissão sanguínea é rara e, quando ocorre, está mais frequentemente associada a transfusões de sangue (Cástková & Benes, 2009; Pischk & Wedemeyer, 2017). Já o risco de transmissão parenteral é mais alto entre os usuários de drogas injetáveis (Diel & Schneider, 2001) e vem aumentando em indivíduos com este fator de risco (Cástková & Benes, 2009). Grupos de risco para a aquisição de uma infecção pelo HAV em países desenvolvidos são profissionais da área de saúde, militares, pacientes psiquiátricos e homens que fazem sexo com homens (Pischk & Wedemeyer, 2017).

A prevalência de HAV tem grande variação pelo mundo, sendo considerada alta em países em desenvolvimento e baixa em países desenvolvidos. (Mohsen & Levy, 2017). Estima-se que anualmente ocorram 126 milhões de novos casos em todo o mundo com pelo menos 1,5 milhão de infecções assintomáticas e 35 mil mortes (Franco *et al.*, 2012; Aggarwal & Goel, 2015; Zhang *et al.*, 2016). O HAV é considerado a causa mais comum de HV aguda. Nos países em desenvolvimento, 90% das crianças foi infectada com o HAV antes dos 10 anos de idade devido às condições sanitárias e práticas higiênicas precárias (Jacobsen & Wiersma, 2010). Cerca de 1% dos casos resulta em insuficiência hepática aguda (Ogholikhan & Schwarz, 2016). Em crianças menores de cinco anos, a infecção é assintomática em 80-95% dos casos demonstrando a importância desse grupo na transmissão da infecção, enquanto em adultos, de 70%-95% das infecções resultam em alguma forma de sintomatologia (Ogholikhan & Schwarz, 2016).

O HEV pode ser transmitido por água contaminada ou pela ingestão de carne contaminada de caça e de suínos ou seus derivados (linguiças de fígado de porco) crua ou mal cozida (Teshale *et al.*, 2010; Khuroo, Khuroo & Khuroo, 2016). Estudos já relatam transmissão pessoa-a-pessoa em epidemias de HEV que não possuem fonte comum de infecção e transmissão vertical intrauterina com alta mortalidade materna e fetal, além de diferentes casos de infecções associadas à transfusão de

sangue ou hemoderivados em vários países tornando o rastreio de doadores de sangue necessário, especialmente, em países de alta prevalência (Yamamoto *et al.*, 2004; Matsubayashi *et al.*, 2008; Khuroo, Khuroo & Khuroo, 2016).

A infecção por HEV ocorre em todo o mundo, com cerca de 20 milhões de infecções e 56.000 mortes anuais em áreas pobres em recursos (WHO, 2018). O HEV é endêmico em países da Ásia, África, Oriente Médio e América Central (Debing *et al.*, 2016), ocorrendo casos esporádicos ocasionais em países desenvolvidos (WHO, 2018). O Brasil é considerado como região de baixa endemicidade para HEV com poucos dados sobre sua circulação e estudos reportando prevalências variando entre populações ribeirinhas da Amazônia (6,1%), pacientes que passam por hemodiálise em São Paulo (4,9%), entre doadores de sangue (2%) e casos de hepatite aguda reportados em Salvador (29%), em Manguinhos no Rio de Janeiro/RJ (2,4%), usuários de drogas injetáveis (11,8%) e não-injetáveis (6,5%). (Focaccia *et al.*, 1995; Pang *et al.*, 1995; Parana *et al.*, 1999; Trinta *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2002; Santos, Oliveira Filho & Pinto, 2013).

A melhor forma de prevenir HAV e HEV é melhorando as condições de higiene e o saneamento básico, como por exemplo: lavar as mãos após ir ao banheiro; ao trocar fraldas e antes de comer ou preparar alimentos; cozinhar bem os alimentos antes de consumi-los; evitar a construção de fossas próximas a poços e nascentes de rios; não tomar banho ou brincar perto de valões, riachos, chafarizes, enchentes ou próximo de esgoto a céu aberto; adoção de medidas rigorosas de higiene, tal como a desinfecção de objetos, bancadas e chão utilizando hipoclorito de sódio a 2,5% ou água sanitária, entre outros em creches, pré-escolas, lanchonetes, restaurantes e instituições fechadas (AIDS.gov, 2018).

Desde a década de 1990, várias vacinas contra o HAV já foram disponibilizadas, incluindo vacinas inativadas e atenuadas. (Ogholikhan & Schwarz, 2016). No Brasil, a vacina contra a Hepatite A de dose única foi introduzida no calendário infantil em 2014 e atualmente está disponível para crianças de 15 meses a 4 anos, 11 meses e 29 dias. Essa vacina é altamente eficaz, com taxas de soroconversão de 94% a 100% sendo uma importante medida de prevenção para esta infecção (Portal da Saúde, 2017). Atualmente uma vacina é comercializada na China, demonstrando imunidade duradoura (Ogholikhan & Schwarz, 2016), o Brasil, no entanto, não apresenta vacinas disponíveis contra o HEV.

A infecção pelos vírus das hepatites B, C e D tem como forma de transmissão as vias sexual, vertical (mãe para o filho) e parenteral. Estes vírus são transmitidos

por via percutânea e através das mucosas tendo como veículo o sangue e outros fluidos corporais infectados, como sêmen e secreção vaginal. A transmissão parenteral pode ocorrer por compartilhamento de objetos perfurocortantes, tais como: alicates de unha, agulhas para tatuagem, piercing e acupuntura, e também durante hemodiálise ou através de transfusão de sangue e hemoderivado (Focaccia, 2013; Ogholikhan & Schwarz, 2016; WHO, 2018).

A principal via de transmissão do HCV é a parenteral, sendo exposição ao sangue ou seus derivados contaminados e o uso de drogas intravenosas os principais modos de transmissão em países desenvolvidos, representando 40 a 50% dos casos. Já nos países em desenvolvimento, as principais vias de infecção são os procedimentos médicos como: cirurgias, hemodíalises e transfusão de sangue e derivados (Lanini *et al.*, 2016). A transmissão sexual do HCV é pouco eficiente e ocorre, sobretudo, em indivíduos com múltiplos parceiros e práticas sexuais de risco, sem uso de preservativo (Bradshaw, Matthews & Danta, 2013). Surtos significativos de infecção entre HSH HIV-positivos têm ocorrido entre europeus, australianos e norte-americanos (Klenerman & Fitzmaurice, 2015).

Geralmente, os pacientes com HCV não eliminam o vírus naturalmente, de modo que a infecção evolui para forma persistente (Dwyre, Fernando & Holland *et al.* 2011). Estima-se que 71 milhões de indivíduos estejam cronicamente infectados com HCV e que entre 60 e 80% dos indivíduos infectados irão desenvolver a forma crônica do HCV com risco de cirrose de 15-30% dentro de 20 anos (WHO, 2018). A prevalência da infecção pelo HCV no mundo é mais elevada em países como Egito (14%), Camarões (13,8%) e Mongólia (10,7%) e prevalências mais baixas foram documentadas na região da Austrália e Oceania (1,2%) (Lavanchy, 2011; Lanini *et al.*, 2016). Dependendo do país, a infecção pelo HCV pode ser maior em certas populações (por exemplo, entre pessoas que injetam drogas) (WHO, 2018).

O HDV é um vírus defeituoso que depende da presença do envelope do HBV para dar início a uma infecção na célula alvo (adsorção). Sendo assim, só pode estabelecer uma infecção na presença do HBV, portanto, compartilham as mesmas vias de transmissão (Hughes *et al.* 2011), sendo a via parenteral a principal na transmissão dessa infecção. A distribuição da infecção por HDV varia em todo o mundo. Segundo a WHO (2018), dos 257 milhões de indivíduos infectados com HBV, estima-se que 15 milhões estejam coinfectedos com HDV. Áreas de alta prevalência incluem: Mediterrâneo, Oriente Médio, Paquistão, Ásia Central e do Norte, Japão, Taiwan, Gronelândia, partes da África, Bacia Amazônica e certas

áreas do Pacífico. Já, baixa prevalência ocorre na América do Norte, norte da Europa, África do Sul e Ásia Oriental.

De uma forma geral, as medidas de prevenção, para essas hepatites seriam a utilização de preservativos em todas as relações sexuais, o não compartilhamento de objetos de uso pessoal e que possam ter entrado em contato com sangue, como lâminas de barbear e depilar, escovas de dente, material de manicure e pedicura, equipamentos para uso de drogas, confecção de tatuagem e colocação de piercings. Além disso, toda mulher grávida precisa fazer o acompanhamento pré-natal e os exames para detectar as hepatites. Como já citado, existe uma vacina eficaz e disponível para hepatite B, porém não existem vacinas para hepatite C (pela diversidade genética do vírus e falta de modelos experimentais) nem para a hepatite D, o que seria importante especialmente entre indivíduos já infectados com HBV, uma vez que a coinfeção HBV/HDV tem maior gravidade (Ogholikhan & Schwarz, 2016). A imunização ativa com a vacina contra o HBV é indicada também como prevenção para HDV entre indivíduos não infectados por HBV (Rizzetto, 2009).

No Brasil, dos casos confirmados de HVs entre 1999 e 2016 (561.058), 29%; 37,8%, 32,5% e 0,7% eram referentes aos casos de HAV, HBV, HCV, HDV, respectivamente, sendo a maior proporção de HAV na região Nordeste (30,8%), de HBV e HCV na região Sudeste (35,4% e 62,2%, respectivamente) e de HDV na região Norte (76,8%) (Figura 1.10). Além disso, dos 61.297 óbitos por HVs, 1,7%; 21,6%, 75,6% e 1,1% foram associados ao HAV, HBV, HCV, HDV, respectivamente (Ministério da Saúde, 2017).

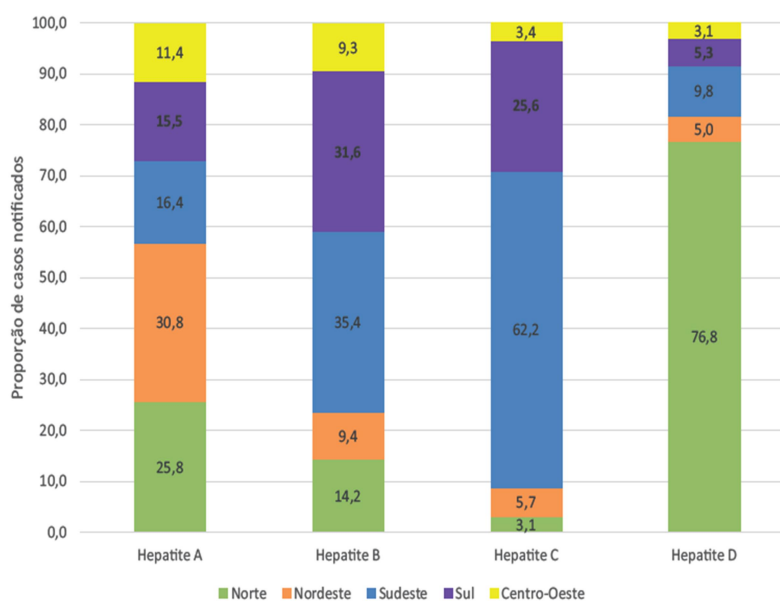


Figura 1.10 Proporção de casos de HVs segundo as regiões brasileiras entre 1999 e 2016. (Fonte: Ministério da Saúde, 2017)

1.2.3. Conhecimento sobre as Hepatites virais

Como anteriormente exposto, as HVs causam anualmente, mais de um milhão de mortes, e mais de 300 milhões de indivíduos são cronicamente infectados por HBV ou HCV. Devido à ausência de sintomas, as hepatites são conhecidas como doenças silenciosas sendo consideradas um sério problema de saúde pública. No Brasil, as infecções vêm se mantendo constantes ao longo dos últimos anos e, uma falha no conhecimento dessas infecções pode contribuir para o aumento do número de casos.

Até 2030, a agenda das Nações Unidas pretende erradicar as epidemias de AIDS, tuberculose, malária e doenças tropicais negligenciadas e também combater a hepatite, e outras doenças transmissíveis. De acordo com os objetivos globais, é fundamental promover acesso universal à informação e educação, a fim de prevenir doenças infecciosas como a hepatite (United Nations, 2017).

Diversos estudos no mundo já foram realizados com o intuito de observar o conhecimento sobre as diferentes HVs (quadro 1.5). A grande maioria destes estudos está relacionada com populações específicas, como estudantes de medicina, profissionais da área de beleza, pacientes, entre outros, bem como no geral, estes estudos avaliam o conhecimento de uma ou duas hepatites, na maioria dos casos HBV e/ou HCV (Amodio *et al.*, 2010; Joukar *et al.*, 2012; Ataei *et al.*, 2013; ul Haq *et al.*, 2013; Sacchetto *et al.*, 2013; Adoba *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2015; Al-Hazmi, 2015). No entanto, ainda há poucos estudos sobre o conhecimento de tais doenças na população geral (ul Haq *et al.*, 2012; Brouard *et al.*, 2013; Chemaitelly Abu-Raddad & Miller, 2013).

A avaliação do nível de conhecimento sobre as HVs em grupos específicos, bem como entre indivíduos pertencentes à população em geral, que sejam provenientes de áreas com variados recursos e condições de educação e saúde, pode auxiliar na identificação de possíveis lacunas de conhecimento. Esses dados podem ser utilizados por autoridades competentes no desenvolvimento de programas de prevenção em saúde e programas de educação com a finalidade de diminuir o número de casos dessas infecções nessas áreas.

Quadro 1.5 Relação de alguns estudos avaliando o conhecimento sobre Hepatites virais em diferentes populações do mundo nos últimos anos.

Grupo avaliado	HVs avaliadas	Achados	País	Referência
Cabelereiros	HBV e HCV	Bom nível de conhecimento, porém práticas inseguras que podem levar a infecções.	Itália	Amodio <i>et al.</i> , 2010
Manicuras e pedicuras	HBV e HCV	Baixo nível de conhecimento sobre rotas de transmissão, prevenção, biossegurança e risco	Brasil	Oliveira & Focaccia, 2010
População saudável	HBV	Falta de compreensão sobre: controle e prevenção.	Paquistão	ul Haq <i>et al.</i> , 2012
Profissionais de saúde de um Hospital	HCV	Nível de conhecimento aceitável, com insuficiente informação sobre complicações do HCV	Iran	Joukar <i>et al.</i> , 2012
Cabeleireiros	HBV e HCV	Associação entre conhecimento e nível de escolaridade	Iran	Ataei <i>et al.</i> , 2013
Participantes da "Parada Gay"	Hepatites Virais	Conhecimento geral bom quando comparado a grupos de indivíduos heterossexuais	Brasil	Delvaux <i>et al.</i> , 2013
Enfermeiras e médicos	HBV	Necessidade de treinamento contínuo de profissionais envolvidos em cuidados pré-natal, parto e pós-parto. Falta de compreensão básica sobre infecção, controle e gerenciamento da doença.	Brasil	Gonçalves & Gonçalves, 2013
Pacientes com HBV	HBV	Falta de clareza quanto as formas de infecção e prevenção bem como baixa imunização na maioria dos estudantes.	Paquistão	ul Haq <i>et al.</i> , 2013
Estudantes de Odontologia	HBV	Falta de consciência sobre transmissão e prevenção além da falta da vacinação na maioria dos estudantes.	Brasil	Sacchetto <i>et al.</i> , 2013
Estudante da área da saúde	HBV	Maioria bem informado; lacuna no conhecimento sobre desinfecção e procedimentos de esterilização.	Etiópia	Mesfin & Kibret, 2013
Profissionais da área de beleza	Hepatites Virais	Baixo conhecimento observado.	Brasil	Villar <i>et al.</i> , 2014b
Barbeiros	HBV e HCV	Déficit no conhecimento foi observado	Gana	Adoba <i>et al.</i> , 2015
Imigrantes Vietnamistas	HBV e HCV	Lacunas no conhecimento foram observadas.	EUA	Strong <i>et al.</i> , 2015
Pacientes em Clínicas de Atenção Primária	HBV	Conhecimento nos EUA e China urbana foram semelhantes e significativamente melhores do que na China rural. Melhoria no conhecimento deve ser realizada em todas as regiões.	Polônia	Ganczak <i>et al.</i> , 2015
Pacientes com HCV	HCV	Conhecimento adequado sobre os modos de transmissão do VHB.	EUA China rural e urbana	Wu <i>et al.</i> , 2015
Dentistas	HBV	Conhecimento adequado sobre: riscos, transmissão e prevenção, porém falta do esquema vacinal dos estudantes	Arábia Saudita	Al-Hazmi, 2015
Estudantes de medicina e de ciências da saúde	HBV		Etiópia	Abdela <i>et al.</i> , 2016

2. JUSTIFICATIVA

A hepatite B é uma doença de notificação compulsória no Brasil e o aumento no número de infecções relacionadas ao status sócio-econômico já foi observado. Isso provavelmente se deve à dificuldade de acesso aos serviços de saúde e de informação (Ministério da Saúde, 2012). O seu diagnóstico é realizado em amostras de soro na detecção de antígenos e de anticorpos, no entanto, a utilização de espécimes clínicos alternativos, como fluido oral e SSPF, apresentariam vantagens pela facilidade de coleta e transporte. O diagnóstico e o tratamento do HBV são disponibilizados pelo Ministério da Saúde, e o aumento da prevalência da infecção gera aumento dos custos para o SUS. Assim, a utilização de um teste menos oneroso em sua coleta e realização ajudaria no aumento ao acesso ao diagnóstico entre indivíduos de regiões com baixa-infraestrutura e/ou difícil acesso.

Estudos já demonstraram a detecção de marcadores do HBV em amostras de fluido oral e SSPF, porém a maioria empregou amostras de referência ou provenientes de grandes centros (Amado *et al.*, 2006; Hutse *et al.*, 2005; Cruz *et al.*, 2011; Villar *et al.*, 2011; Scalioni *et al.*, 2013). Neles foram observados valores de sensibilidade acima de 78% e de especificidade acima de 92%, para HBsAg, anti-HBc e anti-HBs em SSPF e valores de sensibilidade a partir de 13% e de especificidade acima de 87% para anti-HBc no fluido oral, portanto, adaptações no ensaio tiveram que ser realizadas para aumentar a sensibilidade. Logo, torna-se necessário avaliar a eficiência do ensaio otimizado e a sua utilização no diagnóstico e estudos de prevalência em indivíduos com perfis distintos e de diferentes regiões geográficas do Brasil.

As HVs constituem grave problema de saúde pública, sendo uma das principais causas de doenças infecciosas que leva ao óbito no mundo, com 1,34 milhões de mortes em 2015 (WHO, 2018). A avaliação prévia do conhecimento sobre essas infecções por meio de questionário abordando causas, sintomas, transmissão e prevenção da infecção ou doença investigada, pode ser uma ferramenta útil na observação de possíveis lacunas de conhecimento que também podem ser influenciadas por fatores como escolaridade, renda salarial mensal, idade, entre outros (Wu *et al.*, 2015). As falhas de percepção observadas podem, então, ser trabalhadas, futuramente, através de medidas educativas que permitam aumento do nível de informação e, provável diminuição da incidência das HVs.

O presente estudo faz parte do Plano “Brasil sem miséria” (BSM) do convênio entre o Ministério do Desenvolvimento Social (MDS), a Fiocruz e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), em que os eixos saúde e educação do BSM visam enfrentar múltiplas questões dessas áreas nas regiões onde a pobreza ainda é muito prevalente. Baseado em dados do Censo 2010, do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o Brasil possui 16,2 milhões (8,5%) de indivíduos vivendo em situação de pobreza extrema, sendo 18,1%, 16,8%, 4,0%, 3,4% e 2,6% de indivíduos vivendo nessa situação, respectivamente, nas regiões Nordeste, Norte, Centro-Oeste, Sudeste e Sul. O estudo contou com participantes das cinco regiões brasileiras, incluindo áreas de difícil acesso, com muitos participantes apresentando pouco acesso a condições de saneamento básico e saúde e vivendo com renda inferior a 77 reais por mês (IBGE, 2016).

Foram incluídos indivíduos residentes nos estados de Ceará e Piauí na região Nordeste, sendo estes os terceiro e oitavo estados da federação com maior número de pessoas em situação de pobreza extrema. Também foram incluídos residentes de áreas ribeirinhas, povoados rurais e área urbana de Manaus e Tocantins na região Norte. Na região Centro-Oeste, participaram dos estudos, moradores de regiões alagadas do Pantanal do Mato Grosso do Sul situados a mais de 200km de grandes cidades, constituídas por pescadores, piloteiros de barco e serviços gerais turísticos. A região Sudeste contou com participantes recrutados das comunidades do entorno da Fiocruz (Amorim, Mandela de Pedra, Parque João Goulart), das cidades de Nova Iguaçu, Petrópolis, Macaé e pacientes com hepatite do Ambulatório de Hepatites Virais (IOC/FIOCRUZ) e da UFRJ. Por fim, da região Sul foram incluídos indivíduos que realizaram testes para diagnóstico de HVs, HIV e Sífilis.

As informações sobre as HVs são importantes na sua prevenção e controle, além disso, o diagnóstico do HBV é fundamental na identificação de casos agudos e crônicos, auxiliando no encaminhamento do indivíduo para tratamento, diminuindo o risco do desenvolvimento de cirrose e/ou câncer hepático. Desta forma, a avaliação do nível de conhecimento das HVs e o diagnóstico do HBV em populações com acesso remoto é de extrema importância, uma vez que a avaliação das lacunas de conhecimento pode auxiliar em medidas educativas, e o rápido diagnóstico da infecção proporcionar o tratamento adequado e melhores condições de vida.

Desta forma, duas perguntas foram levantadas: “o uso de fluido oral e SSPF como substitutos ao soro podem ser úteis no diagnóstico da hepatite B?”; e “qual o nível de conhecimento sobre hepatites virais em diferentes localidades do Brasil?”.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar o uso de fluido oral e sangue seco em papel de filtro como espécimes clínicos alternativos ao diagnóstico e estudos de prevalência da Hepatite B bem como avaliar o nível de conhecimento de diferentes populações sobre as hepatites virais.

3.2. Objetivos específicos

1. Adaptar um ensaio imunoenzimático comercial e determinar o seu desempenho na detecção do marcador anti-HBc em amostras de fluido oral provenientes de indivíduos de diferentes regiões geográficas brasileiras;
2. Determinar o desempenho da detecção dos marcadores da hepatite B (HBsAg, anti-HBc, anti-HBs) em amostras de sangue seco em papel de filtro provenientes de indivíduos das diferentes regiões geográficas brasileiras utilizando um EIE adaptado;
3. Comparar o desempenho de SSPF em EIE adaptado e EIE próprio para o material em grupos reagentes e não reagentes para o marcador HBsAg.
4. Avaliar o conhecimento sobre hepatites virais (A, B, C, D e E) em grupos com condições distintas de vulnerabilidade;
5. Elaborar produtos para incremento ao acesso à informação sobre as hepatites virais.

4. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Todos os estudos foram aprovados pelos Comitês de Ética em Pesquisa (CEP) de: Universidade UNIGRANRIO sob o número 0086.0.317.000-8 (ANEXO 10.1), plataforma Brasil sob número CAAE 38846914.5.0000.5248 (ANEXO 10.2), e número CAAE 34055514.9.0000.5248 (ANEXO 10.3).

Todos os indivíduos que participaram dos estudos foram previamente informados e tiveram suas dúvidas esclarecidas. Quando gerados resultados, os mesmos foram encaminhados aos indivíduos e, sendo eles portadores de alguma infecção, foram encaminhados aos serviços de saúde para aconselhamento e tratamento necessários.

Somente foram inclusos aqueles indivíduos que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) de cada estudo (APÊNDICE 11.1, 11.2 e 11.3), menores de idade incluídos, tiveram o termo assinado pelo representante legal, participantes que doaram amostras de soro e SSPF também responderam um questionário com perguntas socio-demográficas (APÊNDICE 11.4). Os participantes dos estudos de conhecimento sobre as hepatites virais também responderam questionários específicos (APÊNDICES 11.5 e 11.6)

5. RESULTADOS

Os resultados obtidos nesta tese serão apresentados na forma de manuscritos sendo dois publicados e três submetidos em revistas científicas indexadas na base de dados da CAPES. Os artigos estão listados a seguir na ordem dos objetivos e que serão discutidos.

Artigo 1: Usefulness of oral fluid samples for hepatitis B antibody detection according to background prevalence

Artigo 2: Dried Blood Spot samples as alternative specimen to evaluate hepatitis B virus prevalence in different endemicity groups

Artigo 3: Comparison of the performance of enzyme immunoassays for hepatitis B and C detection in dried blood spot

Artigo 4: A cross-sectional study of viral hepatitis perception among residents from Southeast and North regions of Brazil.

Artigo 5: Cross sectional study to determine viral hepatitis knowledge in different urban populations in Brazil.

Material educativo: Folheto educativo sobre Hepatites Virais

Durante o período do doutorado foram realizados trabalhos em colaboração, que não serão anexados, mas estão listados a seguir:

Scalioni Lde P, Cruz HM, de Paula VS, Miguel JC, Marques VA, Villela-Nogueira CA, *et al.* Performance of rapid hepatitis C virus antibody assays among high- and low-risk populations. *J Clin Virol.* 2014 Jul;60(3):200-5.

Villar LM, Cruz HM, Barbosa JR, Bezerra CS, Portilho MM, Scalioni Lde P. Update on hepatitis B and C virus diagnosis. *World J Virol.* 2015 Nov 12;4(4):323-42.

Cruz HM, Scalioni Lde P, de Paula VS, da Silva EF, do Ó KM, Milagres FA, *et al.* Evaluating HBsAg rapid test performance for different biological samples from low and high infection rate settings & populations. *BMC Infect Dis.* 2015 Nov 30;15:548.

Villar LM, Ó KM, Scalioni LP, Cruz HM, Portilho MM, Mendonça AC, *et al.* Prevalence of hepatitis B and C virus infections among military personnel. *Braz J Infect Dis.* 2015 May-Jun;19(3):285-90.

Flores GL, de Almeida AJ, Miguel JC, Cruz HM, Portilho MM, Scalioni Lde P, *et al.* A Cross section study to determine the prevalence of antibodies against HIV infection among Hepatitis B and C infected Individuals. *Int J Environ Res Public Health.* 2016 Mar 11;13(3). pii: E314.

Costa V, Coimbra L, Cruz HM, Fernandes JJ, Santos AS, Lanzarini NM, *et al.* Viral hepatitis and mass gathering events. *Virus Rev Res.* 2016;21, p. 19-24.

Flores GL, Cruz HM, Potsch DV, May SB, Brandão-Mello CE, Pires MMA, *et al.* Evaluation of HBsAg and anti-HBc assays in saliva and dried blood spot samples according to HIV status. *J Virol Methods*. 2016 Sep;247:32-37.

Cruz HM, Scalioni LP, Paula VS, Miguel JC, Ó KM, Milagres FA, *et al.* Poor sensitivity of rapid tests for the detection of antibodies to the hepatitis B virus: implications for field studies. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2017 Mar;112(3):209-213.

Flores GL, Cruz HM, Marques VA, Villela-Nogueira CA, Potsch DV, May SB, *et al.* Performance of ANTI-HCV testing in dried blood spots and saliva according to HIV status. *J Med Virol*. 2017 Aug;89(8):1435-1441

Cortes VF, Taveira A, Cruz HM, Reis AA, Cezar JS, Silva BS, *et al.* Prevalence of Hepatitis B and C virus infection among alcoholic individuals: importance of screening and vaccination. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2017;59:e47.

5.1. Artigo 1: Usefulness of oral fluid samples for hepatitis B antibody detection according to background prevalence

Os resultados apresentados neste manuscrito são referentes ao seguinte objetivo: **Adaptar um ensaio imunoenzimático e determinar o seu desempenho na detecção do marcador anti-HBc em amostras de fluido oral provenientes de indivíduos de diferentes regiões geográficas brasileiras.**

Situação do Manuscrito: Submetido para ser considerado para publicação como artigo completo na revista BMC Infectious Diseases em 22/12/2017

Qualis B1 na área Medicina II

Fator de impacto - 2.768

Referência: Cruz HM; de Paula VS, da Silva EF, do Ó KMR, Milagres FAP, Santos-Cruz M, Bastos FI, Pollo-Flores P, Leal E, Morra-Castro ARC, Lewis-Ximenez LL, Lampe E, Villar LM. Usefulness of oral fluid samples for hepatitis B antibody detection according to background prevalence.

BMC Infectious Diseases

USEFULNESS OF ORAL FLUID SAMPLES FOR HEPATITIS B ANTIBODY DETECTION ACCORDING TO BACKGROUND PREVALENCE.

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:									
Full Title:	USEFULNESS OF ORAL FLUID SAMPLES FOR HEPATITIS B ANTIBODY DETECTION ACCORDING TO BACKGROUND PREVALENCE.								
Article Type:	Research article								
Section/Category:	Hepatitis and co-infections								
Funding Information:	<table border="1"> <tr> <td>Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro</td> <td>Ms Helena Medina Cruz</td> </tr> <tr> <td>Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico</td> <td>Ms Helena Medina Cruz</td> </tr> <tr> <td>Fundação Oswaldo Cruz</td> <td>Ms Helena Medina Cruz</td> </tr> <tr> <td>Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior</td> <td>Ms Helena Medina Cruz</td> </tr> </table>	Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro	Ms Helena Medina Cruz	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico	Ms Helena Medina Cruz	Fundação Oswaldo Cruz	Ms Helena Medina Cruz	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior	Ms Helena Medina Cruz
Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro	Ms Helena Medina Cruz								
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico	Ms Helena Medina Cruz								
Fundação Oswaldo Cruz	Ms Helena Medina Cruz								
Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior	Ms Helena Medina Cruz								
Abstract:	<p>Background: Hepatitis B virus (HBV) testing in oral fluid samples may provide advantages in the diagnosis, screening or prevalence studies, especially among individuals with venous access difficulties. This study aims to optimize commercially available assays for detecting total anti-HBc marker in oral fluid samples according to background prevalence to allow prevalence and diagnosis studies. Methods: Oral fluid was collected using a Salivette device and some parameters were initially evaluated: type of elution buffer and sample volume. After, the usefulness of oral fluid samples for detecting anti-HBc was evaluated in real life conditions in three groups where 1,296 individuals gave serum and oral fluid samples and were divided into three groups: high, low-prevalence and vulnerable groups. All serum samples were submitted to commercial EIAs to detect anti-HBc total, according to manufacturer's instructions and oral fluid samples according to previously optimization. Results: In optimization evaluation, PBS/BSA 0.5% and 100 µL of oral fluid (twofold increased compared to serum in EIA) were chosen as transport buffer and sample volume. In field study, anti-HBc was detected in 211 out of 1296 serum samples giving oral fluid sensitivities of 70.6%, 30.7% and 57.1% in high-, low-prevalence and vulnerable groups, respectively. Specificities were above 91% in all groups studied. Mean±standard deviation values of optical density/cutoff (OD/CO) in serum samples were higher in false-negative oral fluid samples than those seen in true positive samples. Sensitivity was higher in those presenting active infection compared to past infection and it was increased in high-prevalence group when HIV and HCV individuals were excluded. Conclusions: Oral fluid could be used for anti-HBc detection particularly among HBV monoinfected individuals from high prevalence settings.</p>								
Corresponding Author:	LIVIA Melo VILLAR Fundacao Oswaldo Cruz Rio de Janeiro, Rio de Janeiro BRAZIL								
Corresponding Author Secondary Information:									
Corresponding Author's Institution:	Fundacao Oswaldo Cruz								
Corresponding Author's Secondary Institution:									
First Author:	Helena Medina Cruz, Master Degree								
First Author Secondary Information:									
Order of Authors:	<table border="1"> <tr> <td>Helena Medina Cruz, Master Degree</td> </tr> <tr> <td>Vanessa Salete de Paula, PhD</td> </tr> </table>	Helena Medina Cruz, Master Degree	Vanessa Salete de Paula, PhD						
Helena Medina Cruz, Master Degree									
Vanessa Salete de Paula, PhD									

	Elisangela Ferreira da Silva
	Kycia Maria Rodrigues do Ó, Master Degree
	Flavio Augusto Padua Milagres, Master Degree
	Marcelo Santos Cruz
	Francisco Inácio Bastos, PhD
	Priscila Pollo-Flores, PhD
	Erotildes Leal
	Ana Rita Motta-Castro, PhD
	Lia Laura Lewis-Ximenez
	Elisabeth Lampe
	LIVIA Melo VILLAR
Order of Authors Secondary Information:	
Opposed Reviewers:	

[Click here to view linked References](#)

1 **USEFULNESS OF ORAL FLUID SAMPLES FOR HEPATITIS B ANTIBODY**
2 **DETECTION ACCORDING TO BACKGROUND PREVALENCE.**

3 Helena Medina Cruz¹, Vanessa Salete de Paula², Elisangela Ferreira da Silva¹, Kycia
4 Maria Rodrigues do Ó³, Flavio Augusto Pádua Milagres⁴, Marcelo Santos Cruz⁵,
5 Francisco Inácio Bastos⁶, Priscila Pollo-Flores⁷, Erotildes Leal⁸, Ana Rita Coimbra
6 Motta-Castro⁹, Lia Laura Lewis-Ximenez¹, Elisabeth Lampe¹ and Livia Melo Villar^{1,*}.

7
8 ¹Laboratory of Viral Hepatitis, Oswaldo Cruz Institute, FIOCRUZ, Rio de Janeiro,
9 Brazil.

10 ²Molecular Virology Laboratory, Oswaldo Cruz Institute, FIOCRUZ, Rio de Janeiro,
11 Brazil.

12 ³São Lucas Hospital, Petropolis, Rio de Janeiro, Brazil.

13 ⁴Medicine Faculty, Federal University of Tocantins, Palmas, Brazil.

14 ⁵ Institute of Psychiatry, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

15 ⁶Institute of Communication and Scientific Information & Technology for Health,
16 Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil.

17 ⁷Antonio Pedro University Hospital, Federal Fluminense University, Rio de Janeiro,
18 Brazil.

19 ⁸Federal University of Rio de Janeiro, Faculty of Medicine, Rio de Janeiro, Brazil

20 ⁹Federal University of Mato Grosso do Sul and FIOCRUZ-MS, Campo Grande, MS,
21 Brazil.

22
23
24 RUNNING TITLE: ORAL FLUID TO HBV EPIDEMIOLOGY STUDIES.

26 **Authors address:**

27

28 Helena Medina Cruz, Laboratory of Viral Hepatitis, Oswaldo Cruz Institute, FIOCRUZ,

29 Rio de Janeiro, Brazil, leninhamedina@gmail.com

30

31 Vanessa Salette de Paula, Molecular Virology Laboratory, Oswaldo Cruz Institute,

32 FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil, vdepaula@ioc.fiocruz.br

33

34 Elisangela Ferreira da Silva, Laboratory of Viral Hepatitis, Oswaldo Cruz Institute,

35 FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil, elis-ferreira@ioc.fiocruz.br

36

37 Kycia Maria Rodrigues do Ó, São Lucas Hospital, Petropolis, Rio de Janeiro, Brazil,

38 kyciadoo@gmail.com

39

40 Flavio Augusto Pádua Milagres, Federal University of Tocantins, Tocantins, Brazil,

41 flaviomilagres@mail.uft.edu

42

43 Marcelo Santos Cruz, Institute of Psychiatry, Federal University of Rio de Janeiro, Rio

44 de Janeiro, Brazil, marcelosantoscruz@ipub.ufrj.br

45

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

46 Francisco Inácio Bastos, Institute of Communication and Scientific Information &
47 Technology for Health, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil;
48 francisco.inacio.bastos@hotmail.com

49

50 Priscila Pollo-Flores, Antonio Pedro University Hospital, Federal Fluminense
51 University, Rio de Janeiro, Brazil; priscilapollo96@gmail.com

52

53 Erotildes Leal, Federal University of Rio de Janeiro, Faculty of Medicine, Rio de
54 Janeiro, Brazil, eroleal@gmail.com

55

56 Ana Rita Coimbra Motta-Castro, Federal University of Mato Grosso do Sul and
57 FIOCRUZ-MS, Campo Grande, MS, Brazil; arcm.castro@hotmail.com

58

59 Lia Laura Lewis-Ximenez, Laboratory of Viral Hepatitis, Oswaldo Cruz Institute,
60 FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil, llewis@ioc.fiocruz.br

61

62 Elisabeth Lampe, Laboratory of Viral Hepatitis, Oswaldo Cruz Institute, FIOCRUZ,
63 Rio de Janeiro, Brazil, elampe@ioc.fiocruz.br

64

65 Livia Melo Villar, Laboratory of Viral Hepatitis, Oswaldo Cruz Institute, FIOCRUZ,
66 Rio de Janeiro, Brazil, liviafiocruz@gmail.com

67

68 *Correspondence to: Livia Melo Villar, Viral Hepatitis Laboratory, Helio and Peggy
69 Pereira Pavillion - Ground Floor - Room B09, FIOCRUZ Av. Brasil, 4365 -
70 Manguinhos - Rio de Janeiro, RJ, Brazil. Postal Code: 210360-040. Tel: +55 21 2562
71 1918

72 **E-mail: lvillar@ioc.fiocruz.br**

73

74

75 SUMMARY

76 **Background:** Hepatitis B virus (HBV) testing in oral fluid samples may provide
77 advantages in the diagnosis, screening or prevalence studies, especially among
78 individuals with venous access difficulties. This study aims to optimize commercially
79 available assays for detecting total anti-HBc marker in oral fluid samples according to
80 background prevalence to allow prevalence and diagnosis studies. **Methods:** Oral fluid
81 was collected using a Salivette device and some parameters were initially evaluated:
82 type of elution buffer and sample volume. After, the usefulness of oral fluid samples for
83 detecting anti-HBc was evaluated in real life conditions in three groups where 1,296
84 individuals gave serum and oral fluid samples and were divided into three groups: high,
85 low-prevalence and vulnerable groups. All serum samples were submitted to
86 commercial EIAs to detect anti-HBc total, according to manufacturer's instructions and
87 oral fluid samples according to previously optimization. **Results:** In optimization
88 evaluation, PBS/BSA 0.5% and 100 µL of oral fluid (twofold increased compared to
89 serum in EIA) were chosen as transport buffer and sample volume. In field study, anti-
90 HBc was detected in 211 out of 1296 serum samples giving oral fluid sensitivities of
91 70.6%, 30.7% and 57.1% in high-, low-prevalence and vulnerable groups, respectively.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

92 Specificities were above 91% in all groups studied. Mean±standard deviation values of
93 optical density/cutoff (OD/CO) in serum samples were higher in false-negative oral
94 fluid samples than those seen in true positive samples. Sensitivity was higher in those
95 presenting active infection compared to past infection and it was increased in high-
96 prevalence group when HIV and HCV individuals were excluded. **Conclusions:** Oral
97 fluid could be used for anti-HBc detection particularly among HBV monoinfected
98 individuals from high prevalence settings.

99 **KEYWORDS:** hepatitis B virus; Oral fluid; Anti-HBc marker; Enzyme Immunoassay;
100 prevalence.

101

102 **1. INTRODUCTION**

103 Health, social and economic burden of Hepatitis B virus (HBV) infection is
104 substantial once that is a global public health problem with 257 million HBV chronic
105 carriers [1]. Screening of infected, cured and vaccinated individuals is necessary to
106 identify the presence of chronically infected reservoirs, immune and susceptible
107 individuals [2]. Diagnosis of HBV infection is made using serum or plasma samples [3]
108 collected by venipuncture that is an invasive, expensive, potentially painful and arduous
109 in some individuals like drug users, patients under hemodialysis, obese and elder
110 people. In regions where financial resources are scarce, it would be beneficial to use
111 methods with low cost and biological risk, such as oral fluid samples. Their collection is
112 less invasive, less painful, simpler and safer than blood collection allowing obtainment
113 of a vast number of samples for epidemiological and prevalence studies [4-8].

114 Oral fluid contains saliva from the salivary glands and gingival crevicular fluid,
115 which is a transudate plasma derived from the capillary bed beneath the tooth–gum

116 margin [9; 10]. The inconvenience is the fact that the concentration of IgG in oral fluid
117 has been reported to be substantially lower (average 300 times) when compared to its
118 concentration in serum [11-14].

119 The use of oral fluid samples as a noninvasive alternative to blood for the
120 detection of virus-specific antibodies was first promoted by Parry et al. [15]. Since then
121 these samples were used to detect Varicella, Herpes simplex, human immunodeficiency
122 Vírus (HIV), Hepatitis A virus (HAV) and Hepatitis C virus (HCV) markers [10; 14;
123 16-19; 20].

124 HBV markers were detected in oral fluid samples, especially the surface antigen
125 of the hepatitis B virus (HBsAg) [4; 21-28]. However, few studies evaluated the
126 usefulness of oral fluid samples for detecting Antibodies directed against the core
127 protein (anti-HBc marker). In these studies, sensitivities vary from 13.0% to 85.9% and
128 specificities ranged from 78.0% to 100.0% [8; 29-31].

129 Anti-HBc appear shortly after HBsAg in acute infection (Anti-HBc IgM) and
130 persist detectable in patients with past HBV and among chronic cases (anti-HBc IgG) of
131 HBV infection [3]. Since total anti-HBc marker indicates previous contact to virus, your
132 assessment using oral fluid sample could help the surveillance and control of HBV.

133 This study aims to optimize commercially available assays for detecting total
134 anti-HBc marker in oral fluid samples according to background prevalence to allow
135 prevalence and diagnosis studies.

136

137 2. MATERIALS AND METHODS

138 The Ethics Committee of Oswaldo Cruz Institute approved this study under
139 CAAE number 34055514.9.0000.5248. Each participant (or legal guardian) gave

140 informed consent before entering the study. Laboratory results were sent to members
141 and, in the case of carriers, they were referred to Health Services for Orientation and
142 treatment needed.

143

144 **2.1. Optimization of anti-HBc assay for oral fluid samples**

145 Serum and oral fluid samples were obtained from confirmed suspect cases of
146 viral hepatitis that were referred to the National Reference Laboratory for Viral
147 Hepatitis (LRNHV) in the Oswaldo Cruz Institute (Rio de Janeiro, Brazil). Inclusion
148 criteria for this group were acute, chronic or suspected cases of hepatitis B infections,
149 with and without previous treatment, the age of more than 18 years.

150 Blood samples were collected by venipuncture and centrifuged to obtain serum.
151 Oral fluid was obtained using a commercial device (Salivette, Sarstedt, Germany) and
152 processed as previously described [27]. All samples were stored at -20°C until analysis.

153 To optimize Enzyme immunoassay (EIA) for anti-HBc (ETI-AB-CORECK-
154 PLUS, Diasorin, Italy), two parameters were evaluated: 1) transport buffer for oral fluid
155 samples [(T1) phosphate buffer saline (PBS) pH 7.2; (T2) PBS/Tween 20 0.05%; (T3)
156 PBS/Tween 20 0.05%/ 0.005% sodium azide; (T4) PBS/Tween20 0.2%/ bovine serum
157 albumin (BSA) 5%, and (T5) PBS/BSA 0.5%]; and 2) Sample Volume: 100µL of oral
158 fluid sample +50 µL of neutralization buffer; and 100µL of oral fluid sample + 25 µL of
159 neutralization buffer (in sera: 50µL of sample +50 µL of neutralization buffer + 50 µL
160 of sample dilution).

161

162 **2.2. Field Study evaluation**

163 To evaluate the usefulness of oral fluid samples for detecting anti-HBc in real
164 life conditions, serum and oral fluid samples were collected from 1,296 individuals at

165 same time and were divided in three groups, defining a panel including people living in
166 settings with low and high background prevalences.

167 Group I (GI) was considered the high-prevalence group up composed of 291
168 individuals recruited at LRNHV. The inclusion criteria for this group were acute,
169 chronic or suspected cases of hepatitis B infections and aging more than 18 years.

170 Group II (GII) was considered the low-risk group where 659 individuals living
171 in Southeast (95 individuals from Rio de Janeiro State), North (336 people from
172 Tocantins State) and Midwest (228 individuals from Mato Grosso do Sul State) regions
173 of Brazil were recruited. Those individuals lived at in remote areas and/or deprived
174 communities and did not report parenteral exposure (i.e. did not inject drugs) or
175 multiple sexual unprotected intercourse.

176 Group III (GIII) was composed of 346 especially vulnerable individuals,
177 including beauticians (n= 277) and crack users (n= 69) from Rio de Janeiro State
178 (Southeast region of Brazil).

180 A questionnaire comprising demographic (gender and age) and socioeconomic
181 aspects (education level, family income, and home characteristics) was applied to these
182 individuals. Data collection took place just before the moment of the samples collection.

183

184 **2.3. Laboratory Tests**

185 All sera samples were submitted to commercial EIAs to detect anti-HBc total,
186 antibodies directed against HBV surface antigen (anti-HBs) and HBsAg, (ETI-AB-
187 COREK-PLUS, ETI-MAK-4, and ETI-AB-AUK-3, Diasorin, Italy, respectively)
188 according to manufacturer's instructions. Reactive samples were retested in duplicate to
189 confirm results.

190

1
2
3 **191 2.4. Data analysis**
4

5
6 **192** Anti-HBc detection in serum samples was used as a gold standard for the
7
8 **193** assessment of the sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative
9
10 **194** predictive value (NPV) of the oral fluid HBV assay. Descriptive statistics comprise the
11
12 **195** mean or median \pm the standard deviation (SD). Categorical variables were compared
13
14 **196** between groups using the chi-square test or Fisher's exact test, and noncategorical
15
16 **197** variables were analyzed by the Mann–Whitney U test. A p-value of <0.05 was
17
18 **198** considered significant. Concordance between the results obtained for the paired oral
19
20 **199** fluid and sera samples were established using the Kappa index (k) and can be
21
22 **200** interpreted as follows: <0.20 is poor agreement t; $0.21–0.40$ is fair agreement; $0.41–$
23
24 **201** 0.60 is moderate agreement; $0.61–0.80$ is good agreement, and $0.81–1.00$ is very good
25
26 **202** agreement [32]. The data analyses were performed using GraphPad InStat, version 3.01
27
28 **203** (GraphPad Software, San Diego, CA), MedCalc, version 9.2.1.0 (MedCalc Software,
29
30 **204** Mariakerke, Belgium) and Statistical Package for the Social Sciences (SPSS for
31
32 **205** Windows, release 10.0; SPSS Inc., Chicago, IL).
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42

206

43 **207 3. RESULTS**
44
45
46

208

47
48
49 **209 3.1. Laboratory parameters evaluation**
50
51

52
53 **210** Transportation buffer and volume of sample in the assay were evaluated to
54
55 **211** detect anti-HBc total marker using oral fluid samples in commercial EIA. PBS/BSA
56
57 **212** 0.5% was chosen as transport buffer, once their optical density (OD) values were closer
58
59 **213** to the serum samples OD values (Figure 1). A sample volume of 100 μ L of oral fluid
60
61
62
63
64
65

214 and 25 μ L of neutralization buffer was chosen as defined by lower OD values in
215 positive samples (Figure 2).

216

217

218 **Figure 1.** Optical Density (OD) mean values ($X\pm SD$) obtained in saliva samples
219 according to transport buffer. Transport Buffers: (1) PBS pH 7.2; (2) PBS/Tween 20
220 0.05%; (3) PBS/Tween 20 (0.05%)/Sodium azide (0.005%); (4) PBS/Tween 20
221 (0.2%)/BSA 5%; (5) PBS/BSA 0.5%. OD mean value among paired negative serum
222 samples was 1.050 ± 0.213 and among positive serum samples was -0.002 ± 0.003 .
223 Differences were not significant to negative samples ($P = 0.112$) but significant to
224 positive samples ($P = 0.042$)

225

226

227 **Figure 2.** Optical Density (OD) mean values ($X\pm SD$) obtained according different
228 sample volume on assay. OD mean value among negative serum samples was $0.644\pm$
229 0.203 and among positive serum samples was 0.009 ± 0.025 . Differences were
230 significant ($P < 0.0001$).

231

232 **3.2. Field Study evaluation**

233 **3.2.1. Demographic characteristics**

234 Female gender was predominant in all studied groups. Mean \pm standard
235 deviation of age was 50.5 ± 13.4 ; 31.3 ± 18.0 and 35.1 ± 14.3 in GI, GII and GIII,
236 respectively. Most of individuals aged less than 40 years (53.3%), have completed high
237 school (29.6) and receive a monthly income U\$276.00 to 828.00 (32.2) (Table 1).

238 **Table 1** - Socio-demographic characteristics of each group analyzed in the study.

Data	GI (291)	GII (659)	GIII (346)	Total (1296)
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Grander				
Female	175 (60.1)	347 (52.7)	218 (63.0)	740 (57.1)
Male	108 (37.1)	264 (40.1)	121 (35.0)	493 (38.0)
Not declared	8 (2.7)	48 (7.3)	7 (2.0)	63 (4.9)
Age (years)				
<40	63 (21.6)	407 (61.8)	221 (63.9)	691 (53.3)
≥40	219 (75.3)	177 (26.8)	118 (34.1)	514 (39.7)
Not declared	9 (3.1)	75 (11.4)	7 (2.0)	91 (7.0)
Mean ± standard deviation	50.5±13.4	31.3±18.0	35.1±14.3	36.8±17.8
Education level				
Basic education	64 (22.0)	55 (8.3)	75 (21.7)	194 (15.0)
Elementary School	77 (26.5)	83 (12.6)	42 (12.1)	202 (15.6)
High school	88 (30.2)	112 (17.0)	184 (53.2)	384 (29.6)
Graduate	28 (9.6)	49 (7.4)	38 (11.0)	105 (8.8)
Not declared	34 (11.7)	360 (54.6)	7 (2.0)	401 (30.9)
Income (according to Brazilian Minimum salary)				
< US\$276.00	14 (4.8)	31 (4.7)	7 (2.0)	52 (4.0)
U\$276.00 to 828.00	152 (52.2)	123 (18.7)	143 (41.3)	418 (32.2)
>U\$828.00	61 (20.9)	119 (18.0)	122 (35.2)	302 (23.3)
Not declared	63 (21.9)	386 (8.5)	74 (21.4)	524 (40.4)

239

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

240 **3.2.2. Anti-HBc testing in oral fluid according to background prevalence.**

241 Among 1,296 individuals, anti-HBc marker was detected in 211 serum samples
242 and no detected in 1085, the serological profile can be viewed in figure 3.

243
244
245 **Figure 3.** Serological profile of HBsAg, anti-HBc and anti-HBs markers from
246 participants of study. **Legends:** - negative; + positive

247
248 Full concordance between anti-HBc results in oral fluid and sera was 54.6%, but
249 differences were observed according to the group under study. High concordance was
250 observed in GI (67.7%) followed by crack users from GIII (45.1%) and individuals
251 from North region of GII (39.9%). Specificity values were above 91.5% for all groups,
252 whereas sensitivities vary from 21.6% to 70.6% (Table 2).

16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

253 **Table 2** – Quality parameters of anti-HBc detection in oral fluid samples using commercial EIA according background prevalence.

254

Profile	TP	FN	TN	FP	Sensitivity% (CI%)	Specificity% (CI%)	PPV% (I CI%)	NPV% (CI %)	k (IC)
G1: High prevalence group (291)	72	30	178	11	70.6 (60.7-79.2)	94.2 (89.8-97.1)	86.7 (77.5- 93.2)	85.6 (80.0- 90.0)	67.7 (58.5- 76.8)
G2: Low risk group (659)	27	61	555	16	30.7 (21.3-41.4)	97.2 (95.5-98.4)	62.8 (46.7- 77.0)	90.1 (87.5- 92.3)	35.6 (22.0- 49.1)
G2: MidWest region subgroup (228)	8	29	190	1	21.6 (9.8-38.2)	99.5 (97.1-99.9)	88.9 (51.7- 99.7)	86.8 (81.5- 90.9)	30.4 (7.1- 53.6)
G2: North region subgroup (336)	17	31	279	9	35.4 (22.2-50.5)	96.9 (94.1-98.7)	65.4 (44.3- 82.8)	90.0 (86.1- 93.1)	39.9 (22.4- 57.4)
G2: Southeast region	2	1	86	6	66.7 (9.4-99.2)	93.5 (86.3-97.8)	25.0 (3.2- 98.8)	98.8 (93.8- 98.8)	33.3 (0.0- 98.8)

16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

subgroup (95)							65.1)	99.9)	80.9)
G 3: Vulnerable group (346)	12	9	309	16	57.1 (34.0-78.2)	95.1 (92.1-97.2)	42.9 (24.5- 62.8)	97.2 (94.7- 98.7)	45.2 (24.5- 65.9)
G 3: Crack users subgroup (69)	5	4	55	5	55.6 (21.2-86.3)	91.7 (81.6-97.2)	50.0 (18.7- 81.3)	93.2 (83.5- 98.1)	45.1 (11.6- 78.5)
G 3: Beauticians subgroup (277)	7	5	254	11	58.3 (27.7-84.8)	95.8 (92.7-97.9)	38.9 (17.3- 64.2)	8.1 (95.5- 99.4)	43.7 (17.0- 70.)
All groups (1296)	111	100	104 2	43	52.6 (45.6-59.5)	96.0 (94.7-97.1)	72.1 (64.3- 79.0)	91.2 (89.4- 92.8)	54.6 (47.6- 61.6)

Legends: TP = True positive; FN= False-negative; TN = True negative; FP = False-positive; PPV = Positive Predictive Value; NPV = Negative Predictive Value; k = kappa index; n = number of samples; CI = confidence interval

259 Mean±standard deviation values of optical density/cutoff (OD/CO) in sera
260 samples were higher in false-negative oral fluid samples than those seen in true positive
261 samples, as follows: 1.516±0.251 vs. 0.074±0.333 (p<0.0001) in GI; 1.494±0.566 vs.
262 0.700± 0.253 (p<0.0001) in GII; 1.491±0.236 vs. 0.623±0.270 (p<0.0001) in GIII.

263 The sensitivity of anti-HBc marker was also assessed according to active
264 infection (HBsAg⁺/anti-HBs⁻) and past infection (HBsAg⁻/anti-HBs⁺), and sensitivities
265 were 92.7% (51/55) and 37.0% (44/119) in active and past infection, respectively.

266 Sensitivity was also evaluated by comparing all individuals and excluding those
267 with at least one of the HIV and/or HCV infections (n=233). The sensitivity values
268 increased from 52.6% to 54.0% in total population, from 70.6% to 90.9% in GI, from
269 30.7% to 31.0% in GII and from 57.1% to 52.6% in GIII.

270

271 4. DISCUSSION

272 In this study, a commercial EIA was optimized for anti-HBc detection in oral fluid
273 samples demonstrating good performance in high-prevalence groups compared to other
274 populations/individuals living in different settings. First, commercial EIA was adapted
275 for oral fluid samples where elution buffer PBS /BSA 0.5% (buffer 5) was the most
276 appropriate to anti-HBc detection as demonstrated by OD/CO values, probably due to
277 the presence of bovine albumin that could avoid unspecific reactions. The same buffer
278 was also used for HBsAg and anti-HCV detection in oral fluid samples using optimized
279 commercial EIAs [20; 27].

280 In addition, oral fluid sample was twofold increased in assay compared to serum,
281 probably due to the low amount of antibodies in the first, as seen in similar studies to
282 detect viral hepatitis markers in oral fluid [4; 20; 31; 33].

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

283 When anti-HBc assay in oral fluid was evaluated in different groups, good
284 concordance was observed in group I (high-prevalence group, $k = 67.7\%$), fair
285 concordance in group II (low-prevalence group, $k = 35.6\%$) and moderate concordance
286 in group III (especially vulnerable group, $k = 45.2\%$). These differences could be due to
287 the presence of active infection (acute or chronic cases), since individuals from high-
288 prevalence group tend to have has high probability to present HBsAg in their sera. It is
289 important to note that anti-HBc assay in oral fluid had high sensitivity in individuals
290 presenting active infection compared to those with past HBV infection corroborating
291 previous observation of best performance of HBV assay in oral fluid samples from high
292 prevalence settings [30].

293 Anti-HBc assay in oral fluid samples demonstrated high specificities in all groups
294 (above 91.5%) as the same as observed in different settings, like viral hepatitis clinics
295 [31] and blood donors and injecting drug users [30]. It is interesting to observe that low
296 number of false negative results for oral fluid were found in Southeast region compared
297 to other regions where background prevalences are low, probably due to the short
298 interval between sample collection and transportation to the laboratory. Scalioni et al.
299 [6] have showed that HBsAg titers diminished between 15 to 30 days when stored at
300 37°C, the same temperature observed in several months in the Midwest and North
301 regions of Brazil.

302 Sensitivities of anti-HBc assay in oral fluid vary between groups and subgroups
303 from 21.6% in the Midwest region of Brazil (subgroup from GII) to 70.6% in high-
304 prevalence group (GI) probably due to the high number of cases of active infection in
305 group I. Previous studies also demonstrated low sensitivity of anti-HBc detection in oral
306 fluid samples, 13% and 43% reported by Amado et al. [31] and Nokes et al. [29],

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

307 respectively. High sensitivity was found among the injecting drug users group (85.9%)
308 [30] what could also be the result of a high number of active infection in this group.

309 The differences in anti-HBc testing performance could also be the result of distinct
310 oral fluid collector devices and EIA used: Oracol (Malvern Medical Developments) and
311 Organon Teknika [29]; Omni-SAL® (Saliva Diagnostic Systems, Singapore) and
312 Murex ICE HBc (Murex Biotech Ltd., UK) [30] and Orasure® (Orasure Technologies
313 Inc., Bethlehem, PA, USA) and Organon Teknika [31].

314 As expected, the values of OD were lower in the saliva samples when compared to
315 serum, however, false negative samples demonstrated in their paired serum samples
316 both low and high values of OD demonstrating that serum anti-HBc concentration was
317 probably not associated to saliva anti-HBc detection. We also observed high sensitivity
318 in high-prevalence group, when HCV and HIV subjects were excluded showing the
319 impact of these infections in anti-HBc assay in oral fluid samples. Low sensitivity
320 values of anti-HBc assay was also observed in HIV infected individuals, particularly,
321 among those receiving antiretroviral treatment [8], where they suggest interference by
322 the presence of HIV or ARV treatment. At our knowledge, it was not observed the
323 interference of HCV infection in anti-HBc assays in oral fluid samples previously.

324 In conclusion, optimized assay adapted for anti-HBc detection in oral fluid
325 samples is not an attractive alternative for HBV diagnosis in all populations, but it could
326 be used in high prevalence settings, like viral hepatitis ambulatories.

327

328 **Abbreviations**

329 Anti-HBc IgG: Antibodies directed against the core antigen IgG; Anti-HBc IgM:
330 Antibodies directed against the core antigen IgM; Anti-HBc total: Antibodies directed
331 against the core antigen; Anti-HBs: Antibodies directed against hepatitis B surface

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

332 antigen; BSA: Bovine serum albumin; CI: Confidence interval; CO: Cut-off value; EIA:
333 Enzyme immunoassay; FN: False negative result (negative in DBS and positive in sera);
334 FP: False positive result (positive in DBS and negative in sera); HAV: Hepatitis A
335 virus; HBV: Hepatitis B virus; HBsAg: Surface antigen of the hepatitis B virus; HCV:
336 Hepatitis C virus; HIV: human immunodeficiency Virus; k: Kappa index; LRNHV:
337 National Reference Laboratory for Viral Hepatitis; NPV: Negative predictive value; n:
338 number of samples; OD: Optical density; PBS: phosphate buffer saline; PPV: Positive
339 predictive value; SD: standard deviation; TN: True negative result (negative in both
340 DBS and sera); TP: True positive result (positive in both DBS and sera).

341

342 **Ethics approval and consent to participate**

343 This study was conducted according ethical principles as those of Helsinki Declaration.
344 This study was reviewed and approved by Local ethics Committee, National Ethics
345 Council under the number of CAAE 34055514.9.0000.5248.

346 **Consent for publication**

347 Not applicable

348•

349 **Availability of data and material**

350 The datasets generated and/or analysed during the current study are not publicly
351 available to maintain the privacy and confidentiality of the subjects but are available
352 from the corresponding author on reasonable request.

353

354

1
2 355 **Competing interests:** The authors disclose no actual or potential conflict of interest,
3
4 356 including any financial, personal or other relationships with people or organisations,
5
6
7 357 within two years of the beginning of this study that could inappropriately influence the
8
9 358 study.

10
11 359

12
13
14 360 **Funding**

15
16
17 361 This research was supported by the Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio
18
19 362 de Janeiro (FAPERJ), Brazilian National Counsel of Technological and Scientific
20
21 363 Development (CNPq), CAPES and the Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ).

22
23
24
25 364

26
27 365 **Authors' contributions**

28
29 366 LMV conceived the study; LMV, HMC and EL designed the study protocol; LLLX,
30
31 367 FIB, KMRO, FAPM, PPF, ErL, ARCMC carried out the clinical assessment, subject
32
33 368 selection and recruitment; HMC, EFS performed the immunoassays; HMC, LMV
34
35 369 performed analysis, interpretation of these data and drafted the manuscript; FIB, VSP,
36
37 370 LMV, PPF, LLLX, EL critically revised the manuscript for intellectual content. All
38
39 371 authors read and approved the final manuscript.

40
41
42
43
44 372

45
46 373 **Acknowledgments**

47
48
49 374 The authors would like to acknowledge technicians of Viral Hepatitis Laboratory,
50
51 375 especially, Juliana Custódio Miguel Cruz, Raphael Rangel das Chagas, Letícia de Paula
52
53 376 Scalioni, Renata Tourinho dos Santos, Jaqueline Correia de Oliveira for technical
54
55 377 assistance in the sample collection.

56
57
58
59 378
60
61
62
63
64
65

379 **REFERENCES**

380

381 1. World Health Organization. Hepatitis B. 2017.

382 <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/> [Accessed on 08.30.17].

383

384 2. LeFevre, ML; U.S. Preventive Services Task Force. Screening for hepatitis B virus

385 infection in nonpregnant adolescents and adults: U.S. Preventive Services Task

386 Force recommendation statement. *Ann Intern Med.* 2014 Jul 1;161(1):58-66. doi:

387 10.7326/M14-1018. PubMed PMID: 24863637.

388

389 3. Villar LM, Cruz HM, Barbosa JR, Bezerra CS, Portilho MM, Scalioni Lde P.

390 Update on hepatitis B and C virus diagnosis. *World J Virol.* 2015 Nov 12;4(4):323-

391 42.

392

393 4. Hutse V, Verhaegen E, De Cock L, et al. Oral fluid as a medium for the detection

394 of Hepatitis B surface antigen. *J Med Virol* 2005; 77:56–63.

395

396 5. Gerlich WH. Medical Virology of Hepatitis B: how it began and where we are

397 now. *Virol J.* 2013;10:239

398

399 6. Scalioni LP, Cruz HM, de Paula VS, Corrêia Oliveira J, Tourinho Dos Santos R,

400 Motta-Castro AR, Murat PG, Villela-Nogueira CA, Lewis-Ximenez LL, Lampe E,

401 Villar LM. Importance of collection methods and stability of oral fluid samples for

402 hepatitis B surface antigen detection. *J Clin Lab Anal.* 2013 May;27(3):186-94.

403

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

404 7. Amado-Leon, LA. Saliva specimen sampling: a noninvasive method for diagnosis
405 and basic investigation of viral hepatitis A, B and C. *Future Virology*. 2013, v.8,
406 n.6, p.576-588,.
407
408 8. Flores GL, Cruz HM, Potsch DV, May SB, Brandão-Mello CE, Pires MMA,
409 Pilotto JH, Lewis-Ximenez LL, Lampe E, Villar LM. Evaluation of HBsAg and
410 anti-HBc assays in saliva and dried blood spot samples according HIV status. *J*
411 *Virol Methods*.2017 Sep;247:32-37.
412
413 9. Roitt, I.M., Lehner,T. *Immunology of Oral Diseases*, 2nd ed. Blackwell Scientific
414 485 Publications, Oxford, England, pp.279–304. 1983
415
416 10. Tourinho RS, Amado LA, Villar LM, Sampaio DV, Moraes AC, Rodrigues do Ó
417 KM,Gaspar AM, de Paula VS. Importance of the cutoff ratio for detecting
418 antibodies against hepatitis A virus in oral fluids by enzyme immunoassay. *J Virol*
419 *Methods*. 2011 May;173(2):169-74.
420
421 11. Brandtzaeg P, Fjellanger I, Gjeruldsen ST. Human secretory immunoglobulins.
422 Salivary secretions from individuals with normal or low levels of serum
423 immunoglobulins. *Scand J Haematol*. 1970; 12(Suppl.):1–83.
424
425 12. Soderling E. Practical aspects of salivary analysis. In: Tenovus JO, editor.
426 *Humansaliva: clinical chemistry and microbiology*, vol. 1. Boca Raton, FL: CRC
427 Press; 1989. p. 1–24.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

429 13. Mortimer PP, Parry JV. Detection of antibody to HIV in saliva: a brief review. Clin
430 Diagn Virol. 1994; 2:231–43. PMID: 15566769
431
432 14. Amado-Leon, LA, de Almeida AJ, de Paula VS, Tourinho RS, Villela DA, Gaspar
433 AM, Lewis-Ximenez LL, Pinto MA. Longitudinal Study of Hepatitis A Infection
434 by Saliva Sampling: The Kinetics of HAV Markers in Saliva Revealed the
435 Application of Saliva Tests for Hepatitis A Study. PLoS One. 2015 Dec
436 21;10(12):e0145454.
437
438 15. Parry JV, Perry KR, Mortimer PP. Sensitive assays for viral antibodies in saliva: an
439 alternative to tests on serum. Lancet, 1987, 2: 72–75.).
440
441 16. Talukder Y, Gopal R, Andrews N, Glenn M, Breuer J, Brown D. Development and
442 evaluation of Varicella zoster virus ELISA for oral fluid suitable for
443 epidemiological studies. J Virol Methods. 2005 Sep;128(1-2):162-7.
444
445 17. Lackner A, Kessler HH, Walch C, Quasthoff S, Raggam RB. Early and reliable
446 detection of herpes simplex virus type 1 and varicella zoster virus DNAs in oral
447 fluid of patients with idiopathic peripheral facial nerve palsy: decision support
448 regarding antiviral treatment? J. Med. Virol. 2010; 82(9):1582–1585. doi:
449 10.1002/jmv.21849 PMID: 20648613).
450
451 18. Belza MJ, Rosales-Statkus ME, Hoyos J, Segura P, Ferreras E, Sánchez R, et al.
452 Supervised bloodbased self-sample collection and rapid test performance: a
453 valuable alternative to the use of saliva by HIV testing programmes with no

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

454 medical or nursing staff. *Sex. Transm. Infect.* 2012; 88(3):218–21. doi:
455 10.1136/sextrans-2011-050131 PMID: 22328646).

456
457 19. Xavier Santos RL, de Deus DM, de Almeida Lopes EP, Duarte Coêlho MR, de
458 Castro JF. Evaluation of viral load in saliva from patients with chronic hepatitis C
459 infection. *J Infect Public Health.* 2015 Sep-Oct;8(5):474-80.

460
461 20. Cruz HM, Marques VA, Villela-Nogueira CA, do Ó KM, Lewis-Ximenez LL,
462 Lampe E, Villar LM. An evaluation of different saliva collection methods for
463 detection of antibodies against hepatitis C virus (anti-HCV). *J Oral Pathol Med.*
464 2012 Nov;41(10):793-800. doi: 10.1111/j.1600-0714.2012.01176.x. Epub 2012 Jun
465 13. PubMed PMID: 22690929.

466
467 21. Parry JV, Perry KR, Panday S, Mortimer PP. Diagnosis of hepatitis A and B by
468 testing saliva. *J Med Virol* 1987;28:255–260.

469
470 22. Parry JV. Simple and reliable salivary test for HIV and hepatitis A and B virus
471 diagnosis and surveillance. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 694:216–233

472
473 23. Richards AL, Perrault JG, Caringal LT, et al. A non-invasive assessment of
474 hepatitis B virus carrier status using saliva samples. *J Trop Med Public Health*
475 1996;27:80–84.

476

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

477 24. Noppornpanth S, Sathirapongsasuti N, Chongsrisawat V, Poovorawan Y. Detection
478 of HBsAg and HBV DNA in serum and saliva of HBV carriers. *Southeast Asian J*
479 *Trop Med Public Health* 2000;31:419–421.
480
481 25. Zhevachevsky NG, Nomokonova NY, Beklemishev AB, Belov GF. Dynamic study
482 of HBsAg and HBeAg in saliva samples from patients with hepatitis B infection:
483 diagnostic and epidemiological significance. *J Med Virol.* 2000 Aug;61(4):433-8.
484
485 26. Quoilin S, Hutse V, Vandenberghe H, et al. Population-based prevalence study of
486 hepatitis A, B and C virus using oral fluid in Flanders, Belgium. *Eur J Epidemiol*
487 2007;22:195–202.
488
489 27. Cruz HM, da Silva EF, Villela-Nogueira CA, Nabuco LC, do Ó KM, Lewis-
490 Ximenez LL, Yoshida CF, Lampe E, Villar LM. Evaluation of saliva specimens as
491 an alternative sampling method to detect hepatitis B surface antigen. *J Clin Lab*
492 *Anal.* 2011;25(2):134-41. doi: 10.1002/jcla.20447. PubMed PMID: 21438008.
493
494 28. Khadse SV, Bajaj G, Vibhakar P, Nainani P, Ahuja R, Deep G. Evaluation of
495 Specificity and Sensitivity of Oral Fluid for Diagnosis of Hepatitis B. *J Clin Diagn*
496 *Res.* 2016 Jan;10(1):BC12-4.
497
498 29. Nokes DJ, Enquesselassie F, Nigatu W, Vyse AJ, Cohen BJ, Brown DW, Cutts FT.
499 Has oral fluid the potential to replace serum for the evaluation of population
500 immunity levels? A study of measles, rubella and hepatitis B in rural Ethiopia. *Bull*

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

501 World Health Organ. 2001;79(7):588-95. PubMed PMID: 11477961; PubMed
502 Central PMCID: PMC2566463.

503

504 30. Fisker N1, Georgsen J, Stolborg T, Khalil MR, Christensen PB. Low hepatitis B
505 prevalence among pre-school children in Denmark: saliva anti-HBc screening in
506 day care centres. J Med Virol. 2002 Dec;68(4):500-4.

507

508 31. Amado LA, Villar LM, de Paula VS, de Almeida AJ, Gaspar AM. Detection of
509 hepatitis A, B, and C virus-specific antibodies using oral fluid for epidemiological
510 studies. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2006 Mar;101(2):149-55. PubMed PMID:
511 16830707.

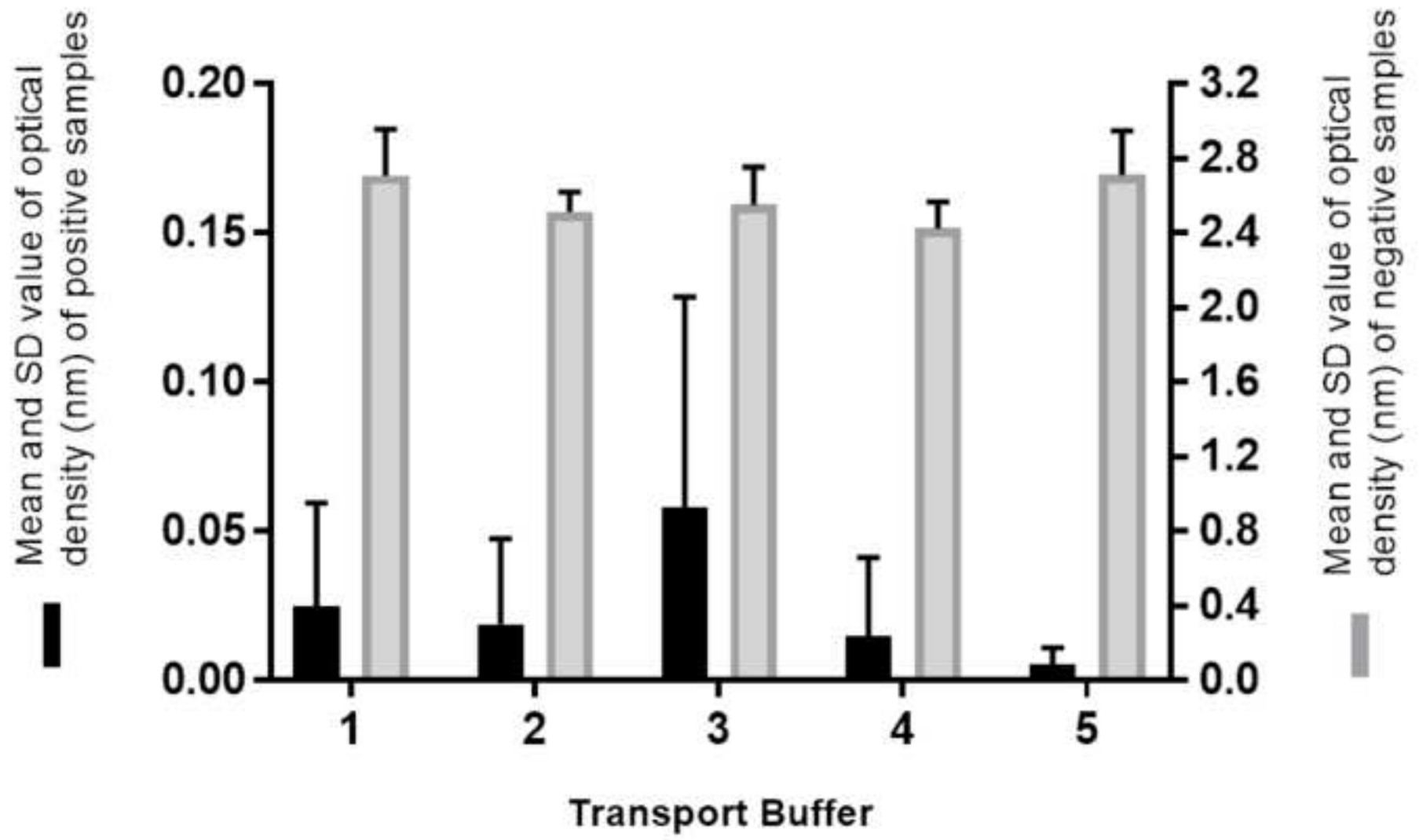
512

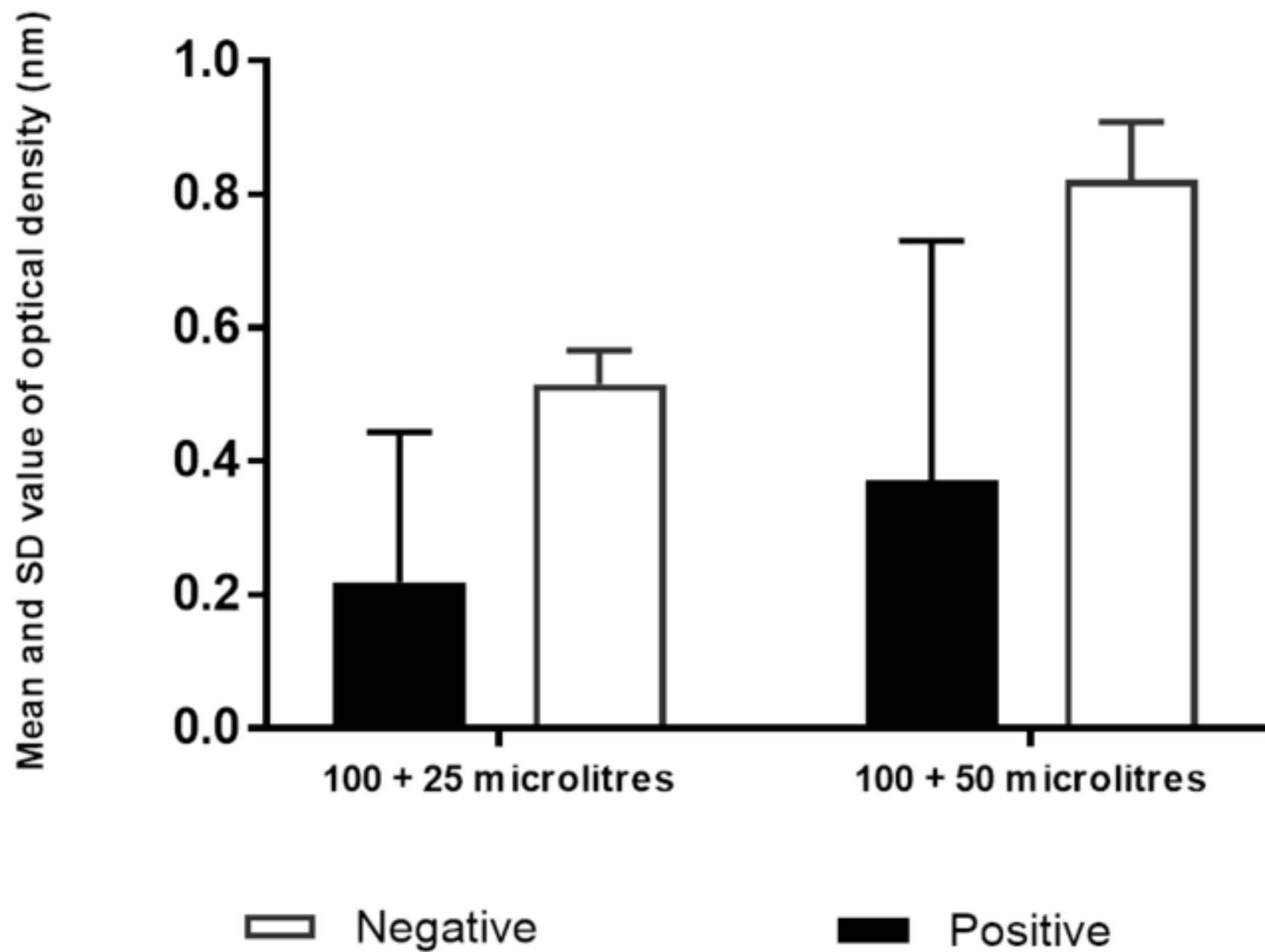
513 32. Altman DG. Practical Statistics for Medical Research. London: Chapman and Hall,
514 1991.

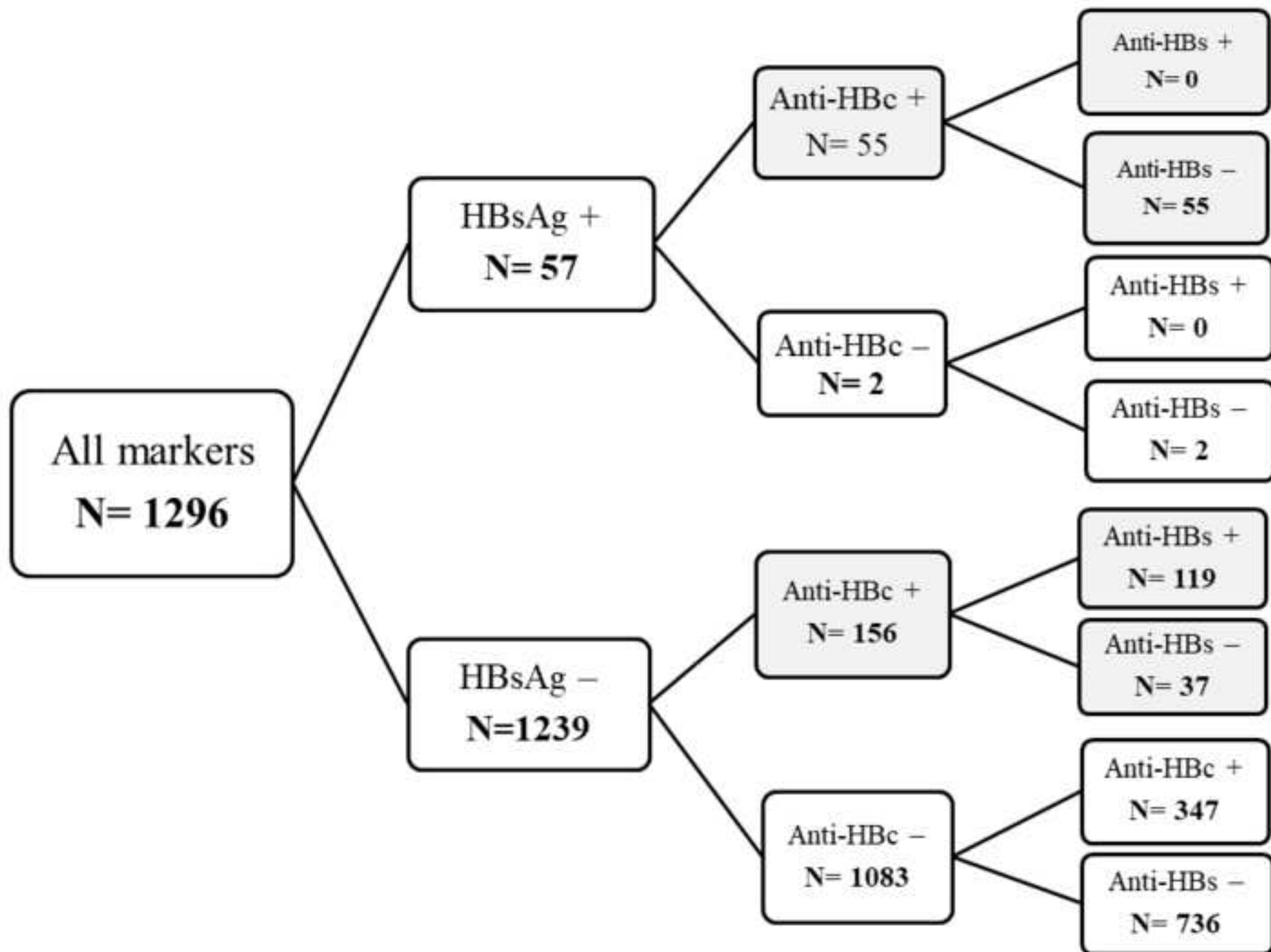
515

516 33. Judd A, Parry J, Hickman M, et al. Evaluation of a modified commercial assay in
517 detecting antibody to hepatitis C virus in oral fluids and dried blood spots. J Med
518 Virol 2003; 71: 49–55.

519









Click here to access/download
Supplementary Material
letter.doc



5.2. Artigo 2: Dried Blood Spot samples as alternative specimen to evaluate hepatitis B virus prevalence in different endemicity groups

Os resultados apresentados neste manuscrito são referentes ao seguinte objetivo: **Determinar o desempenho da detecção dos marcadores da hepatite B (HBsAg, anti-HBc, anti-HBs) em amostras de sangue seco em papel de filtro, provenientes de indivíduos das diferentes regiões geográficas brasileiras utilizando um EIE adaptado.**

Situação do Manuscrito: Submetido para ser considerado para publicação como artigo completo na revista "Journal of Clinical Microbiology" em 27/07/2018

Qualis A2 na área Medicina II

Fator de impacto – 3.993

Referência: Cruz HM, de Paula VS, Cruz JCM, do Ó KMR, Milagres FA, Bastos FI, Mota JC, Santos-Cruz M, de Andrade TM, Flores PP, Keak E, Mota-Castro ARC, Ivantes CAP, Bezerra CS, Barbosa JR, da Cruz JNM, Lewis-Ximenez, LL, Lampe E, Villar LM. Dried Blood Spot samples as alternative specimen to evaluate Hepatitis B virus prevalence in different endemicity groups.

1 **Dried Blood Spot samples as alternative specimen to evaluate hepatitis B virus**
2 **prevalence in different endemicity groups**

3

4 Helena Medina Cruz^a, Vanessa Salete de Paula^b, Juliana Custódio Miguel Cruz^a, Kycia
5 Maria Rodrigues do Ó^c, Flavio Augusto Pádua Milagres^d, Francisco Inácio Bastos^e,
6 Jurema Corrêa da Mota^f, Marcelo Santos Cruz^g, Tarcisio Matos de Andrade^h, Priscila
7 Pollo-Floresⁱ, Erotildes Leal^j, Ana Rita Coimbra Motta-Castro^k, Claudia Alexandra
8 Pontes Ivantes^l, Cristianne Sousa Bezerra^{a,m}, Jakeline Ribeiro Barbosa^{a,m}, José Napoleao
9 Monte da Cruzⁿ, Lia Laura Lewis-Ximenez^a, Elisabeth Lampe^a and Livia Melo Villar^{a#}.

10

11 ^aLaboratory of Viral Hepatitis, Oswaldo Cruz Institute, FIOCRUZ, Rio de Janeiro,
12 Brazil.

13 ^bLaboratory of Technological Development of Virology, Oswaldo Cruz Institute,
14 FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil.

15 ^cSão Lucas Hospital, Petropolis, Rio de Janeiro, Brazil.

16 ^dMedicine Faculty, Federal University of Tocantins, Palmas, Brazil.

17 ^eInstitute of Communication and Scientific Information & Technology for Health,
18 Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil.

19 ^f Institute of Psychiatry, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

20 ^gMedicine Faculty, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil

21 ^hAntonio Pedro University Hospital, Federal Fluminense University, Rio de Janeiro,
22 Brazil.

23 ⁱFederal University of Rio de Janeiro, Faculty of Medicine, Rio de Janeiro, Brazil.

24 ^jFederal University of Mato Grosso do Sul and FIOCRUZ-MS, Campo Grande, MS,
25 Brazil.

26 ^kOrientation and Counselling Centre, Curitiba, Paraná, Brazil

27 ^l Postgraduate Program in Pathology, Federal University of Ceará, Fortaleza, Ceará,
28 Brazil

29 ^m Central Laboratory of Public Health of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil.

30

31 Running Head: DBS for epidemiological studies of hepatitis B

32

33 # Address correspondence to: Livia M Villar, lvillar@ioc.fiocruz.br

34

35

36

37

38

39

40

41

42

43

44

45

46

47

48

49

50

51

52 **ABSTRACT**

53 Dried blood spots (DBS) testing might increase the access for Hepatitis B virus (HBV)
54 diagnosis, but little is known about the performance of these assays in different
55 background prevalence profiles. This study aims to evaluate the detection of HBsAg,
56 anti-HBc and anti-HBs in DBS in populations with different background prevalence
57 (infection rates). Paired sera and DBS samples were obtained from 2,309 individuals
58 from 3 groups, defined as follows: G1: high-prevalence group (n= 509), G2: low-
59 prevalence group (n= 1,305) and G3: vulnerable individuals living in settings with
60 varied background prevalence (n= 485). Sera and DBS were tested using commercial
61 enzyme immunoassay (EIA), with some modifications added. Specificity values were
62 above 90% for HBsAg and anti-HBc in all groups and for anti-HBs range to 58.6% to
63 85%. HBsAg testing performed was good in G1 (sensitivity = 84.4%) and in those
64 samples that had anti-HBc (sensitivity = 91.6%) or HBV DNA detected in serum
65 (sensitivity = 92.2%). High sensitivity of anti-HBc testing was observed in G1 (80.8%)
66 and among active cases (HBsAg+/anti-HBc+) (98.4%). Testing of anti-HBs in DBS
67 showed the highest sensitivity in GIII (65.5%), in previous exposed and cured individuals
68 and when serum titers were above 100 IU/mL (86.7%). Anti-HBs testing in DBS
69 demonstrated low performance, but could be a screening method to identify individuals
70 presenting high antibody titers. DBS samples could be used for screening and
71 prevalence studies for HBsAg and anti-HBc, especially in high-prevalence settings and
72 HBV active cases that should be treated.

73

74 **KEYWORDS:** Dried Blood Spot; Diagnosis; Hepatitis B, Prevalence, Enzyme
75 Immunoassay

76 **INTRODUCTION**

77 Hepatitis B virus (HBV) has been estimated to be present in approximately 257
78 million of chronic carriers, worldwide (1, 2). In Brazil, 6.9 cases per 1,000 inhabitants
79 were reported in 2016 and from 1999 to 2016, 212,031 confirmed HBV cases were
80 notified. Of these, most were reported in the Southeast (35.4%), followed by South
81 (31.6%), North (14.2%), Northeast (9.4%), and Midwest region (9.3%) (3).

82 Enzyme immunoassays (EIA) or electrochemiluminescence immunoassay
83 (ECLIA) together with serum samples are conventionally employed for detecting HBV
84 antigens, antibodies and viral genome (4). DBS samples have been used for detecting
85 several infectious agents, like viral hepatitis, and their use would be advantageous over
86 conventional blood collected, especially in population studies on a large scale and in
87 remote areas. DBS could be collected without highly trained professionals and transport
88 of samples from remote areas to reference laboratories occupy little space, are easy to
89 store or mailed and cannot be broken or spilled (5-9).

90 We previous optimized commercial assays to detect anti-HBc, HBsAg and anti-
91 HBs in DBS (5, 10) with reasonable accuracy. However, most samples are from
92 individuals attended at centers for the diagnosis and treatment of viral hepatitis in
93 Southeast region of Brazil Janeiro. Previous studies demonstrated good performance to
94 detect HBV markers (11- 17). Therefore, it is important to evaluate the applicability of
95 DBS to detect HBV markers in populations with different background prevalence and
96 geographic areas to evaluate the suitability of these samples in the concerted effort to
97 increase the access to HBV diagnosis.

98 The present study was designed to evaluate DBS as an alternative for serum
99 samples to detect HBsAg, anti-HBc and anti-HBs markers in different background
100 prevalence populations using an adapted commercial EIA.

101 **MATERIALS AND METHODS**

102 *Study population*

103 Individuals were previously informed about the study and included after signing
104 informed consent form (ICF). Ethical approval for the study was issued by the Oswaldo
105 Cruz Foundation Ethics Committee (CAAE 34055514.9.0000.5248).

106 Paired serum and DBS samples were obtained from 2,309 individuals distributed
107 in 3 different groups according to their prevalence and vulnerability vis-à-vis HBV
108 acquisition, also considering the contexts where they live and interact. The eligibility
109 criteria for all groups were: both genders, which were not using psychoactive drug at the
110 time of interview and signed (or signed via their legal representative) the ICF.

111 Group I (GI) was considered the high-prevalence group and was composed by
112 519 individuals referred to centers for the diagnosis of viral hepatitis located in
113 Northeast (Public Health Central Laboratory, Ceará, Fortaleza, n=145); Southeast
114 (Fiocruz Viral Hepatitis Ambulatory, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, n=288) and South
115 regions (Orientation and Counseling Center, Curitiba, Paraná, n=86), from 2009 to
116 2014. The eligibility criteria for this group were acute, chronic or suspected cases of
117 hepatitis B infections, among people aged +18 years, with or without other infections
118 such as HIV and HCV.

119 Group II (GII) was defined as the low-prevalence group and was composed by
120 1,305 individuals living in three Brazilian geographical regions: Southeast (Rio de
121 Janeiro State or RJ from Petrópolis, Macaé and Nova Iguaçu cities, n=378), North
122 (Tocantins State or TO from Tocantinópolis city, n= 595) and Midwest region (Mato
123 Grosso do Sul State or MS from Pantanal region, n=332), from 2009–2013. The
124 eligibility criteria for this group were to be living in the region of the study and the

125 absence of diagnosed viral hepatitis or suggestive symptoms of such putative infection
126 at the time of study inception.

127 Group III (GIII) was composed of 485 vulnerable individuals (individuals who
128 are exposed for some reason to material contaminated with blood) including 314
129 beauticians recruited in 2010 from Rio de Janeiro State, and 171 users of crack cocaine,
130 between 2011 and 2012, from Rio de Janeiro and Salvador (Rio de Janeiro and Bahia
131 States). The eligibility criteria for this group were to be more than 18 years, to being a
132 beauty professional, such as manicures, pedicures, hairdressers and epilators; or,
133 alternatively, to being individuals who have used non-injectable drugs in the past 12
134 months and were not under the effect of the drug at the time of collection of
135 sociodemographic, behavioral and biological information, as well as biological samples.

136

137 ***Sample collection***

138 Serum samples were obtained from blood collected in BD tubes (San Jose, CA,
139 USA) with anticoagulant. DBS was collected in Whatman filter paper 903 (GE
140 Healthcare, Piscataway, NJ) using blood from BD tubes without anticoagulant and
141 alternatively using finger prick and prepared as previously described (5). DBS were
142 maintained at room temperature (22–25°C) for 4h and cut into disks of 6 mm and eluted
143 in 700 µl of PBS/BSA 0.5% buffer for detecting HBsAg and total anti-HBc and in disks
144 of 12.5 mm and eluted in 300 µl of PBS/BSA 0.5% buffer for detecting anti-HBs.

145

146 ***Laboratory Analysis***

147 All serum samples were submitted to commercial EIAs to detect HBsAg, anti-
148 HBc total and anti-HBs (ETI-MAK-4, ETI-AB-COREK-PLUS and ETI-AB-AUK-3,
149 Diasorin, Italy, respectively) according to manufacturer's instructions. All initially

150 reactive sera samples were tested in duplicate. HBsAg reactive samples with appropriate
151 volume were tested for HBV-DNA by commercial test (Abbott Real time HBV, Abbott,
152 USA). DBS samples were tested for HBsAg, anti-HBc total and anti-HBs using the
153 same EIAs reported for serum.

154 DBS samples were tested as previously described (5), where sample volume and
155 cut-off value of assays were modified as follows: HBsAg (150 μ L of eluate and reactive
156 samples with optical density OD \geq 0.115), anti-HBs (50 μ L of eluate and reactive
157 samples presenting OD $>$ 0.095) and anti-HBc total (100 μ L of eluate and reactive
158 samples with OD \leq 0.261).

159

160 *Statistical analysis*

161 Serum samples were used as a gold standard to assess sensitivity, specificity,
162 positive (PPV) and negative (NPV) predictive values. The Kappa index was used to
163 assess agreement between results obtained for DBS and serum samples. Ninety-five
164 percent confidence intervals (95% CI) were calculated and presented together with point
165 estimates for each result.

166 Categorical variables were compared using the X^2 test (or, alternatively, Fisher's
167 exact test), and non-categorical variables were compared using the Mann–Whitney U
168 test. The variables were selected from questionnaires assessing sociodemographic,
169 behavioral and clinical data, for their relevance (according to the international literature)
170 and statistical significance, using bivariate and multivariable analyses (logistic
171 regression). A p value of <0.05 was defined as significant for exploratory analyses.
172 Intermediate and final models fitness were assessed using the Hosmer-Lemeshow
173 statistics. Putative interactions were assessed introducing interaction terms into the

174 intermediate models and verifying the possible collinearity of variables assessing
175 similar phenomena at different levels (for instance, distal vs. proximal determinants).

176 All data analysis was performed using the GraphPad InStat, 3.01 (GraphPad
177 Software, San Diego, USA), MedCalc, 9.2.1.0 (MedCalc Software, Mari-akerke,
178 Belgium) and SPSS for Windows, 20.0 (SPSS Inc., USA).

179

180 **RESULTS**

181 *Demographic characteristics*

182 In this study, mean \pm standard deviation of age in GI, GI and GIII was
183 50.5 ± 13.5 , 30.2 ± 18.4 and 34.9 ± 14.3 years, respectively. Most individuals were female
184 (52.3%), aged less than 40 years (56.4%), had secondary education (27.6%), and an
185 intermediate (~US\$276.00 to 828.00; taken in consideration Brazilian standards) monthly
186 family income (30.9%) (Table 1).

187 Regarding HBV presumptive risk factors, the most frequent reported in all
188 groups were dental treatment, followed by working history as manicure and pedicure
189 (59.1%) in GI (high-prevalence group), history of surgery (22.9%) in GII (low-
190 prevalence individuals) and GIII (vulnerable individuals recruited from varied contexts)
191 (42.1%). Most individuals reported to have had sexual intercourse with individuals from
192 the opposite sex in the last 6 months and to have had a stable partner. History of
193 previous vaccination for HBV was uneven in all populations under analysis (Table 1).

194 In-group I (high prevalence group), HBsAg and anti-HBc were used as the
195 dependent variable (outcome) to evaluate putative associations with the outcome
196 (presumptive risk behaviors for HBV acquisition). Tables 2 and 3 summarize the
197 bivariate and multivariable analyses taking HBsAg as the dependent variable using
198 serum and DBS. At multivariable analysis, previous vaccination for HBV, hepatitis

199 history and anti-HCV positivity, were independently associated with HBsAg (in serum)
200 and DBS, whereas age was independently associated with the outcome only among
201 DBS samples.

202 Tables 4 and 5 summarize the bivariate and multivariable analyses considering
203 the anti-HBc marker as the dependent variable using serum and DBS. At multivariable
204 analysis, previous vaccination for HBV, history of hepatitis were independently
205 associated with anti-HBc, considering both serum and DBS results, anti-HCV positivity
206 were significantly associated with anti-HBc just for DBS, whereas gender was
207 independently associated with anti-HBc when serum was taken in consideration.

208

209 ***DBS evaluation***

210 Among serum samples tested, HBsAg, anti-HBc and anti-HBs were detected in
211 239, 492 and 872 samples, respectively. On the other hand, they were not detected in
212 2,070, 1,817 and 1,437 samples, respectively. HBV-DNA was performed on 128 out of
213 239 HBsAg reactive samples (53.5%) and 90 had been found to have detectable HBV-
214 DNA (70.3%). A summary of the serological profile of all individuals under analysis
215 can be seen in table 6.

216 Performance of DBS testing have varied according to the HBV marker and
217 group under study. High sensitivity values were obtained in GI for both HBsAg and
218 anti-HBc, whereas in GIII for anti-HBs. Specificity values were above 90% for HBsAg
219 and anti-HBc in all groups and varied from 58.6% to 85.0% for anti-HBs (Table 7).

220 Good agreement was found for HBsAg and anti-HBc markers in GI (77.3% and
221 75.5%, respectively), while moderate agreement was found for anti-HBs in GII
222 (44.29%). When agreement was evaluated for each one of the locations/populations in
223 GII and GIII, regular values of agreement for HBsAg were found in Tocantins State

224 (33%) and among crack cocaine users (44.8%); good agreement for anti-HBc was
225 observed in Rio de Janeiro State (82.8%) and among crack cocaine users (77.5%),
226 whereas the highest agreement for anti-HBs was found in Mato Grosso do Sul State
227 (50%), Tocantins State (46.8%) and among beauty professional (49%) (Table 7).

228 High sensitivity values for HBsAg detection in DBS were observed in
229 individuals who were anti-HBc reactive in their sera (187/204, 91.6%), compared to
230 those seronegative for anti-HBc (7/35 20.0%). HBsAg sensitivity in DBS was also
231 evaluated considering only those among whom HBV DNA was detected in serum.
232 Considering this specific segment, sensitivity values increased from 84.4% (184/218) to
233 92.2% (83/90).

234 Higher sensitivity of anti-HBc assay in DBS was observed in active cases (anti-
235 HBc⁺/HBsAg⁺/anti-HBs⁻) (180/183 98.4%), compared to previous exposed and
236 protected individuals (anti-HBc⁺/HBsAg⁻/anti-HBs⁺) (103/225 45.8%). Anti-HBs assay
237 in DBS demonstrated higher sensitivity in previous exposed and protected individuals
238 (174/246 70.7%) compared to vaccinated persons (Anti-HBs⁺/anti-HBc⁻) (349/626
239 55.7%). Anti-HBs was also evaluated according to titers and 573 of the 872 anti-HBs
240 reactive samples had their anti-HBs titers measured. High sensitivity values were
241 observed in those presenting titers higher than 100 IU/mL (306/353; 86.7%) compared
242 to those showing titers lower than 100 IU/mL (87/220; 39.5%).

243 HBV-DNA was not performed for all reactive samples due to the low remaining
244 volumes for biological samples. Among 45 false-negative samples, HBV-DNA was
245 performed in 14 respective serum sample and seven had detectable HBV-DNA.

246
247
248

249 **DISCUSSION**

250 In this study, we evaluated the suitability of DBS as an alternative of serum
251 sample for detecting HBV markers in populations with different background prevalence
252 and have found different performances according to the group and clinical conditions
253 under analysis.

254 HBsAg assessment performed well in high prevalence settings (Viral Hepatitis
255 Outpatient clinics) and among those individuals who were anti-HBc reactive in serum.
256 Concordances between DBS and sera were 77.3% and sensitivity and specificities were
257 higher than 84%. Similar values were observed among individuals from high
258 background prevalence sites from Brazil (sensitivity and specificity higher than 85%)
259 (5, 10) as well as in Malaysia, Burkina Faso and Denmark (over 96.0% of sensitivity
260 and specificity) (12, 16, 17). In addition, a sensitivity increase was observed when
261 samples presented HBV DNA.

262 HBsAg testing in DBS of vulnerable individuals from different contexts (GIII)
263 also showed high sensitivity and specificity (80.0% and 96.2%, respectively), however
264 low values of concordance (28.4%) were observed, probably due to high number of
265 false positive samples and consequently a low positive predictive value. In the low-
266 prevalence group (GII), low sensitivity and high specificity of HBsAg were observed
267 (37.5% and 92.7%, respectively), probably due to the low prevalence of HBsAg. These
268 low sensitivities were different from those observed in studies carried out among the
269 general population from both Nigeria (78.6%) and Germany (98.6%) (Forbi et al. 2010;
270 Ross et al. 2013) probably due to the differences in the number of samples (about 300 in
271 previous studies and 1,300 in the present one), type of assays used in the different
272 studies, as well as different HBV prevalences. One must observe that despite differences

273 were much less pronounced vis-à-vis the findings from the present study, findings from
274 Nigeria and Germany differ substantially between each other

275 Anti-HBc testing in DBS performed well in high-prevalence groups (sensitivity
276 80.5%). This good performance might be secondary to the high number of individuals
277 HBV active cases (HBsAg⁺/anti-HBc⁺), strongly speaking in favor of their usefulness
278 and applicability, especially among infected individuals. As observed respecting
279 HBsAg, these results do agree with previous results from former studies enrolling
280 outpatients from clinical services (5,10,16,17). Sensitivity among individuals from GIII
281 was 63.9% and among those from the low-prevalence group, such figure corresponded
282 to 42.6%. Ross and colleagues in Germany (15) found higher values of sensitivity for
283 anti-HBc than those observed in the present study (86.3%) (12), which may be related
284 to differences in methodologies, HBV prevalence, as well as the number of samples
285 (and, much probably, the respective statistical power of the different studies).

286 Anti-HBs detection in DBS have shown low sensitivity and specificity in all
287 groups studied. Previous studies demonstrated high sensitivities and specificities of anti-
288 HBs testing in DBS, in outpatient groups, medical students and blood donors (5, 12,
289 15). However, a smaller number of samples was evaluated, compared to the present
290 study. DBS analysis for anti-HBs performed well in individuals with previous infection
291 (anti-HBc/anti-HBs+) (sensitivity of 70.7%) and those presenting titers above 100
292 IU/mL (sensitivity of 86.7%).

293 In low-prevalence setting, the test showed low sensitivity for all HBV markers.
294 Some factors may explain these results, like the less than optimal handling of serum
295 samples, delayed processing process of biological samples, and putative difficulties in
296 the shipping of samples to the reference laboratory, located in Rio de Janeiro State,
297 especially considering far away locations. Indeed, cooler are recommended to optimally

298 preserve HBV markers since a significant drop in HBV levels was observed in DBS
299 stored at temperature higher than 22°C in sealed bags (5).

300 When risk behaviors were evaluated as covariates putatively associated with
301 HBsAg and anti-HBc using serum and DBS, similar results were found in bivariate and
302 multivariable analyses. Previous history of hepatitis and previous HBV vaccination
303 were associated with the presence of HBsAg and anti-HBc in serum and DBS. Blood
304 transfusion has been associated with HBV in previous control studies carried out in
305 Palestine and Brazil (18, 19), to have used illicit drugs and to have been tattooed were
306 found to confer protection against infection (HBsAg) in the present study, what
307 constitutes a paradoxical, counter-intuitive finding. However, since G1 was composed
308 by individuals referred to viral hepatitis ambulatories and included individuals infected
309 with HCV, such data were included in the intermediate models. When such putative
310 confounders were introduced in the models, those variables did not remain in the model,
311 probably due to confounding secondary to vaccination and other protective measures
312 against HBV.

313 The present study has some limitations, such as the absence of additional
314 information on clinical history and status, as well as about putative therapeutic regimens
315 and coinfection to other viruses, such as, HIV. There is no information either on HBV
316 DNA and HBsAg titers in HBsAg reactive serum samples or about the procedures
317 actually implemented in the storage and shipping of samples from distant/remote
318 locations to the reference lab, data collection had a selection bias, because it was
319 performed differently between groups. Although the latter were carried out in real-life
320 conditions, which take place on a daily basis in a country as large and heterogeneous as
321 Brazil, such conditions are obviously distinct from those observed in fully standardized
322 laboratory studies.

323 DBS samples seems to be a valid tool for both screening and prevalence studies
324 for HBsAg and anti-HBc, especially in high-prevalence settings, where a substantial
325 fraction is composed by HBV active cases. Anti-HBs marker seems to be a less than
326 optimal indicator when different profiles of HBV immune individuals should be
327 assessed, but it can be used to identify those individuals presenting high titers of
328 antibodies or seroconvert after the complete vaccination schedule. DBS testing may
329 increase the identification of HBV active cases that should be treated. This may help to
330 carry out prevalence studies in specific groups, such as children, hemodialysis patients,
331 and people who inject illicit substances.

332

333 **Acknowledgments**

334 The authors wish to thank, Elisangela Ferreira da Silva, Letícia de Paula
335 Scalioni, Renata Tourinho dos Santos, Jaqueline Correia de Oliveira for technical
336 assistance in the sample collection.

337

338 **Funding**

339 This study was funded by the Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio
340 de Janeiro (FAPERJ), Brazilian National Counsel of Technological and Scientific
341 Development (CNPq), CAPES and the Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ).

342

343 **Conflict of Interest:**

344 The authors disclose no actual or potential conflicts of interest, including any
345 financial, personal or other relationships with people or organizations within two years
346 of the beginning of this study that could inappropriately influence the study.

347

348

349 **References**

350 1. World Health Organization (2017). Health Topics: Hepatitis.
351 <http://www.who.int/topics/hepatitis/en/>. Accessed 04 October 2017.

352

353 2. United Nations (2015). Transforming our world: the 2030 Agenda for
354 Sustainable Development.
355 <https://sustainabledevelopment.un.org/post2015/transformingourworld>. Accessed 31
356 August 2017

357

358 3. Brazilian Ministry of Health (2017). Epidemiological Bulletin of Viral
359 Hepatitis. [http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2017/boletim-epidemiologico-de-hepatites-](http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2017/boletim-epidemiologico-de-hepatites-virais-2017)
360 [virais-2017](http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2017/boletim-epidemiologico-de-hepatites-virais-2017). Accessed 29 August 2017.

361

362 4. Villar LM, Cruz HM, Barbosa JR, Bezerra CS, Portilho MM, Scalioni LP
363 (2015). Update on hepatitis B and C virus diagnosis. *World J Virol* 4:323-42. doi:
364 10.5501/wjv.v4.i4.323.

365

366 5. Villar LM, de Oliveira JC, Cruz HM, Yoshida CF, Lampe E, Lewis-Ximenez
367 LL (2011). Assessment of dried blood spot samples as a simple method for detection of
368 hepatitis B virus markers. *J Med Virol* 83:1522-9. doi: 10.1002/jmv.22138.

369

370 6. Marques BL, Brandão CU, Silva EF, Marques VA, Villela-Nogueira CA, do Ó
371 KM, de Paula MT, Lewis-Ximenez LL, Lampe E, Villar LM (2012). Dried blood spot
372 samples: optimization of commercial EIAs for hepatitis C antibody detection and

373 stability under different storage conditions. *J Med Virol* 84:1600-7. doi:
374 10.1002/jmv.23379.

375

376 7. Dokubo EK, Evans J, Winkelman V, Cyrus S, Tobler LH, Asher A, Briceno
377 A, Page K (2014). Comparison of Hepatitis C Virus RNA and antibody detection in
378 dried blood spots and plasma specimens. *J Clin Virol* 59:223-7. doi:
379 10.1016/j.jcv.2014.01.014.

380

381 8. Grüner N, Stambouli O, Ross RS (2015). Dried blood spots--preparing and
382 processing for use in immunoassays and in molecular techniques. *J Vis Exp*. doi:
383 10.3791/52619.

384

385 9. Stene-Johansen K, Yaqoob N, Overbo J, Abera H, Desalegn H, Berhe N,
386 Johannessen A (2016). Dry Blood Spots a Reliable Method for Measurement of
387 Hepatitis B Viral Load in Resource-Limited Settings. *PLoS One* 11: e0166201. doi:
388 10.1371/journal.pone.0166201

389

390 10. Flores GL, Cruz HM, Potsch DV, May SB, Brandão-Mello CE, Pires MMA,
391 Pilotto JH, Lewis-Ximenez LL, Lampe E, Villar LM (2017). Evaluation of HBsAg and
392 anti-HBc assays in saliva and dried blood spot samples according HIV status. *J Virol*
393 *Methods* 247:32-37. doi: 10.1016/j.jviromet.2017.05.004.

394

395 11. Forbi JC, Obagu JO, Gyar SD, Pam CR, Pennap GR, Agwale SM (2010).
396 Application of dried blood spot in the sero-diagnosis of hepatitis B infection (HBV) in
397 an HBV hyper-endemic nation. *Ann Afr Med* 9:44-5. doi:10.4103/1596-3519.62625.

- 398 12. Lee CE, Sri Ponnampalavanar S, Syed Omar SF, Mahadeva S, Ong LY,
399 Kamarulzaman A (2011). Evaluation of the dried blood spot (DBS) collection method
400 as a tool for detection of HIV Ag/Ab, HBsAg, anti-HBs and anti-HCV in a Malaysian
401 tertiary referral hospital. *Ann Acad Med Singapore* 40:448-53.
402
- 403 13. Mayer TK, Vargas RL, Knebel AE, Williams SA, Culver SP, Clark DM, King
404 LR (2012). Hepatitis B assays in serum, plasma and whole blood on filter paper. *BMC*
405 *Clin Pathol* 12:8. doi: 10.1186/1472-6890-12-8.
- 406 14. Mohamed S, Raimondo A, Pénaranda G, Camus C, Ouzan D, Ravet S,
407 Bourlière M, Khiri H, Dukan P, Olive D, Halfon P (2013). Dried blood spot sampling
408 for hepatitis B virus serology and molecular testing. *PLoS One* 8:e61077. doi:
409 10.1371/journal.pone.0061077.
410
- 411 15. Ross RS, Stambouli O, Grüner N, Marcus U, Cai W, Zhang W, Zimmermann
412 R, Roggendorf M (2013). Detection of infections with hepatitis B virus, hepatitis C
413 virus, and human immunodeficiency virus by analyses of dried blood spots performance
414 characteristics of the ARCHITECT system and two commercial assays for nucleic acid
415 amplification. *Virology* 10:72. doi: 10.1186/1743-422X-10-72.
416
- 417 16. Kania D, Bekalé AM, Nagot N, Mondain AM, Ottomani L, Meda N, Traoré
418 M, Ouédraogo JB, Ducos J, Van de Perre P, Tuillon E (2013). Combining rapid
419 diagnostic tests and dried blood spot assays for point-of-care testing of human
420 immunodeficiency virus, hepatitis B and hepatitis C infections in Burkina Faso, West
421 Africa. *Clin Microbiol Infect* 19: E533-41. doi: 10.1111/1469-0691.12292.

422 17. Mössner BK, Staugaard B, Jensen J, Lillevang ST, Christensen PB, Holm DK
423 (2016). Dried blood spots, valid screening for viral hepatitis and human
424 immunodeficiency virus in real-life. *World J Gastroenterol* 22:7604-12.
425 doi:10.3748/wjg.v22.i33.7604.

426

427 18. Nazzal Z, Sobuh I (2014). Risk factors of hepatitis B transmission in northern
428 Palestine: a case - control study. *BMC Res Notes* 7: 190. doi: 10.1186/1756-0500-7-
429 190.

430

431 19. Pereira VRZB, Wolf JM, Luz CADS, Stumm GZ, Boeira TDR, Galvan J,
432 Simon D, Lunge VR (2017). Risk factors for hepatitis B transmission in South Brazil.
433 *Mem Inst Oswaldo Cruz* 112:544-550. doi: 10.1590/0074-02760170043.

434

435

436

437

438

439

440

441

442

443

444

445

446

447
448
449
450
451

452 **Table 1** - Socio-demographic and epidemiological characteristics of the contact,
453 supposed route of HBV infection or prevention according to each group in the study

Data	All groups - 2309 n (%)	G1 - 519 n (%)	G2 - 1305 n (%)	G3 - 485 n (%)	p value
Demographic characteristics					
Gender					
Female	1207 (52.3)	240 (46.2)	700 (53.6)	267 (55.0)	0.001
Male	1012 (43.8)	268 (51.6)	546 (41.8)	198 (40.8)	
Age (years)					
≤40	1302 (56.4)	144 (27.7)	830 (63.6)	328 (67.6)	0.000
>40	881 (38.2)	364 (70.1)	381 (29.2)	136 (28.0)	
Education level					
Illiterate	250 (10.8)	120 (23.1)	88 (6.7)	150 (30.9)	0.000
Primary school	352 (15.2)	118 (22.7)	172 (13.2)	62 (12.8)	
Secondary school	635 (27.5)	201 (38.7)	227 (17.4)	207 (42.7)	
College	199 (8.6)	65 (12.5)	89 (6.8)	45 (9.3)	
Monthly family income					
Low (<US\$276.00)	75 (3.2)	22 (4.2)	44 (3.4)	9 (1.8)	0.000
Intermediate (US\$276.00-828.00)	713 (30.9)	290 (55.9)	258 (19.8)	165(34.0)	
High(>US\$828.00)	497 (21.5)	144 (27.7)	218 (16.7)	135 (27.8)	
Previous contact					
Hepatitis or jaundice History	381 (73.4)	46 (3.5)	49 (10.1)	476 (20.6)	-
With Hepatitis or HIV at home	72 (13.9)	ND	72 (14.8)	144 (6.2)	-
Parenteral route					
History of Intravenous medicine	236 (45.5)	ND	253 (52.2)	489 (21.2)	-
History of Surgery	87 (16.8)	299 (22.9)	204 (42.1)	590 (25.6)	-
Reporting blood transfusion	149 (28.7)	39 (3.0)	35 (7.2)	223 (9.6)	-
Have Piercing	18 (3.5)	ND	85 (17.5)	103 (4.5)	-
Have tattoo	69 (13.3)	71 (5.4)	134 (27.6)	274 (11.9)	-
Previous history of Hemodialysis	21 (4.0)	1 (0.08)	2 (0.4)	24 (1.0)	-
Earring	269 (51.8)	253 (19.4)	244 (50.3)	766 (33.2)	-
Acupuncture	60 (11.6)	49 (3.7)	50 (10.3)	159 (6.9)	-
Attendance at Manicure or pedicure	307 (59.1)	203 (15.6)	260 (53.6)	770	-
Brazilian Wax	65 (12.5)	ND	128 (26.4)	128 (5.5)	-
Share blades	143 (27.5)	152 (11.6)	136 (28.0)	128 (5.5)	-
Share toothbrush	54 (10.4)	41 (3.1)	ND	95 (4.1)	-
History of Dental treatment	470 (90.6)	372 (28.5)	288 (59.4)	1130 (48.9)	-
Share needle	28 (5.4)	ND	3 (6.7)	31 (1.3)	-
Sexual route					
Already had sexual intercourse	483 (93.0)	363 (27.8)	285 (58.8)	1131 (49.0)	-
Heterosexual	462 (89.0)	514 (39.4)	304 (62.7)	1280 (55.4)	-
Homosexual	24 (4.6)	3 (0.2)	2 (0.4)	29 (1.2)	-
Bisexual	11 (2.1)	2 (0.1)	3 (0.6)	16 (0.7)	-
Fixed sexual partner	348 (71.7)	273 (20.9)	197 (40.6)	818 (35.4)	-
<5 sexual partners per year	84 (16.2)	171 (13.1)	69 (14.2)	324 (14.0)	-
> 5 sexual partners per year	15 (2.9)	29 (2.2)	10 (2.1)	54 (2.3)	-
Do not use condom at sexual intercourse	239 (46.0)	266 (20.4)	70 (14.4)	575 (24.9)	-
Always or sometimes use condom at sexual intercourse	228 (43.9)	223 (17.1)	191 (39.4)	642 (27.8)	-

Oral sex intercourse	211 (40.6)	58 (4.4)	215 (44.3)	484 (20.9)	-
Anal sex practice	165 (31.8)	27 (2.1)	129 (26.6)	321 (13.9)	-
Have sexually transmitted infection	115 (22.2)	45 (3.4)	44 (9.1)	204 (8.8)	-
Sexual partner with hepatitis or HIV	39 (7.5)	ND	13 (2.7)	52 (2.2)	-
Other information's					
Previous vaccination for HBV	210 (40.5)	121 (9.3)	47 (9.7)	378 (16.4)	
Use of alcohol	136 (26.2)	280 (21.5)	ND	416 (18.0)	-
Use of medication	323 (62.2)	187 (14.3)	ND	510 (22.1)	-
Use of illicit drugs	55 (10.6)	30 (2.3)	179 (37.0)	264 (11.4)	-

454

455

456 **Table 2** - Bivariate analysis of risk factors associated with HBsAg prevalence in serum
 457 and DBS samples in group I (patients from the Viral Hepatitis Outpatient Clinics).

Variables	HBsAg serum			HBsAg DBS		
	Non-reactive (total =301) n (%)	Reactive (total =218) n (%)	P-value	Non-reactive (total =312) n (%)	Reactive (total =207) N (%)	P-value
Demographic characteristics						
Gender						
Female	149 (51.4)	91 (41.7)	0.031	149 (49.5)	91 (44.0)	0.219
Age (years)						
≤40	63 (21.7)	81 (37.2)	0.000	61 (20.3)	83 (40.1)	0.000
>40	227 (78.3)	137 (62.8)		240 (79.7)	124 (59.9)	
Monthly family income						
Low	14 (5.2)	8 (4.3)	0.892	7 (2.5)	15 (8.3)	0.014
Intermediate	170 (63.4)	120 (63.8)		175 (63.6)	115 (63.5)	
High	84 (31.3)	60 (31.9)		93 (33.8)	51 (28.2)	
Hepatitis or jaundice History	206 (72.0)	175 (81.0)	0.030	218 (73.4)	163 (79.5)	0.245
Living with person with Hepatitis or HIV at home	25 (13.9)	47 (31.5)	0.001	30 (15.4)	42 (31.3)	0.002
Parenteral route						
History of Intravenous medicine	164 (80.0)	72 (64.9)	0.004	174 (78.4)	62 (66.0)	0.012
History of Blood transfusion	112 (38.89)	37 (17.21)	0.000	113 (37.8)	36 (17.6)	0.000
Having tattoo	49 (16.96)	20 (9.26)	0.030	46 (15.3)	23 (11.2)	0.291
Having Earring	166 (57.2)	103 (47.69)	0.033	164 (54.5)	105 (51.2)	0.470
Having Acupuncture	43 (14.8)	17 (7.87)	0.030	46 (15.3)	14 (6.8)	0.008
Sexual route						
Number of sexual partners						
Fixed sexual partner	204 (76.7)	158 (81.0)	0.274	207 (75.3)	155 (83.3)	0.041
<5 sexual per year	53 (19.9)	31 (15.9)		58 (21.1)	26 (14.0)	
> 5 sexual per year	9 (3.4)	6 (3.1)		10 (3.6)	5 (2.7)	
Use of condom at sexual intercourse						
Do not use a condom	152 (57.4)	87 (43.1)	0.002	156 (56.7)	83 (43.2)	0.006
Always use condom	66 (24.9)	64 (31.7)		68 (24.7)	62 (32.3)	
Sometime use condom	47 (17.7)	51 (25.2)		51 (18.6)	47 (24.5)	
Other information's						
Previous vaccination for HBV	158 (54.9)	69 (32.1)	0.000	161 (54.0)	66 (32.2)	0.000
Use of illicit drugs	44 (15.2)	11 (5.1)	0.000	46 (15.3)	9 (4.4)	0.0001

458
459
460
461
462

463 **Table 3** –Final adjusted model of multivariate logistic regression for HBsAg in serum
464 and DBS samples in group I (patients from the Viral Hepatitis Outpatient Clinics).

Variables	HBsAg serum			HBsAg DBS				
	OR	95% C.I.		p_value	OR	95% C.I.		p_value
		Lower	Upper			Lower	Upper	
Age (years)								
≤ 40					1.00	-	-	-
> 40					0.53	0.32	0.88	0.015
Hepatitis or jaundice History								
Yes	4.33	2.47	7.59	0.000	3.71	2.11	6.54	0.000
No	1.00	-	-	-	1.00	-	-	-
Previous vaccination for HBV								
Yes	1.00	-	-	-	1.00	-	-	-
No	2.01	1.25	3.21	0.004	2.03	1.27	3.24	0.003
Anti-HCV								
Reactive	0.21	0.08	0.55	0.002	0.37	0.15	0.92	0.033
Non-reactive	1.00	-	-	-	1.00	-	-	-
Interaction Hepatitis or jaundice History and anti-HCV	0.15	0.05	0.48	0.001	0.11	0.03	0.32	-

465
466
467
468

Table 4 - Bivariate analysis of risk factors associated with anti-HBc prevalence in serum and DBS samples in group I (patients from the Viral Hepatitis Outpatient Clinics).

Variables	Anti-HBc serum			Anti-HBc DBS		
	Non-reactive (total = 232) n (%)	Reactive (total = 287) n (%)	P-value	Non-reactive (total = 278) n (%)	Reactive (total = 241) n (%)	P-value
Demographic characteristics						
Gender						
Female	130 (54.2)	110 (45.8)	0.000	144 (60.0)	96 (40.0)	0.002
Male	93 (34.7)	175 (65.3)		124 (46.3)	144 (53.7)	
Age (years)						
≤40	56 (38.9)	88 (61.1)	0.152	64 (44.4)	80 (55.6)	0.018
>40	167 (45.9)	197 (54.1)		204 (56.0)	160 (44.0)	
Previous contact						
Hepatitis or jaundice History	148 (38.8)	233 (61.2)	0.000	182 (47.8)	199 (52.2)	0.001
Living with person with Hepatitis or HIV at home	17 (23.6)	55 (76.4)	0.019	23 (31.9)	49 (68.1)	0.006
Parenteral route						
History of blood transfusion	78 (52.3)	71 (47.7)	0.008	102 (68.5)	47 (31.5)	0.000
Having tattoo	35 (50.7)	34 (49.3)	0.244	45 (65.2)	24 (34.8)	0.028
Having earring	144 (53.5)	125 (46.5)	0.000	159 (59.1)	110 (40.9)	0.003
Sexual route						

Use of condom at sexual intercourse					
Do not use a condom	118 (49.4)	121 (50.6)		139 (58.2)	100 (41.8)
Always use condom	50 (38.5)	80 (61.5)	0.014	63 (48.5)	67 (51.5)
Sometime use condom	33 (33.7)	65 (66.3)		42 (42.9)	56 (57.1)
Other informations					
Previous vaccination for HBV	128 (56.4)	99 (43.6)	0.000	150 (66.1)	77 (33.9)
Use of illicit drugs	26 (47.3)	29 (52.7)	0.610	40 (72.7)	15 (27.3)

469 **Table 5** – Final adjusted model of multivariate logistic regression for Anti-HBc
470 serum and Anti-HBc DBS samples in group I (patients from the Viral Hepatitis
471 Outpatient Clinics).

Variables	Anti-HBc serum				Anti-HBc DBS			
	95% C.I.				95% C.I.			
	OR	Lower	Upper	p_value	OR	Lower	Upper	p_value
Gender								
Female	1,0	-	-	-				
Male	2,20	1,51	3,22	0,000				
Hepatitis or jaundice History								
Yes	2,70	1,73	4,22	0,000	4,87	2,84	8,33	0,000
No	1,00	-	-	-	1,00	-	-	-
Previous vaccination for HBV								
Yes	1,00	-	-	-	1,00	-	-	-
No	2,83	1,93	4,16	0,000	2,42	1,53	3,83	0,000
Anti-HCV								
Reactive					0,06	0,03	0,09	0,000
Non-reactive					1,00	-	-	-

472

473 **Table 6** - Hepatitis B virus markers (HBsAg, Anti-HBc and anti-HBs) in the
474 population studied (n=2,309).

Status serological	Profile	n (%)
Atypical profiles	HBsAg ⁺ /Anti-HBc ⁺ /Anti-HBs ⁺	21 (0.9)
	HBsAg ⁺ /Anti-HBc ⁻ /Anti-HBs ⁺	10 (0.4)
Active infection	HBsAg ⁺ /Anti-HBc ⁺ /Anti-HBs ⁻	183 (7.9)
Early acute infection	HBsAg ⁺ /Anti-HBc ⁻ /Anti-HBs ⁻	25 (1.1)
Previous exposure with immunity	HBsAg ⁻ /Anti-HBc ⁺ /Anti-HBs ⁺	225 (9.7)
Occult infection	HBsAg ⁻ /Anti-HBc ⁺ /Anti-HBs ⁻	63 (2.7)
Vaccinated individuals	HBsAg ⁻ /Anti-HBc ⁻ /Anti-HBs ⁺	616 (26.7)
Susceptible individuals	HBsAg ⁻ /Anti-HBc ⁻ /Anti-HBs ⁻	1166 (50.5)

475

Table 7 – Quality parameters for HBsAg, anti-HBc total and anti-HBs testing in DBS using optimized commercial enzyme immunoassay (EIA) and sera samples as the gold standard according group studied.

<i>Marker</i>	<i>Profile</i>	<i>TP</i>	<i>FN</i>	<i>TN</i>	<i>FP</i>	<i>Sensitivity% (CI%)</i>	<i>Specificity% (CI%)</i>	<i>PPV% (CI%)</i>	<i>NPV% (CI%)</i>	<i>K (CI)</i>
HBsAg	GI: Total (519)	184	34	278	23	84.4 (78.9-88.9)	92.4 (88.7-95.1)	88.9 (83.8-92.8)	89.1 (85.1-92.3)	77.3 (71.7-82.9)
	GI: Northeast (145)	109	11	25	0	90.8 (84.2-95.3)	100.0 (86.3-100.0)	100.0 (96.7-100.0)	69.4 (51.9-83.6)	77.4 (64.5-90.2)
	GI: Southeast (288)	47	10	209	22	82.5 (70.1-91.2)	90.5 (85.9-93.9)	68.1 (55.8-78.8)	95.4 (91.8-97.8)	67.6 (57.0-78.2)
	GI: South (86)	28	13	44	1	68.3 (51.9-81.9)	97.8 (88.2-99.9)	96.5 (82.2-99.9)	77.2 (64.2-87.3)	66.9 (51.1-82.8)
	GII: Total (1305)	6	10	1195	94	37.5 (15.2-64.6)	92.7 (91.1-94.1)	6.0 (2.2-12.6)	99.2 (98.5-99.6)	8.4 (0.0-25.3)
	GII: Rio de Janeiro (378)	0	0	372	6	-	98.4 (96.6-99.4)	0.0 (0.0-45.9)	100.0 (99.0-100.0)	-
	GII: Mato Grosso do Sul (332)	4	2	238	88	66.7 (22.3-95.7)	73.0 (67.8-77.7)	4.3 (1.2-10.8)	99.2 (97.0-99.9)	4.9 (0.0-21.7)
	GII: Tocantins (595)	2	8	585	0	20.0 (2.5-55.6)	100.0 (99.4-100.0)	100.0 (15.8-100.0)	98.6 (97.4-99.4)	33.0 (0.0-79.1)
	GIII: Total (485)	4	1	462	18	80.0 (28.4-99.5)	96.2 (94.1-97.8)	18.2 (5.2-40.3)	99.8 (98.8-99.9)	28.4 (0.0-60.0)
	GIII: Crack users (171)	4	1	158	8	80.0 (28.4-99.5)	95.2 (90.7-97.9)	33.3 (9.9-65.1)	99.4 (96.5-99.9)	44.8 (9.7-79.9)
GIII: Beauty Professionals (314)	0	0	304	10	-	96.8 (94.2-98.5)	0.0 (0.0-30.8)	100.0 (98.8-100.0)	-	
	All groups (2309)	194	45	1935	135	81.2 (75.6-85.9)	93.5 (92.3-94.5)	59.0 (53.4-64.3)	97.7 (97.0-98.3)	64.0 (58.9-69.0)
Anti-HBc	GI: Total (519)	232	55	223	9	80.8 (75.8-85.2)	96.1 (92.8-98.2)	96.3 (93.0-98.3)	80.2 (75.0-84.7)	75.5 (69.9-81.1)
	GI: Northeast (145)	119	14	8	4	89.5 (83.0-94.1)	66.7 (34.9-90.1)	96.7 (91.9-99.1)	36.4 (17.2-59.3)	40.7 (15.1-66.3)
	GI: Southeast (288)	81	34	168	5	70.4 (61.2-78.6)	97.1 (93.4-99.1)	94.2 (86.9-98.1)	83.2 (77.3-88.0)	70.5 (61.9-79.1)
	GI: South (86)	32	7	47	0	82.0 (66.4-92.5)	100.0 (92.4-100.0)	100.0 (89.1-100.0)	87.0 (75.1-94.6)	83.3 (71.5-95.2)
	GII: Total (1305)	72	97	1134	2	42.6 (35.0-50.4)	99.8 (99.4-99.9)	97.3 (90.6-99.7)	92.1 (90.5-93.6)	55.8 (47.4-64.1)
	GII: Rio de Janeiro (378)	10	4	364	0	71.4 (41.9-91.6)	100.0 (99.0-100.0)	100.0 (69.1-100.0)	98.9 (97.2-99.7)	82.8 (66.0-99.6)
	GII: Mato Grosso do Sul (332)	18	36	277	1	33.3 (21.1-47.5)	99.6 (98.0-99.9)	94.7 (74.0-99.9)	88.5 (84.4-91.8)	44.6 (27.8-61.4)
	GII: Tocantins (595)	44	57	493	1	43.6 (33.7-53.8)	99.8 (98.9-99.9)	97.8 (88.2-99.9)	89.6 (86.8-92.1)	55.6 (44.8-66.5)
	GIII: Total (485)	23	13	448	1	63.9 (46.2-79.2)	99.8 (98.8-99.9)	95.8 (78.9-99.9)	97.2 (95.2-98.5)	75.2 (62.4-88.0)
	GIII: Crack users (171)	21	10	140	0	67.7 (48.6-83.3)	100.0 (97.4-100.0)	100.0 (83.9-100.0)	93.3 (88.1-96.8)	77.5 (63.9-91.0)
GIII: Beauty Professionals (314)	2	3	308	1	40.0 (5.3-85.3)	99.7 (98.2-99.9)	66.7 (9.4-99.2)	99.0 (97.2-99.8)	49.4 (0.1-98.7)	
	All groups (2309)	327	165	1805	12	66.5 (62.1-70.6)	99.3 (98.8-99.7)	96.5 (93.9-98.2)	91.6 (90.3-92.8)	74.2 (70.6-77.9)
Anti-HBs	GI: Total (519)	90	57	218	154	61.2 (52.8-69.1)	58.6 (53.4-63.7)	36.9 (30.8-43.3)	79.3 (74.0-83.9)	16.5 (7.8-25.2)
	GI: Northeast (145)	24	4	22	95	85.7 (67.3-96.0)	18.8 (12.2-27.1)	20.2 (13.4-28.5)	84.6 (65.1-95.6)	2.0 (0.0-12.9)
	GI: Southeast (288)	47	46	151	44	50.5 (40.0-61.1)	77.4 (70.9-83.1)	51.6 (40.9-62.3)	76.6 (70.1-82.4)	28.1 (15.8-40.4)
	GI: South (86)	19	7	45	15	73.1 (52.2-88.4)	75.0 (62.1-85.3)	55.9 (37.9-72.8)	86.5 (74.2-94.4)	44.2 (24.1-64.3)
	GII: Total (1305)	342	244	611	108	58.4 (54.2-62.4)	85.0 (82.2-87.5)	76.0 (71.8-79.9)	71.5 (68.3-74.5)	44.3 (39.3-49.3)
	GII: Rio de Janeiro (378)	127	62	117	72	67.2 (60.0-73.8)	61.9 (54.6-68.9)	63.8 (56.7-70.5)	65.4 (57.9-72.3)	29.1 (19.5-38.7)
	GII: Mato Grosso do Sul (332)	112	63	136	21	64.0 (56.4-71.1)	86.6 (80.3-91.5)	84.2 (76.9-89.9)	68.3 (61.4-74.7)	49.9 (40.7-59.2)
	GII: Tocantins (595)	103	119	358	15	46.4 (39.7-53.2)	96.0 (93.4-97.7)	87.3 (79.9-92.7)	75.0 (70.9-78.9)	46.8 (38.9-54.7)
	GIII: Total (485)	91	48	250	96	65.5 (56.9-73.3)	72.2 (67.2-76.9)	48.7 (41.3-56.1)	83.9 (79.2-87.9)	34.2 (25.2-43.2)
	GIII: Crack users (171)	62	2	11	96	96.9 (89.2-99.6)	10.3 (5.2-17.6)	39.2 (31.6-47.3)	84.6 (54.5-98.1)	5.5 (0.0-17.7)
GIII: Beauty Professionals (314)	29	46	239	0	38.7 (27.6-50.6)	100.0 (98.5-100.0)	100.0 (88.0-100.0)	83.9 (79.1-87.9)	49.0 (35.3-62.6)	
	All groups (2309)	523	349	1079	358	60.0 (56.6-63.2)	75.1 (72.8-77.3)	59.4 (56.0-62.6)	75.6 (73.2-77.8)	35.0 (31.0-39.0)

Legends: TP = True positive; FN= False negative; TN = True negative; FP = False positive; PPV = Positive Predictive Value; NPV = Negative Predictive Value; k = kappa; n = number of samples; CI =

confidence interval

5.3. Artigo 3: Comparison of the performance of enzyme immunoassays for hepatitis B and C detection in Dried Blood Spot

Os resultados apresentados neste manuscrito são referentes ao seguinte objetivo: **Comparar o desempenho de SSPF em EIE adaptado e EIE próprio para o material em grupos reagentes e não reagentes para o marcador HBsAg.**

Situação do Manuscrito: publicado online como artigo completo na revista "Journal of Immunoassay and Immunochemistry" em 07/05/2018

Qualis B3 na Area Medicina II da Capes.

Fator de impacto – 0.727

Referência: Cruz HM, Miguel Cruz JC, Da Silva EF, Portilho MM, Marques VA, Lewis-Ximenez LL, Lampe E, Villar LM. Comparison of the performance of enzyme immunoassays for hepatitis B and C detection in dried blood spot. J Immunoassay Immunochem. 2018 May 7:1-6.



Comparison of the performance of enzyme immunoassays for hepatitis B and C detection in dried blood spot

Helena Medina Cruz, Juliana Custódio Miguel Cruz, Elisangela Ferreira Da Silva, Moyra Machado Portilho, Vanessa Alves Marques, Lia Laura Lewis-Ximenez, Elisabeth Lampe & Livia Melo Villar

To cite this article: Helena Medina Cruz, Juliana Custódio Miguel Cruz, Elisangela Ferreira Da Silva, Moyra Machado Portilho, Vanessa Alves Marques, Lia Laura Lewis-Ximenez, Elisabeth Lampe & Livia Melo Villar (2018): Comparison of the performance of enzyme immunoassays for hepatitis B and C detection in dried blood spot, Journal of Immunoassay and Immunochemistry, DOI: [10.1080/15321819.2018.1470095](https://doi.org/10.1080/15321819.2018.1470095)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/15321819.2018.1470095>



Published online: 07 May 2018.



Submit your article to this journal [↗](#)











View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)



Comparison of the performance of enzyme immunoassays for hepatitis B and C detection in dried blood spot

Helena Medina Cruz , Juliana Custódio Miguel Cruz ,
Elisangela Ferreira Da Silva , Moyra Machado Portilho ,
Vanessa Alves Marques , Lia Laura Lewis-Ximenez , Elisabeth Lampe ,
and Livia Melo Villar 

Laboratory of Viral Hepatitis, Oswaldo Cruz Institute, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil

ABSTRACT

Dried blood spots (DBSs) could be an alternative to serum for hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) diagnosis. This study aims to evaluate two enzyme immunoassays (EIAs) for HBsAg and anti-HCV detection using DBS. Serum was tested using commercial EIA. DBS was tested using optimized EIA developed for serum and commercial EIA developed for DBS (Imunoscreen). Concordances between DBS and serum samples for both markers and EIAs were higher than 97%. Both EIAs demonstrated good performance for HBsAg and anti-HCV detection using DBS, and these methods could be used unchangeably increasing the access for HBV and HCV diagnosis.

KEYWORDS

dried blood spots; hepatitis B; hepatitis C; enzyme immunoassays

Introduction

Hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) are public health problems and WHO^[1] estimates that 325 million people living with them worldwide in 2015. Conventionality, viral hepatitis diagnosis is made using serum or plasma samples to detect antigens and/or antibodies.^[2] However, dried blood spots (DBSs) have been used as an alternative to serum for HBV and HCV diagnosis using commercial enzyme immunoassays (EIAs) developed for serum or plasma with modifications in protocol.^[3–8]

A systematic review concluded that anti-HCV and HBsAg testing using DBS compared to serum was associated with excellent diagnostic accuracy.^[9] Commercial EIA Imunoscreen from MBIolog Diagnósticos (Minas Gerais, Brazil) has the purpose of being an entirely developed EIA for DBS testing, reporting 100% of agreement to serum results in a study with pregnant.^[10]

The main advantages of DBS testing are storage at 20–26°C for weeks without degradation of nucleic acids,^[11] storage and transportation without refrigeration, little space for storage, and highly trained personnel are not required, especially in

studies of a large scale of population and in remote areas.^[6,7,12] However, their disadvantage is that the existing commercial assays have not been validated or received regulatory approval.^[9] The present study aimed to evaluate two EIAs using DBS for HBsAg and anti-HCV detection.

Experimental

The specimens were obtained from the Viral Hepatitis Laboratory, IOC, FIOCRUZ Biobank of samples. Participants of the study first signed the informed consent approved by the Ethics Committee of FIOCRUZ (CAAE number 34055514.9.0000.5248). Serum and DBS samples were obtained from 159 HBsAg⁺ individuals, 155 anti-HCV⁺ individuals, and a total of 223 individuals HBsAg⁻ (169 of them) or anti-HCV⁻ (137 of them). A total of 145 HBsAg⁺ serum samples were tested for HBV-DNA and 109 of them had DNA detectable. All serum samples anti-HCV⁺ were tested and have HCV-RNA detectable.

Serum samples were collected by venipuncture and commercial EIAs were used for HBsAg (ETI-MAK-4, Diasorin, Saluggia, Vercelli, Italy) and anti-HCV testing (HCV Ab, Radim, Pomezia, Rome, Italy or ETI-AB-HCVK-4, Diasorin) according to the instructions. All reactive samples were retested in duplicate.

DBS samples were prepared in Whatman filter paper 903 (GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA) and tested for HBsAg and anti-HCV using commercial EIAs with modifications of the protocol as previously described.^[6,7] To HBsAg, DBS sample volume was 150 μ L and reactive sample should present optical density (OD) \geq 0.115. To anti-HCV, DBS sample volume was 105 μ L and cutoff (CO) of supplier was followed. DBS was also tested for HBsAg and anti-HCV using Imunoscreen HBsAg SS and Imunoscreen HCV SS EIAs (MBiolog Diagnósticos, Minas Gerais, Brazil) (designed to be used with DBS) according to manufacturer instructions.

Serum samples were defined as gold standard to assess sensitivity, specificity, positive, and negative predictive values. Kappa index established an agreement between DBS and serum sample results. Two-tailed *P*-values $<$ 0.05 were considered statistically significant. The analysis was performed using GraphPad InStat, 3.01 Software (San Diego, EUA) and MedCalc 9.2.1.0 Software (Mariakerke, Bélgica).

Results

The concordances between DBS and serum samples from both markers were higher than 97% using Imunoscreen EIA and 100% using optimized EIA. Imunoscreen EIA showed one false negative and three false positive results for HBsAg and anti-HCV markers in DBS, respectively (Table 1).

Table 1. Parameters obtained in DBS samples to detect HBsAg and anti-HCV markers using Imunoscreen EIA and optimized EIA with serum samples as the gold standard.

Profile	TP	FN	TN	FP	Sensitivity% (CI%)	Specificity% (CI%)	PPV% (CI%)	NPV% (CI%)	K% (CI%)
HBsAg marker									
Imunoscreen EIA	158	1	169	0	99.4 (96.6–99.98)	100.0 (97.8–100.0)	100.00	99.4 (95.99–99.92)	99.4 (98.2–100.0)
Optimized EIA	159	0	169	0	100.0 (97.7–100.0)	100.0 (97.8–100.0)	100.0	100.0	100.0
Anti-HCV marker									
Imunoscreen EIA	155	0	134	3	100.0 (97.6–100.0)	97.8 (93.7–99.5)	98.1 (94.4–99.4)	100.0	97.9 (96.0–99.9)
Optimized EIA	155	0	137	0	100.0 (97.6–100.0)	100.0 (97.6–100.0)	100.0	100.0	100.0

TP: true positive; FN: false negative; TN: true negative; FP: false positive; PPV: positive predictive value; NPV: negative predictive value; k: kappa; CI: confidence interval; DBS: dried blood spot; HCV: hepatitis C virus; EIA: enzyme immunoassay.

False negative HBsAg DBS sample had OD/CO values close to 1.00, while its corresponding serum had OD/CO value of 74.38. HBV-DNA was not evaluated in this sample due to lack of volume. False anti-HCV-positive DBS samples present OD/CO values close to 1.000, while their corresponding sera OD/CO values were below 0.400. All reactive samples in DBS showed higher values of OD in their corresponding serum, being the average OD above 3.000 for HBsAg and 2.992 ± 0.08 to anti-HCV. For both markers, average OD was higher in optimized EIA than in Imunoscreen EIA (2.771 ± 0.65 vs. 2.344 ± 1.01 to HBsAg and 2.826 ± 0.44 vs. 0.732 ± 0.40 to anti-HCV).

Discussion

In the present study, DBS samples were evaluated as an alternative to serum specimens for HBsAg and anti-HCV detection. A commercial EIA used in the study was developed to serum or plasma samples and modified for DBS testing, while the other EIA used was developed to DBS samples. Both EIAs showed concordance above 97% with serum results for detecting anti-HCV and HBsAg markers as the same as reported previously.^[6,7]

Both EIAs presented differences for DBS testing. Commercial EIA should be modified for DBS testing and these samples should be processed before testing while Imunoscreen EIA has a protocol that can be used cutting the DBS directly on the test plate, but during washing procedures, the disks must be removed from sample wells. Specific EIAs developed for DBS sample could increase the efficiency. However, the optimization of commercial EIA for DBS testing could be useful in

situations where it is necessary to test serum and DBS simultaneously or specific tests developed for DBS are not available.

Previous studies modified commercial EIA for detecting HBsAg and anti-HCV in DBS and found sensitivities above 78% and 95% for HBsAg and anti-HCV, respectively, and specificities above 92% and 87% for HBsAg and anti-HCV, respectively.^[5–8,13–15] In the present study, sensitivity and specificity were higher than previous optimized EIAs studies (100.0%) probably due to differences in the protocol of analysis and sample characteristics. High values of OD in HBsAg and anti-HCV serum positive samples could explain the elevated sensitivity values of DBS testing found in present study.

In the present study, one DBS assay developed by Mibiolog Diagnosticos demonstrated sensitivities and specificities above 97.8% for anti-HCV and HBsAg, respectively. These results are similar to previous studies among pregnant women from Mid-West and Northeast region of Brazil that found sensitivities and specificities above 98% for HBsAg and anti-HCV.^[10,16]

DBS samples need to be collected, stored, and transported correctly to avoid false negative and positive results. Previous studies using the same optimized EIAs of the present study demonstrated that HBsAg and anti-HCV could be detected throughout 63 and 117 days of storage, respectively, under different storage conditions (2–8°C; 20–26°C, and –20°C).^[6,7]

In low resource areas, HBV and HCV diagnosis is quite challenging due to the constraints for sample collection.^[7] Thus, the use of DBS has the potential to substantially simplify and increase the access of hepatitis diagnosis.^[13] In conclusion, high concordance observed for both EIAs using DBS shows that these methods could be used for HBV and HCV diagnosis, especially among individuals presenting high antigen or antibody concentrations.

Acknowledgments

Authors thank to health professionals of Viral Hepatitis Laboratory, especially to Jaqueline Correia de Oliveira for technical assistance.









Disclosure statement

The authors declare that there is no conflict of interest.

Funding

This research was supported by the Foundation of the State Research in Rio de Janeiro (FAPERJ), the Brazilian National Council of Technological and Scientific Development (CNPq), and Brazilian Ministry of Health the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (CAPES).

ORCID

Helena Medina Cruz  <http://orcid.org/0000-0003-2088-7705>
Juliana Custódio Miguel Cruz  <http://orcid.org/0000-0002-1876-4397>
Elisângela Ferreira Da Silva  <http://orcid.org/0000-0002-7983-7799>
Moyra Machado Portilho  <http://orcid.org/0000-0002-4316-4799>
Vanessa Alves Marques  <http://orcid.org/0000-0002-2329-2654>
Lia Laura Lewis-Ximenez  <http://orcid.org/0000-0002-3447-4621>
Elisabeth Lampe  <http://orcid.org/0000-0001-7999-9248>
Livia Melo Villar  <http://orcid.org/0000-0001-7644-8969>

References

1. World Health Organization. Health Topics Hepatitis. <http://www.who.int/topics/hepatitis/en/> (accessed Jan 25, 2018).
2. Villar, L. M.; Cruz, H. M.; Barbosa, J. R.; Bezerra, C. S.; Portilho, M. M.; Scalioni, L. P. Update on Hepatitis B and C Virus Diagnosis. *World J. Virol.* **2015**, *4*(4), 323–342. Review. DOI: [10.5501/wjv.v4.i4.323](https://doi.org/10.5501/wjv.v4.i4.323).
3. Villa, E.; Cartolari, R.; Bellentani, S.; Rivasi, P.; Casolo, G.; Manenti, F. Hepatitis B Virus Markers on Dried Blood Spots. A New Tool for Epidemiological Research. *J. Clin. Pathol.* **1981**, *34*, 809–812. DOI: [10.1136/jcp.34.7.809](https://doi.org/10.1136/jcp.34.7.809).
4. Croom, H. A.; Richards, K. M.; Best, S. J.; Francis, B. H.; Johnson, E. I.; Dax, E. M.; Wilson, K. M. Commercial Enzyme Immunoassay Adapted for the Detection of Antibodies to Hepatitis C Virus in Dried Blood Spots. *J. Clin. Virol.* **2006**, *36*, 68–71. DOI: [10.1016/j.jcv.2005.12.002](https://doi.org/10.1016/j.jcv.2005.12.002).
5. Tuailon, E.; Mondain, A. M.; Meroueh, F.; Ottomani, L.; Picot, M. C.; Nagot, N.; van de Perre, P.; Ducos, J. Dried Blood Spot for Hepatitis C Virus Serology and Molecular Testing. *Hepatology.* **2010**, *51*, 752–758. DOI: [10.1002/hep.23407](https://doi.org/10.1002/hep.23407).
6. Villar, L. M.; de Oliveira, J. C.; Cruz, H. M.; Yoshida, C. F.; Lampe, E.; Lewis-Ximenez, L. L. Assessment of Dried Blood Spot Samples as a Simple Method for Detection of Hepatitis B Virus Markers. *J. Med. Virol.* **2011**, *83*(9), 1522–1529. DOI: [10.1002/jmv.22138](https://doi.org/10.1002/jmv.22138).
7. Marques, B. L. C.; Brandão, C. U.; Silva, E. F.; Marques, V. A.; Villela-Nogueira, C. A.; Do Ó, K. M. R.; de Paula, M. T.; Lewis-Ximenez, L. L.; Lampe, E.; Villar, L. M. Dried Blood Spot Samples: Optimization of Commercial EIAs for Hepatitis C Antibody Detection and Stability under Different Storage Conditions. *J. Med. Virol.* **2012**, *84*, 1600–1607. DOI: [10.1002/jmv.23379](https://doi.org/10.1002/jmv.23379).
8. Mössner, B. K.; Staugaard, B.; Jensen, J.; Lillevang, S. T.; Christensen, P. B.; Holm, D. K. Dried Blood Spots, Valid Screening for Viral Hepatitis and Human Immunodeficiency Virus in Real-Life. *World J. Gastroenterol.* **2016**, *22*(33), 7604–7612. DOI: [10.3748/wjg.v22.i33.7604](https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i33.7604).
9. Lange, B.; Cohn, J.; Roberts, T.; Camp, J.; Chauffour, J.; Gummadi, N.; Ishizaki, A.; Nagarathnam, A.; Tuailon, E.; van de Perre, P.; Pichler, C.; et al. Diagnostic Accuracy of Serological Diagnosis of Hepatitis C and B Using Dried Blood Spot Samples (DBS): Two Systematic Reviews and Meta-Analyses. *BMC Infect. Dis.* **2017**, *17*(Suppl 1), 700. DOI: [10.1186/s12879-017-2777-y](https://doi.org/10.1186/s12879-017-2777-y).
10. Boa-Sorte, N.; Purificação, A.; Amorim, T.; Assunção, L.; Reis, L.; Galvão-Castro, B. Dried Blood Spot Testing for the Antenatal Screening of HTLV, HIV, Syphilis,

- Toxoplasmosis and Hepatitis B and C: Prevalence, Accuracy and Operational Aspects. *Braz. J. Infect. Dis.* **2014**, *18*(6), 618–624. DOI: [10.1016/j.bjid.2014.05.009](https://doi.org/10.1016/j.bjid.2014.05.009).
11. Stene-Johansen, K.; Yaqoob, N.; Overbo, J.; Aberra, H.; Desalegn, H.; Berhe, N.; Johannessen, A. Dry Blood Spots a Reliable Method for Measurement of Hepatitis B Viral Load in Resource-Limited Settings. *PLoS ONE.*, **2016**, *11*(11). DOI: [10.1371/journal.pone.0166201](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166201).
 12. Dokubo, E. K.; Evans, J.; Winkelman, V.; Cyrus, S.; Tobler, L. H.; Asher, A.; Briceno, A.; Page, K. Comparison of Hepatitis C Virus RNA and Antibody Detection in Dried Blood Spots and Plasma Specimens. *J. Clin. Virol.* **2014**, *59*(4), 223–227. DOI: [10.1016/j.jcv.2014.01.014](https://doi.org/10.1016/j.jcv.2014.01.014).
 13. Soulier, A.; Poiteau, L.; Rosa, I.; Hézode, C.; Roudot-Thoraval, F.; Pawlotsky, J. M.; Chevaliez, S. Dried Blood Spots: A Tool to Ensure Broad Access to Hepatitis C Screening, Diagnosis, and Treatment Monitoring. *J. Infect. Dis.* **2016**, *213*(7), 1087–1095. DOI: [10.1093/infdis/jiv423](https://doi.org/10.1093/infdis/jiv423).
 14. McCarron, B.; Fox, R.; Wilson, K.; Cameron, S.; McMenamin, J.; McGregor, G.; Pithie, A.; Golberg, D. Hepatitis C Antibody Detection in Dried Blood Spots. *J. Viral Hepat.* **1999**, *6*, 453–456. DOI: [10.1046/j.1365-2893.1999.00197.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2893.1999.00197.x).
 15. Forbi, J. C.; Obagu, J. O.; Gyar, S. D.; Pam, C. R.; Pennap, G. R.; Agwale, S. M. Application of Dried Blood Spot in the Sero-Diagnosis of Hepatitis B Infection (HBV) in an HBV Hyper-Endemic Nation. *Ann. Afr. Med.* **2010**, *9*(1), 44–45. DOI: [10.4103/1596-3519.62625](https://doi.org/10.4103/1596-3519.62625).
 16. Botelho, C. A. O.; Tomaz, C. A. B.; Cunha, R. V.; Botelho, M. A. O.; Botelho, L. O.; Assis, D. M.; Pinho, D. L. M. Prevalência Dos Agravos Triados No Programa De Proteção À Gestante Do Estado De Mato Grosso Do Sul De 2004 a 2007. *Rev. Patol Trop.*, **2008**, *37*(4), 341–353.

5.4. Artigo 4: A cross-sectional study of viral hepatitis perception among residents from Southeast and North Regions of Brazil

Os resultados apresentados neste manuscrito são referentes ao seguinte objetivo: **Avaliar o conhecimento sobre hepatites virais (A, B, C, D e E) em grupos com condições distintas de vulnerabilidade**

Situação do Manuscrito: Publicado na revista: “International Journal of Environmental Research and Public Health” em 24/01/2018.

Qualis B1 na área Medicina II

Fator de impacto - 2.101

Referência: Cruz HM, de Paula VS, Villar LM. A Cross-Sectional Study of Viral Hepatitis Perception among Residents from Southeast and North Regions of Brazil. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2018, 15, 189.



Article

A Cross-Sectional Study of Viral Hepatitis Perception among Residents from Southeast and North Regions of Brazil

Helena Medina Cruz ¹, Vanessa Salete de Paula ² and Livia Melo Villar ^{1,*}

¹ Laboratory of Viral Hepatitis, Oswaldo Cruz Institute, FIOCRUZ, Rio de Janeiro 210360-040, Brazil; h.medina@ioc.fiocruz.br

² Molecular Virology Laboratory, Helio and Peggy Pereira Pavillion-Ground Floor, FIOCRUZ, Rio de Janeiro 210360-040, Brazil; vdepaula@ioc.fiocruz.br

* Correspondence: lvillar@ioc.fiocruz.br; Tel.: +55-21-2562-1918

Received: 15 December 2017; Accepted: 2 January 2018; Published: 24 January 2018

Abstract: Few data are available regarding viral hepatitis perception among the general global population. The present study aims to estimate the perception of viral hepatitis in a cohort of individuals living in two geographical regions of Brazil: North (Manaus city (MA)) and Southeast (Rio de Janeiro city (RJ)). A cross-sectional, descriptive study was carried out among 287 subjects recruited in MA (134) and RJ (153). All individuals answered a questionnaire assessing socio-demographic characteristics and viral hepatitis awareness. Participants' responses were scored and divided using interquartile values. Associations between socio-demographic characteristics and knowledge were also evaluated. Interquartile analysis scored 0–21 correct answers as “Very Weak”; 22–27 as “Weak”; 28–31 as “Intermediate”; and 32–47 as “Desirable”. Mean \pm standard deviations (SD) of correct responses were weak in both MA (24.1 ± 7.0) and RJ (26.3 ± 7.3). Bivariate analysis showed an association between viral hepatitis awareness and both education level ($p < 0.001$) and family income ($p < 0.01$). Desirable scores were more common in female participants (61%), those aged between 21–30 years (40%), those with a secondary education (51.7%), those who received high income (31.6%), and those from RJ (70.0%). Health education campaigns in these cities are recommended to increase knowledge and reduce the transmission of these viruses.

Keywords: hepatitis; perception; urban population; Latin America

1. Introduction

A group of viruses known as hepatitis A–E (HAV, HBV, HCV, HDV, and HEV) cause viral hepatitis. HAV and HEV are transmitted by ingestion of contaminated food or water while HBV, HCV, and HDV are usually transmitted as a result of parenteral contact with infected bodily fluids, such as during transfusion of contaminated blood or blood products, invasive medical procedures using contaminated equipment, sexual intercourse, and horizontal and vertical transmission [1–3].

Viral hepatitis is the eighth primary cause of mortality worldwide, resulting in 1.44 million deaths in 2010 [2]. In Brazil, the prevalences of HAV, HBV, and HCV are low [4–6]. The incidence of cases per 100,000 inhabitants in 2016 of HAV, HBV, and HCV were 0.7, 14.0, and 10.8, respectively, in Manaus (MA) and 0.3, 3.3, and 13.4, respectively, in Rio de Janeiro (RJ) [4]. The confirmed cases of HAV, HBV, HCV, and HDV represent 25.8%, 14.2%, 3.1% and 76.8% of all cases in the North region of Brazil, respectively, and 16.4%, 35.4%, 62.2% and 9.8% in the Southern areas of Brazil, respectively, in 2016. Regarding HEV infection, Brazil is considered a moderate endemicity region where HEV prevalence varies from 1% in pregnant women to 17.7% in women at risk for HIV [7].

According to the United Nations, by 2030, their agenda intends to finish the epidemics of AIDS, tuberculosis, malaria, and neglected tropical diseases and to also combat hepatitis, waterborne diseases and other communicable diseases. According to global objectives, it is fundamental to promote universal access to information and education in order to prevent infectious diseases like hepatitis [8]. To this end, in order to plan preventive measures for viral hepatitis, it is essential to identify the gaps in viral hepatitis perception in the general population.

Most infected individuals may not present clinical manifestations, or these manifestations may appear years after infection when the disease is already in an advanced stage [1,3]. The most common clinical manifestations of viral hepatitis are fever; weakness; abdominal pain; sickness, nausea; vomiting; loss of appetite; dark urine; jaundice; and pale feces [1]. The progression of HBV and HCV infection could lead to cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC) [9].

Laboratory diagnosis of viral hepatitis includes enzyme immunoassays (EIA) or electrochemiluminescence immunoassays (ECLIA) to detect specific viral hepatitis antigens or antibodies, and molecular assays such as polymerase chain reaction (PCR) to detect and quantify the viral genome [10]. Currently, safe and effective vaccines are available for hepatitis A and B prevention, but there are no vaccines for other forms of viral hepatitis [2].

Some studies have shown that awareness of hepatitis can be influenced by many factors, including education, health literacy, family income, age, the knowledge of the severity of illness, and access to information [11,12]. Viral hepatitis perception also varies according to occupation and individual characteristics. In Iran, hairdressers with secondary school education demonstrated a high level of knowledge about HBV and HCV [10]. An inadequate knowledge score was obtained by health professionals and students in Ethiopia [13] and, in studies performed in China and the USA, knowledge scores were related to study site, education, gender, and prior HCV treatment [12].

Few studies have been done to identify perception regarding the five hepatitis viruses in the general population. A poor perception was observed among the general population in Pakistan [14] and Vietnamese Americans in the USA [15]; however, to our knowledge, there is no study regarding the understanding of viral hepatitis in the general population of Brazil. The present study aims to estimate the perception about viral hepatitis A, B, C, D, and E in a cohort of individuals from general populations living in two cities of North and Southern Brazil, to identify possible gaps and strengths.

2. Methods

2.1. Study Population

A cross-sectional, descriptive study was carried out to determine viral hepatitis perception among Brazilian individuals living in two cities from North and Southeast Brazil (MA and RJ, respectively). Interviews were conducted in RJ in June 2009 and in MA from July to August 2009 during public health campaigns for infectious disease prevention, such as poliovirus vaccination. All individuals were from the metropolitan region of Rio de Janeiro and North and South–Central regions of Manaus city.

RJ city is situated in the Southern region of Brazil and has 6,453,682 residents, while MA city is located in the Northern region of the country and has 2,020,301 residents. RJ and MA are the second and the seventh most populous cities in Brazil, respectively [16].

The group of participants comprised both genders and inclusion criteria required participants to be 18 years of age and provide signed, informed consent. A sample size of 100 individuals for each location was targeted. Assuming a response rate of 75–80%, 75 completed questionnaires would yield a power of 80% with a 5% type 1 error rate to detect a 16% difference when comparing dichotomous variables between two groups of equal size. The final sample was made up of 287 individuals. No incentive was given to these individuals to participate in this study. The local ethical committee approved the study (protocol 0086.0.317.000-08).

2.2. Questionnaire

A specific questionnaire was developed to determine viral hepatitis perception. This instrument was composed of two topics: demographic characteristics and viral hepatitis perception.

Sociodemographic data included gender, age, education, and monthly family income. Monthly family income was determined according to the Brazilian minimum salary (US \$276.00). In this fashion, individuals who receive <US \$276.00 were grouped as “low family income”, individuals who received US \$276.00 to US \$828.00 were grouped as “intermediate family income”, and individuals who receive more than US \$828.00 were grouped as “high family income”.

Participants’ understanding of some viral hepatitis aspects, such as general information, diagnosis, clinical manifestation, transmission, risk factors, complications, and prevention, were assessed. This section of the questionnaire consisted of 3 questions requiring one or more responses and a further 16 questions with the following options: “yes/correct”, “no/incorrect”, or “do not know”. In five questions, individuals were required to inform the type of hepatitis viruses related to their responses (items 4–7, 13) (Figure 1).

Viral hepatitis Perception Questionnaire

Name: _____ Gender: ↓Male ↓Female Age: ____ years
 Education level: ↓ Illiterate ↓ Primary school ↓ Secondary school ↓ College
 Family income: Low Intermediate High
 Occupation _____ City of residence: _____

- 1. Which geographic region of Brazil has the most individuals infected by hepatitis?**
 - a) South
 - b) North
 - c) Northeast
 - d) Midwest
 - e) Do not know
- 2. What are the agents that cause hepatitis?**
 - a) Viruses
 - b) Viruses and bacteria
 - c) Alcohol and drugs
 - d) all above answers
 - e) do not know
- 3. Which of the following are true forms of Hepatitis?**
 - a) Hepatitis A
 - b) Hepatitis B
 - c) Hepatitis C
 - d) Hepatitis D
 - e) Hepatitis E
 - f) Do not know
- 4. Can hepatitis be spread by seafood?**
- 5. Can hepatitis be spread by Blood?**
- 6. Can hepatitis be spread by sexual contact?**
- 7. Can hepatitis be spread by untreated water or vegetables?**
- 8. Which groups below have an elevated risk of viral hepatitis infection?**
 - I) A clinical analysis laboratory worker
 - II) A hospital worker
 - III) A drug user
 - IV) A person who has tattoos or piercings.
- 9. Viral hepatitis can be diagnosed by**
 - I) Blood Test
 - II) Urinalysis
 - III) Biopsy
 - IV) Ultrasonography and X-ray
- 10. Viral hepatitis Symptoms may include:**
 - I) A person can be infected with hepatitis and not have any symptoms
 - II) Symptoms can appear after years post infection
 - III) Fever
 - IV) Jaundice
- 11. Viral hepatitis complications may include:**
 - I) Cirrhosis
 - II) Liver Cancer

Figure 1. Cont.

- III) Loss of body movements
 IV) Bleeding from the mouth
 V) Blood in stool
- 12. Viral hepatitis can be cured**
13. There are vaccines for viral hepatitis
14. You cannot have the same form of hepatitis more than once
15. Do you know the differences between acute and chronic hepatitis
16. HAV and HEV can be prevented by:
 I) Septic tanks and sewerage system
 II) piped water
 III) providing vaccine for HAV
- 17. HBV and HCV can be prevented by:**
 I) Screening of blood donors without hepatitis
 II) Use of condoms
 III) Providing vaccine to HBV and medicines to HCV
- 18. Viral hepatitis can be prevented by:**
 I) MMR vaccine
 II) BCG vaccine
 III) polio vaccine
- 19. How can you collaborate in the control of viral hepatitis?**
 I) Teaching what you learned about the disease to the people who frequent the same places you were infected
 II) Asking your family and colleagues to search for a health service
 III) Informing family/friends/colleagues to take appropriate medicine.
- * All questions, unless otherwise stated could be responded to as Yes, No or Do Not know.
 ** Questions 4-7 & 13 included an additional response category for specific forms of hepatitis
 *** Questions with response categories indicated by letters (a, b, c, d, e) represented multiple-choice questions (see *).
 **** Questions with response categories indicated by roman numerals (I, II, III, IV, V) required a response to each category.

Figure 1. Questionnaire used to evaluate Viral Hepatitis Perception. Legend: HAV: Hepatitis A virus; HBV: Hepatitis B virus, HCV: Hepatitis C virus; HDV: Hepatitis D virus; HEV: Hepatitis E virus; MMR: Measles, mumps, and rubella; BCG: Bacille Calmette-Guerin.

The authors developed this questionnaire following a review of the literature on viral hepatitis aspects [1]. A total of 47 correct answers could be achieved. The questionnaire was standardized by applying it to a set of individuals characteristically representative of but not included in the study population (data not shown and statistical analysis not conducted). Interviewers administered the questionnaire to the participants as a face-to-face interview in a confidential setting. At the end of the interview, the correct answers were shown to each volunteer. Authors asked for participants in the recruitment setting not to reveal the answers of this interview to other potential participants.

Descriptive statistics were generated for the responses and a chi-squared test for independence or trend was used to compare categorical and continuous variables, respectively, among the perception score groups. The Kruskal–Wallis test was used to evaluate the relationship between nominal and ordinal variables and a p -value < 0.05 was considered statistically significant. A viral hepatitis perception score was created based on all participants' responses according to interquartile values. The 1–4 quartiles were considered very weak, weak, intermediate, and desirable, respectively. Associations between socio-demographic characteristics and perception were also evaluated. All analyses were performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS for Windows, release 20.0, SPSS, Chicago, IL, USA).

3. Results

3.1. Demographic Characteristics

A total of 287 individuals were recruited—134 from MA and 153 from RJ. Most participants were female, had a secondary education, were aged between 21–30 years, and had a low monthly family income. Main socio-demographic characteristics are shown in Table 1.

Table 1. Socio-demographic characteristics of participants.

Items	Total (287)
	n (%)
Local	
Rio de Janeiro	153 (53.3)
Manaus	134 (46.7)
Gender	
Female	173 (60.3)
Male	114 (39.7)
Age groups (years)	
18–21	34 (11.8)
21–30	115 (40.1)
31–40	66 (23.0)
41–50	41 (14.3)
>50	29 (10.1)
Not declared	2 (0.7)
Education	
Illiterate	26 (9.1)
Primary school	42 (14.6)
Secondary school	162 (56.4)
College	56 (19.5)
Not declared	1 (0.4)
Family income	
Low	157 (54.7)
Intermediate	57 (19.9)
High	42 (14.6)
Not declared	31 (10.8)

3.2. Viral Hepatitis Perception in Manaus City

In MA city, most respondents (>70%) were aware of the existence of hepatitis A–C. However, more than 50% considered hepatitis D and E to be nonexistent. Furthermore, most individuals were unaware that hepatitis can be cured, that individuals cannot have the same form of hepatitis more than once, that there are vaccines for viral hepatitis, and of the differences between acute and chronic hepatitis (Table 2).

Table 2. Knowledge about general aspects, diagnosis, and symptoms of viral hepatitis among Manaus (MA) and Rio de Janeiro (RJ) participants.

Statement	Number (%)					
	Manaus (n = 134)			Rio de Janeiro (n = 153)		
	Correct	Incorrect	Do Not Know	Correct	Incorrect	Do Not Know
General information						
There is hepatitis A	94 (70.1)	11 (8.2)	29 (21.6)	120 (78.4)	33 (21.6)	0 (0)
There is hepatitis B	94 (70.1)	11 (8.2)	29 (21.6)	132 (86.3)	21 (13.7)	0 (0.0)
There is hepatitis C	94 (70.1)	11 (8.2)	29 (21.6)	114 (74.5)	39 (25.5)	0 (0.0)
There is hepatitis D	56 (41.8)	49 (36.6)	29 (21.6)	41 (26.8)	112 (73.2)	0 (0.0)
There is hepatitis E	48 (35.8)	57 (42.6)	29 (21.6)	50 (32.7)	103 (67.3)	0 (0.0)
Viral hepatitis can be cured	44 (32.8)	34 (25.4)	56 (41.8)	93 (60.8)	28 (18.3)	32 (20.9)
There are vaccines for viral hepatitis	67 (50.0)	18 (13.4)	49 (36.6)	111 (72.5)	6 (3.9)	36 (23.5)
There are vaccines for HAV and HBV	16 (11.9)	4 (3.0)	114 (85.1)	25 (16.4)	12 (7.8)	116 (75.8)
You cannot have the same hepatitis more than once	50 (37.3)	22 (16.4)	62 (46.3)	62 (40.5)	39 (25.5)	52 (34.0)
There are differences between acute and chronic hepatitis	22 (16.4)	112 (83.6)	0 (0.0)	47 (30.7)	104 (68.0)	2 (1.3)
You can help to control hepatitis by teaching what you have learned to other individuals who frequent the same place where you were infected	129 (96.3)	2 (1.5)	3 (2.2)	120 (78.4)	15 (9.8)	18 (11.8)
You can help to control hepatitis by informing family and colleagues to search for a health service	125 (93.3)	5 (3.7)	4 (3.0)	127 (83.0)	8 (5.2)	18 (11.8)
You can help to control hepatitis by informing family and colleagues to buy and take appropriate medicine to inactivate the virus	66 (49.3)	46 (34.3)	22 (16.4)	84 (54.9)	51 (33.3)	18 (11.8)

Table 2. Cont.

Statement	Number (%)					
	Manaus (n = 134)			Rio de Janeiro (n = 153)		
	Correct	Incorrect	Do Not Know	Correct	Incorrect	Do Not Know
Diagnosis						
Hepatitis can be diagnosed by blood test	123 (91.8)	5 (3.7)	6 (4.5)	146 (95.4)	6 (3.9)	1 (0.7)
Hepatitis cannot be diagnosed by Urinalysis	59 (44.0)	59 (44.0)	16 (11.9)	110 (71.9)	41 (26.8)	2 (1.3)
Hepatitis can be diagnosed by Biopsy	24 (17.9)	94 (70.1)	16 (11.9)	100 (65.4)	50 (32.7)	3 (2.0)
Hepatitis cannot be diagnosed by X-ray	20 (14.9)	91 (67.9)	23 (17.2)	140 (91.5)	12 (7.8)	1 (0.7)
Symptoms						
Absence of symptoms	64 (47.8)	54 (40.3)	16 (11.9)	86 (56.2)	21 (13.7)	46 (30.1)
Symptoms can appear years after infection	62 (46.3)	55 (41.0)	17 (12.7)	62 (40.5)	69 (45.1)	22 (14.4)
Fever can be a symptom	102 (76.1)	17 (12.7)	15 (11.2)	101 (66.0)	30 (19.6)	22 (14.4)
Jaundice can be a symptom	122 (91.0)	2 (1.5)	10 (7.5)	117 (76.5)	15 (9.8)	21 (13.7)

Most of the individuals declared that they could collaborate to control hepatitis by “teaching what you learned about the disease to the people who frequent the same places you were infected” (96.3%) and “informing family and colleagues to search for a health service” (93.3%) (Table 2). It is important to recognize that the information about viral hepatitis should be transmitted to other individuals to help in prevention and control.

Most of the participants claimed that a blood test can be used for diagnosis (91.8%) and that jaundice and fever are symptoms of hepatitis infection (91.0% and 76.1%, respectively) (Table 2). Regarding transmission, most participants responded that blood (79.9%), sexual contact (70.1%), and water or vegetables without treatment could transmit hepatitis (62.7%), but a minority of participants recognized seafood (26.1%) as a vehicle of transmission. Also, most participants were unable to identify precisely the virus transmitted by seafood, blood, sexual intercourse, or ingestion of untreated water or vegetables (percentages varied from 76.9 to 91.8%) (Table 3).

Table 3. Knowledge about transmission, risks, prevention, and complications of viral hepatitis among MA and RJ participants.

Questions	Number (%)					
	Manaus (n = 134)			Rio de Janeiro (n = 153)		
	Correct	Incorrect	Do Not Know	Correct	Incorrect	Do Not Know
Hepatitis can be spread by						
Seafood	35 (26.1)	96 (71.6)	3 (2.2)	61 (39.9)	74 (48.4)	18 (11.8)
HAV and HEV can be transmitted by seafood	7 (5.2)	4 (3.0)	123 (91.8)	3 (2.0)	3 (2.0)	147 (96.0)
Blood	107 (79.9)	27 (20.1)	0 (0.0)	135 (88.2)	14 (9.2)	4 (2.6)
HBV, HCV, and HDV can be transmitted by blood	18 (13.4)	13 (9.7)	103 (76.9)	24 (15.7)	7 (4.6)	122 (79.7)
Sexual contact	94 (70.1)	39 (29.1)	1 (0.7)	116 (75.8)	30 (19.6)	7 (4.6)
HBV, HCV, and HDV can be transmitted by sexual contact	19 (14.2)	10 (7.5)	105 (78.3)	23 (15.0)	4 (2.6)	126 (82.4)
Water or vegetables without treatment	84 (62.7)	50 (37.3)	0 (0.0)	128 (83.7)	17 (11.1)	7 (4.6)
HAV and HEV can be transmitted by water or vegetables without treatment	12 (8.9)	6 (4.5)	116 (86.6)	17 (11.1)	10 (6.5)	126 (82.4)
People at risk of acquiring hepatitis						
Drug users	63 (47.0)	71 (53.0)	0 (0.0)	130 (85.0)	18 (11.8)	5 (3.3)
People with tattoos or piercings	67 (50.0)	67 (50.0)	0 (0.0)	120 (78.4)	28 (18.3)	5 (3.3)
Hospital Employees	117 (87.3)	17 (12.7)	0 (0.0)	117 (76.5)	31 (20.3)	5 (3.3)
Clinical laboratory workers	118 (88.1)	16 (11.9)	0 (0.0)	110 (71.9)	38 (24.8)	5 (3.3)
Complications						
Hepatitis can lead to cirrhosis	115 (85.8)	3 (2.2)	16 (11.9)	104 (68.0)	19 (12.4)	30 (19.6)
Hepatitis can lead to liver cancer	107 (79.9)	15 (11.2)	12 (9.0)	89 (58.2)	33 (21.6)	31 (20.3)
Hepatitis cannot lead to loss of body movements	68 (50.7)	23 (17.2)	43 (32.1)	83 (54.2)	38 (24.8)	32 (20.9)
Hepatitis cannot lead to bleeding from mouth	33 (24.6)	66 (49.3)	35 (26.1)	78 (51.0)	45 (29.4)	30 (19.6)
Hepatitis cannot lead to blood in stool	25 (18.7)	65 (48.5)	44 (32.8)	62 (40.5)	61 (39.9)	30 (19.6)
Prevention						
HAV and HEV can be prevented by septic tanks and sewerage systems	116 (86.6)	6 (4.5)	12 (9.0)	100 (65.4)	25 (16.3)	28 (18.3)
HAV and HEV can be prevented by piped water	114 (85.1)	9 (6.7)	11 (8.2)	106 (69.3)	19 (12.4)	28 (18.3)
HAV and HEV can be prevented by providing vaccine for HAV	108 (80.6)	15 (11.2)	11 (8.2)	97 (63.4)	28 (18.3)	28 (18.3)
HBV and HCV can be prevented by selecting blood donors not infected by hepatitis	111 (82.8)	7 (5.2)	16 (11.9)	108 (70.6)	20 (13.1)	25 (16.3)

Table 3. Cont.

Questions	Number (%)					
	Manaus (n = 134)			Rio de Janeiro (n = 153)		
	Correct	Incorrect	Do Not Know	Correct	Incorrect	Do Not Know
HBV and HCV can be prevented by use of condoms	105 (78.4)	10 (7.5)	19 (14.2)	113 (73.9)	16 (10.5)	24 (15.7)
HBV and HCV can be prevented by providing vaccine and drugs	104 (77.6)	9 (6.7)	21 (15.7)	118 (77.1)	10 (6.5)	25 (16.3)
Vaccine to measles, mumps, and rubella (MMR) cannot prevent hepatitis	39 (29.1)	58 (43.3)	37 (27.6)	59 (38.6)	71 (46.4)	23 (15.0)
Vaccine to BCG cannot prevent hepatitis	67 (50.0)	24 (17.9)	43 (32.1)	110 (71.9)	18 (11.8)	25 (16.3)
Vaccine to POLIO cannot prevent hepatitis	79 (59.0)	17 (12.7)	38 (28.4)	115 (75.2)	15 (9.8)	23 (15.0)

Legend: HAV: Hepatitis A virus, HBV: Hepatitis B virus, HCV: Hepatitis C virus, HEV: Hepatitis E virus.

A majority of respondents recognized healthcare workers in hospitals and clinical analysis laboratories as groups at risk of acquiring hepatitis (87.3% and 88.1%, respectively). Additionally, most individuals were able to identify cirrhosis (85.8%) and cancer (79.9%) as complications of hepatitis infection (Table 3).

Regarding hepatitis prevention, more than 78% of individuals affirmed that septic tanks, sewage systems, piped water, screening of blood donors, and the use of condoms are means of transmission prevention (Table 3). Half of the participants cited the existence of viral hepatitis vaccines, but 85% of them did not know the forms of hepatitis against which the vaccines were active (Table 2) and more than 70% claimed that the measles, mumps, and rubella (MMR) vaccine can prevent viral hepatitis (Table 3).

3.3. Viral Hepatitis Perception in Rio de Janeiro City

A majority of individuals from RJ (>74%) knew of the existence of hepatitis A–C. Also, most individuals (60.8%) affirmed that hepatitis could be cured and more than 67% did not believe that hepatitis D and E exist (Table 2).

Most of the participants declared that the population could collaborate to control hepatitis by “teaching what you learned about the disease to the people who frequent the same places you were infected” (78.4%), and “informing family and colleagues to search for a health service” (83.0%) (Table 2).

Most individuals cited blood tests (95.4%) and biopsies (65.5%) as diagnostic tools for viral hepatitis and more than 65% of individuals recognized jaundice (76.5%) and fever (66.0%) as clinical manifestations of infection (Table 2). Most participants also recognized blood (88.2%), untreated water or vegetables (83.7%), and sexual intercourse (75.8%) as vehicles for hepatitis transmission, and less than 40% of individuals identified seafood as a mode of transmission. Additionally, most of the participants did not know precisely the virus transmitted by seafood, blood, sexual intercourse, or untreated water or vegetables (Table 3).

A majority of individuals cited individuals working in clinical analysis laboratories (85.0%) or hospitals (78.4%), those with tattoos or piercings (76.5%), and drug users (71.9%) as those more vulnerable to hepatitis infection. Cirrhosis (68%) and cancer (58.2) were identified as hepatitis complications (Table 3).

Most of the participants cited the use of condoms (73.9%), screening of blood donors (70.6%), piped water (69.3%), and septic tanks and sewage systems (64.4%) as effective measures in the prevention of hepatitis transmission (Table 3). Among the participants, 72.5% were aware of viral hepatitis vaccines, but 75.8% did not know the type of virus prevented by vaccination (Table 2) and 46.4% of individuals believed that the MMR vaccine can prevent viral hepatitis (Table 3).

3.4. Perception about Viral Hepatitis According to Demographic Characteristics

The interquartile analysis produced knowledge scores as follows: “Very Weak” (0–21 correct answers); “Weak” (22–27 answers); “Intermediate” (28–31 answers); and “Desirable” (32–47 answers). The Average score of correct answers from all participants was 25.3 ± 7.2 (24.1 ± 7.0 from MA city and 26.3 ± 7.3 from RJ city), which was considered to be weak according to interquartile analysis.

According to correct answers, 70 (52.2%) individuals in MA and 87 (56.9%) in RJ scored above the respective mean scores. Also, the percentage of individuals in the scores “very weak”, “weak”, “intermediate” and “desirable”, respectively, were 30.6%, 35.1%, 20.9%, and 8.7% in MA and 20.3%, 25.5%, 26.8%, and 27.4% in RJ.

Females and individuals aged between 31–40 years presented a high mean of correct answers, although it was not significant. Perception was associated with education ($p < 0.001$), family income ($p = 0.001$), and city of residence ($p = 0.001$) in bivariate analysis (Table 4).

Table 4. Socio-demographic characteristics according to knowledge scores for viral hepatitis in the population studied.

Item	Mean Score (SD)	Knowledge Levels * n (%)				p-Value
		Very Weak	Weak	Intermediate	Desirable	
Gender						
Male	25.1 (7.7)	31 (43.05)	33 (38.4)	27 (39.1)	23 (38.3)	0.617
Female	25.4 (6.9)	41 (56.95)	53 (61.6)	42(60.9)	37 (61.7)	
Age group (years)						
≤20	23.7 (8.0)	13 (18.1)	7 (8.1)	8 (11.6)	6 (10.0)	0.673
21–30	25.0 (7.5)	24 (33.3)	46 (53.5)	23 (33.3)	24 (40.0)	
31–40	27.2 (6.4)	12 (16.6)	16 (18.6)	17 (24.6)	21 (35.0)	
41–50	25.0 (7.1)	13 (18.1)	8 (9.3)	12 (17.4)	8 (13.3)	
≥51	24.0 (6.0)	10 (13.9)	9 (10.5)	9 (13.1)	1 (1.7)	
Education						
Illiterate	23.3 (7.0)	8 (11.1)	10 (11.8)	8 (11.6)	0 (0.0)	<0.001
Primary School	22.9 (7.2)	13 (18.1)	15 (17.6)	11 (15.9)	3 (5.0)	
Secondary School	24.8 (7.2)	45 (62.5)	50 (58.8)	36 (52.2)	31 (51.7)	
Graduated	29.1 (6.0)	6 (8.3)	10 (11.8)	14 (20.3)	26 (43.3)	
Family Income						
Low	24.5 (7.2)	42 (71.2)	52 (85.3)	40 (62.6)	23 (40.4)	0.001
Intermediate	26.1 (7.1)	13 (22.0)	1 (1.6)	12 (18.7)	16 (28.0)	
High	29.2 (5.9)	4 (6.8)	8 (13.1)	12 (18.7)	18 (31.6)	
City						
Rio de Janeiro	26.3 (7.3)	31 (43.1)	39 (45.3)	41 (59.4)	42 (70.0)	0.001
Manaus	24.1 (7.0)	41 (56.9)	47 (54.7)	28 (40.6)	18 (30.0)	

* Very Weak, 0–21; Weak, 22–27; Intermediate, 28–31; Desirable, 32–47, according to quartiles.

Desirable scores were more common among females (61%), subjects aged between 21–30 years (40%), those presenting secondary school education (51.7%), and residents from RJ (70.0%). “Very weak” and “weak” perception was more common among individuals who had low family income (71.2% and 85.3%, respectively) (Table 4).

4. Discussion

In this study, a poor public perception regarding viral hepatitis was observed in North and Southeast regions of Brazil (average score of 25.3 ± 7.2 correct answers), and knowledge level was significantly associated with family income, level of education, and city of residence.

Most of the individuals answered more than 50% of the questions correctly, but some wrong answers occurred in all sections of the questionnaire (general information, diagnosis, clinical manifestations, transmission, risk factors, complications, and prevention). Saleh et al. [17] found that absence of knowledge among different groups and levels of literacy is not unique to HCV but can also be observed for other forms of hepatitis.

Although the subjects recognized the existence of viral hepatitis, they were unable to identify which hepatitis viruses are transmitted by seafood, blood, sexual contact, or water or vegetables without treatment. Strong et al. (2015) [14] affirmed that misunderstanding of the transmission route may strengthen the stigma against individuals with HBV. The inability to recognize the transmission pathways of different viruses can influence the prevention of these diseases.

Several individuals did not recognize the existence of hepatitis D and E, claimed that blood in the stool can be a complication of viral hepatitis, and did not know that a biopsy could be used for

diagnosis. Also, more than half of subjects from both cities did not recognize the differences between the acute and chronic forms of the disease and did not know that the same form of hepatitis cannot be acquired more than once. The difficulty participants had with some general questions about hepatitis demonstrates the importance of health education programs to increase viral hepatitis awareness.

Low knowledge of HEV could be related to the absence of routine, specific HEV diagnosis in central laboratories [7]. This situation could lead to potential cases being unreported. Additionally, while vertical transmission is less common, the mortality of children born to HEV-infected mothers is high [18]. As such, both under-reporting and a lack of prenatal testing of HEV pose both a threat to those at risk and an under-checked source of transmission.

Some questions of this survey could have had more than one answer, such as “can viral hepatitis be cured?”. In HBV and HDV infections, there is no cure for chronic infections. This imprecision may have influenced the evaluation of the knowledge of this question; however, as mentioned previously, most of the participants did not recognize the differences between the acute and chronic form and this unfamiliarity could also influence this evaluation.

The majority of respondents recognized the vehicles of transmission as the same as those observed by hairdressers regarding HCV transmission [19]. On the other hand, 81% of participants from a rural village of Egypt did not recognize the routes of HCV transmission and 38% of barbers from Pakistan did not know the transmission routes of HBV and HCV [17,20,21].

In the present study, seafood was not recognized as a source of viral hepatitis transmission, although ingestion of seafood can transmit HAV and HEV [22,23]. This situation could increase the transmission of viruses through this route if individuals are not cognizant of cleaning and disinfection of seafood as viable means of reducing their vulnerability to infection.

Most of the individuals recognized that viral hepatitis diagnosis is made using blood samples, but in MA city, many subjects did not identify biopsies as a method for hepatitis diagnosis. Biopsies are an additional method that allow the prediction of the evolution of the disease. In MA city almost half of the participants reported that urine could diagnose viral hepatitis. Viral hepatitis markers are detected in urine and other biological fluids such as saliva, semen, breast milk, pancreatic secretions, bile and vaginal, tears, menstrual, pleural, and nasopharyngeal [9,24], but the efficiency of detection in fluids like urine is not ideal for diagnosis of all types of hepatitis viruses [25–27].

More than 50% of individuals from both cities recognized clinical manifestations of viral hepatitis, but many of them did not know that these symptoms could appear years after the establishment of infection or may not manifest at all. Saleh et al. [17] showed that 45% of the participants did not know about the clinical manifestations of HCV.

The existence of a viral hepatitis vaccine was correctly reported by 50.0% of subjects from MA and 72.5% from RJ. However, 85.1% of respondents from MA and 75.8% from RJ did not know whether or not there were vaccines for HAV and HBV. Unfamiliarity with the existence of HAV and HBV vaccines is an alarming situation since vaccines for HAV and HBV are available in Brazilian Immunization Programs, and would reduce the burden of these infections in our setting. The HAV vaccine was included in the National Immunization Program and has been available in public health clinics for children under two years of age since 2014. HBV vaccination began in 1989 in the Brazilian Amazon region. In 1992, it was offered to all Brazilian children under two years of age and since 1998 it has been recommended in Brazil for all children at birth.

Among the confirmed cases of HDV in Brazil from 1999 to 2016, 78.6% occurred in the North region, and, among these, 50.8% in the Amazonas state [4]. Although the individuals interviewed in MA belong to this state and region, almost 60% of the participants did not know about HDV. These findings, together with the low knowledge about the HBV vaccine—which is a form of HDV prevention—demonstrates a lack of access to information in the North region about this infection and the need for better knowledge regarding measures of HDV prevention.

Viral hepatitis perception was associated with education level and monthly family income. A desirable perception was observed among those who have at least completed secondary school and

very weak perception among individuals with low family income. Amodio et al. [19] also saw low awareness of viral hepatitis in hairdressers with low education in Italy. These results demonstrate the role of formal education in the dissemination of infectious disease perception and the absence of knowledge in poor communities.

The present study has some limitations: (i) absence of information regarding the neighborhood of each participant; (ii) high diversity of occupations reported by each in this sample; (iii) lack of control for confounding factors and multivariate analysis model; (iv) the study was conducted in 2009 and several measures by public health authorities in Brazil have since been conducted. These measures included the publication of clinical guidelines for therapy of Hepatitis B and C, Brazilian seroprevalence studies for Hepatitis A–C, the inclusion of rapid tests for diagnosis, the distribution of HBV vaccines to all individuals, and the inclusion of new direct antiviral agents for HCV treatment. Despite these limitations, few data are available regarding the knowledge of hepatitis and the present study is important in showing the concepts about these viruses in this period. The data observed is pertinent to the improvement of methods for assessing the public knowledge of viral hepatitis.

5. Conclusions

In conclusion, a weak level of perception about viral hepatitis was observed in both cities. Knowledge levels were associated with education and family income. It is necessary to conduct health education campaigns to increase viral hepatitis awareness in these cities so that the transmission of these viruses might be reduced.

Acknowledgments: Authors would like to acknowledge the financial support of CNPq and Faperj, and the volunteers who agreed to participate in this study.

Author Contributions: Vanessa Salete de Paula and Livia Melo Villar conceived of the study and designed the study protocol. Vanessa Salete de Paula was involved in the recruitment of participants and data collection. Helena Medina Cruz was involved in the analysis of samples and drafted the manuscript. Livia Melo Villar and Vanessa Salete de Paula read and critically revised the manuscript for intellectual content. All authors read and approved the final manuscript.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Focaccia, R. *Tratado de Hepatites Virais e Doenças Associadas*, 3rd ed.; Atheneu: São Paulo, Brazil, 2013; p. 1320.
2. Ogholikhan, S.; Schwarz, K.B. Hepatitis vaccines. *Vaccines* **2016**, *4*, 6. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. World Health Organization. Health Topics: Hepatitis. 2017. Available online: <http://www.who.int/topics/hepatitis/en/> (accessed on 4 October 2017).
4. Ministry of Health. Boletim Epidemiológico—Hepatites Virais. 2017. Available online: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2017/boletim-epidemiologico-de-hepatites-virais-2017> (accessed on 29 August 2017).
5. Pereira, L.M.; Martelli, C.M.; Merchán-Haman, E.; Montarroyos, U.R.; Braga, M.C.; de Lima, M.L.; Cardoso, M.R.; Turchi, M.D.; Costa, M.A.; de Alencar, L.C.; et al. Population-based multicentric survey of hepatitis B infection and risk factor differences among three regions in Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2009**, *81*, 240–247. [[PubMed](#)]
6. Pereira, L.M.; Martelli, C.M.; Moreira, R.C.; Merchan-Hamman, E.; Stein, A.T.; Cardoso, M.R.; Figueiredo, G.M.; Montarroyos, U.R.; Braga, C.; Turchi, M.D.; et al. Prevalence and risk factors of Hepatitis C virus infection in Brazil, 2005 through 2009: A cross-sectional study. *BMC Infect. Dis.* **2013**, *13*, 60. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Echevarría, J.M.; González, J.E.; Lewis-Ximenez, L.L.; Dos Santos, D.R.; Munné, M.S.; Pinto, M.A.; Pujol, F.H.; Rodríguez-Lay, L.A. Hepatitis E virus infection in Latin America: A review. *J. Med. Virol.* **2013**, *85*, 1037–1045. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. United Nations. Transforming Our World: The 2030 Agenda for Sustainable Development. 2015. Available online: <https://sustainabledevelopment.un.org/post2015/transformingourworld> (accessed on 31 August 2017).

9. Yang, W.T.; Wu, L.W.; Tseng, T.C.; Chen, C.L.; Yang, H.C.; Su, T.H.; Wang, C.C.; Kuo, S.F.; Liu, C.H.; Chen, P.J.; et al. Hepatitis B Surface Antigen Loss and Hepatocellular Carcinoma Development in Patients with Dual Hepatitis B and C Infection. *Medicine* **2016**, *95*, e2995. [CrossRef] [PubMed]
10. Villar, L.M.; Cruz, H.M.; Barbosa, J.R.; Bezerra, C.S.; Portilho, M.M.; Scalioni, L.P. Update on hepatitis B and C virus diagnosis. *World J. Virol.* **2015**, *4*, 323–342. [CrossRef] [PubMed]
11. Ataei, B.; Shirani, K.; Alavian, S.M.; Ataie, M. Evaluation of knowledge and practice of hairdressers in women's beauty salons in Isfahan about hepatitis B, hepatitis C, and AIDS in 2010 and 2011. *Hepat. Mon.* **2013**, *13*, e6215. [CrossRef] [PubMed]
12. Wu, E.; Chen, X.; Guan, Z.; Cao, C.; Rao, H.; Feng, B. A comparative study of patients' knowledge about hepatitis C in the United States and in urban and rural China. *Hepatol. Int.* **2015**, *9*, 58–66. [CrossRef] [PubMed]
13. Mesfin, Y.M.; Kibret, K.T. Assessment of Knowledge and Practice towards Hepatitis B among Medical and Health Science Students in Haramaya University, Ethiopia. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e79642. [CrossRef] [PubMed]
14. Noman, U.H.; Hassali, M.A.; Shafie, A.A.; Saleem, F.; Farooqui, M.; Aljadhey, A. A cross sectional assessment of knowledge, attitude and practice towards Hepatitis B among healthy population of Quetta, Pakistan. *BMC Public Health* **2012**, *12*, 692. [CrossRef]
15. Strong, C.; Hur, K.; Kim, F.; Pan, J.; Tran, S.; Juon, R.S. Sociodemographic characteristics, knowledge and prevalence of viral hepatitis infection among Vietnamese Americans at community screenings. *J. Immigr. Minor. Health* **2015**, *17*, 298–301. [CrossRef] [PubMed]
16. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Nota Técnica Estimativas da População dos Municípios Brasileiros Com Data de Referência em 1º de Julho de 2014. Available online: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/pdf/analise_estimativas_2014.pdf (accessed on 8 May 2017).
17. Saleh, D.A.; Amr, S.; Jillson, I.A.; Wang, J.H.; Khairy, W.A.; Loffredo, C.A. Knowledge and perceptions of hepatitis C infection and pesticides use in two rural villages in Egypt. *BMC Public Health* **2014**, *14*, 501. [CrossRef] [PubMed]
18. Patra, S.; Kumar, A.; Trivedi, S.S.; Puri, M.; Sarin, S.K. Maternal and fetal outcomes in pregnant women with acute hepatitis E virus infection. *Ann. Intern. Med.* **2007**, *147*, 28–33. [CrossRef] [PubMed]
19. Amodio, E.; Di Benedetto, M.A.; Gennaro, L.; Maida, C.M.; Romano, N. Knowledge, attitudes and risk of HIV, HBV and HCV infections in hairdressers of Palermo city (South Italy). *Eur. J. Public Health* **2010**, *20*, 433–437. [CrossRef] [PubMed]
20. Chaudhry, M.A.; Rizvi, F.; Ashraf, M.Z.; Niazi, M. Knowledge and practices of barbers regarding hepatitis B and hepatitis C in BahraKahu, Islamabad–Pakistan. *Rawal Med. J.* **2010**, *35*, 37–40.
21. Jokhio, A.H.; Bhatti, T.A.; Memon, M.S. Knowledge, attitudes and practices of barbers about hepatitis B and C transmission in Hyderabad, Pakistan. *East. Mediterr. Health J.* **2010**, *16*, 1079–1084. [PubMed]
22. Cui, W.; Sun, Y.; Xu, A.; Gao, R.; Gong, L.; Zhang, L.; Jiang, M. Hepatitis E seroprevalence and related risk factors among seafood processing workers: A cross-sectional survey in Shandong Province, China. *Int. J. Infect. Dis.* **2016**, *49*, 62–66. [CrossRef] [PubMed]
23. Polo, D.; Varela, M.F.; Romalde, J.L. Detection and quantification of hepatitis A virus and norovirus in Spanish authorized shellfish harvesting areas. *Int. J. Food Microbiol.* **2015**, *193*, 43–50. [CrossRef] [PubMed]
24. Komatsu, H.; Inui, A.; Sogo, T.; Tateno, A.; Shimokawa, R.; Fujisawa, T. Tears from children with chronic hepatitis B virus (HBV) infection Are infectious vehicles of HBV transmission: Experimental transmission of HBV by tears, using mice with chimeric human livers. *J. Infect. Dis.* **2012**, *206*, 478–485. [CrossRef] [PubMed]
25. Geng, Y.; Zhao, C.; Huang, W.; Harrison, T.J.; Zhang, H.; Geng, K.; Wang, Y. Detection and assessment of infectivity of hepatitis E virus in urine. *J. Hepatol.* **2016**, *64*, 37–43. [CrossRef] [PubMed]
26. Tourinho, R.S.; Amado, L.A.; Villar, L.M.; Sampaio, D.V.; Moraes, A.C.; Rodrigues do Ó, K.M. Importance of the cutoff ratio for detecting antibodies against hepatitis A virus in oral fluids by enzyme immunoassay. *J. Virol. Methods* **2011**, *173*, 169–174. [CrossRef] [PubMed]
27. Wang, L.; Ye, Z.; Xu, L.; Zhang, B.; Liang, H.; Feng, Z.; Liu, S.; Shi, W. Diagnostic value of urine HBV DNA for hepatitis B virus-associated glomerulonephritis. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Bao* **2014**, *34*, 1705–1706.



5.5. Artigo 5: Cross sectional study to determine viral hepatitis knowledge in different urban populations in Brazil

Os resultados apresentados neste manuscrito são referentes ao seguinte objetivo: **Avaliar o conhecimento sobre hepatites virais (A, B, C, D e E) em grupos com condições distintas de vulnerabilidade**

Situação do Manuscrito: Submetido para ser considerado para publicação como artigo completo na revista "World Journal of Hepatology" em 10/07/2018

Qualis A2 na área Medicina II

Fator de impacto – Está sob avaliação da Thomson Reuters para possível inclusão no Science Citation Index Expanded

Referência: Cruz HM, Barbosa JR, Colares JKB, Neto AHAM, Alencar FL, Mota JC, CostaFAC, Ivantes CAP, Lews-Ximenes LL, Villar LM. Cross sectional study to determine viral hepatitis knowledge in different urban populations in brazil.

1 **Name of Journal:** *World Journal of Hepatology*

2 **Manuscript NO:** 39417

3 **Manuscript Type:** OBSERVATIONAL STUDY

4

5 Cross sectional study to determine viral hepatitis knowledge in different urban
6 populations in Brazil

7

8 Running Title: **Viral hepatitis knowledge in Brazil**

9

10 Helena Medina Cruz¹, Jakeline Ribeiro Barbosa^{1,2}, Jeová Keny Baima Colares^{2,3},
11 Antonio Henrique Almeida de Moraes Neto⁴, Maria de Fátima Leal Alencar⁴,
12 Jurema Corrêa da Mota⁵, Filipe Aníbal Carvalho Costa⁶, Claudia Alexandra
13 Pontes Ivantes⁷, Lia Laura Lews-Ximenes¹, Livia Melo Villar^{1*}

14

15 1 Laboratory of Viral Hepatitis, Oswaldo Cruz Institute, FIOCRUZ, Rio de
16 Janeiro, Brazil.

17 2 Postgraduate Program in Pathology, Federal University of Ceará, Fortaleza,
18 Ceará, Brazil

19 3Postgraduate Program in Medical Sciences, University of Fortaleza, Ceará,
20 Brazil.

21 4 Laboratory of Innovations in Therapies, Teaching and Bioproducts, Oswaldo
22 Cruz Institute, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil.

23 5 Institute of Communication and Scientific Information & Technology for
24 Health, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil.

25

26 6 Laboratory of Epidemiology and Molecular Systematics, Oswaldo Cruz
27 Institute, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil.

28 7 Orientation and Counselling Centre, Curitiba, Paraná, Brazil

29

30

1 **Author contributions:**

2

3 Villar LM conceived the study; Villar LM and Cruz HM designed research and
4 the study protocol; Colares JKB, Neto AHAM, Costa MFAC, Ivantes CAP and
5 Lews-Ximenes carried out the participant's selection and recruitment; Cruz
6 HM, Barbosa JR and Alencar MFL performed the application of questionnaire;
7 Cruz HM and Villar LM analysis and interpretation of these data; Mota JC
8 performed the statistical analysis; Cruz HM and Villar LM drafted the
9 manuscript; Barbosa JR, Neto AHAM, Costa MFAC critically revised the
10 manuscript for intellectual content. All authors read and approved the final
11 manuscript.

12

13

14 **Supported by** National Council for Scientific and Technological Development
15 (CNPq) and Foundation for Research Support of the State of Rio de Janeiro
16 (Faperj).

17

18 **Institutional review board statement:** The study was reviewed and approved
19 by Fiocruz Ethics Committee.

20

21 **Informed consent statement:** All study participants provided informed written
22 consent prior to study enrollment.

23

24 **Conflict-of-interest statement:** There are no conflicts of interest to report.

25

1 **Data sharing statement:** No additional data are available.

2

3 **Open-Access:** This article is an open-access article which was selected by an in-
4 house editor and fully peer-reviewed by external reviewers. It is distributed in
5 accordance with the Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-
6 NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon
7 this work non-commercially, and license their derivative works on different
8 terms, provided the original work is properly cited and the use is non-
9 commercial. See: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

10

11 **Correspondence to:** Livia Melo Villar, Viral Hepatitis Laboratory, Helio and
12 Peggy Pereira Pavillion - Ground Floor - Room B09, FIOCRUZ Av. Brasil, 4365
13 - Manguinhos - Rio de Janeiro, RJ, Brazil. Postal Code: 210360-040. Tel: +55
14 21 2562 1918
15 E-mail: lvillar@ioc.fiocruz.br

16

17

18 **Abstract**

19 **Aim**

20 To evaluate viral hepatitis knowledge **among individuals** from different
21 resource areas and health conditions to identify possible gaps.

22

23 **Methods**

24 A cross-sectional, descriptive study was carried out among 447 individuals
25 from five distinct populations in Brazil: Southeast Viral Hepatitis Ambulatory
26 (n=100), South (n=89) and Northeast (n=114) Health Center, Southeast (n= 77)
27 and Northeast (n= 67) low resource areas. All individuals answered a
28 questionnaire assessing socio-demographic characteristics and viral hepatitis
29 awareness. The perception was scored based on the average number of correct
30 answers of all participants and categorized as “Low” (0-28 correct answers) or

1 “Desirable” (29-46 correct answers). Associations between socio-demographic
2 characteristics and perception were also evaluated.

3 4 Results

5 A low level of knowledge was observed in individuals from Northeast Health
6 Center and Northeast and Southeast low resource areas while desirable
7 knowledge was observed in individuals from Viral Hepatitis Ambulatory and
8 South Health Center. According to socio demographic characteristics, desirable
9 scores were more common among those with secondary education (47.1%),
10 those who declared themselves as white (46.3%), and those who lived in houses
11 with three individuals (25.5%). Multivariate analysis showed an association
12 between viral hepatitis perception and type of population.

13 14 Conclusions

15 The results demonstrated high level of knowledge among **study participants**
16 **from** health clinics from the Southeast region of Brazil and the importance of
17 education programs in increasing the level of knowledge in low resource areas.

18
19 **Keywords:** viral hepatitis; knowledge; perception; urban population

20 21 22 **Core Tip**

23 This study evaluated viral hepatitis knowledge among individuals from five
24 different resource areas and health conditions in Brazil. Participants responded
25 to a questionnaire and the perception was scored as “Low” or “Desirable”.
26 Individuals from Northeast Health Center, Northeast and Southeast low
27 resource areas exhibited low perception while Southeast and South Health
28 Center exhibited a desirable perception. A positive association was observed
29 between perception and education level, race, number of individuals living in
30 the same house and population type. The results showed the importance of

1 prevention campaigns, especially among individuals living in low resource
2 areas.

3

4 INTRODUCTION

5 Hepatitis is the name given to liver inflammation resulting from
6 autoimmune disease, excessive consumption of alcohol or drugs, bacteria and
7 viruses. **Viral hepatitis is a group of viruses (hepatitis A, B, C, D, E, G known as**
8 **HAV, HBV, HCV, HDV, HEV, HGV) that are etiologically and**
9 **epidemiologically distinct**^[1,2,3].

10 Ingestion of contaminated food or water transmits HAV and HEV, in this
11 fashion, washing food **and hands** and treating water are methods of prevention.
12 On the other hand, HBV, HCV and HDV can be transmitted by contact with
13 infected bodily fluids (transfusion of blood or blood products or invasive
14 medical procedures), unsafe sexual practices or from transmission from mother
15 to child. Prevention of HBV, HCV and HDV is made by blood and organ donor
16 selection, using disposable or sterilized materials and the use of condoms in
17 sexual intercourse^[1, 4-6].

18 **There are vaccines to prevent HAV and HBV that are safe and effective**
19 **while one vaccine for HEV that is commercialized only in China, but there are**
20 **no FDA-approved vaccines for HCV and HDV**^[7]. The clinical course of
21 hepatitis viruses can be acute and chronic for HBV, HCV, HDV **and HEV**. The
22 clinical manifestations of hepatitis can be absent or appear when the disease is
23 advanced, with cirrhosis or liver cancer^[1,2]. Viral hepatitis laboratory diagnosis
24 is performed through the detection of specific antigens, antibodies and viral
25 genome mainly by enzyme immunoassays (EIA) and molecular assays such as
26 the polymerase chain reaction (PCR)^[8].

27 HBV and HCV occur chronically in 257 and 71 million people
28 respectively, causing more than 1.2 million deaths annually^[2]. Approximately
29 15 million people are infected with HDV^[2]. Annually, there are an estimated
30 126 million new cases of HAV and 3.3 million new cases of HEV^[2, 9, 10]. In 2016,

1 61,297 deaths were related to viral hepatitis in Brazil. HEV prevalence in Brazil
2 varies from 2% to 29%^[11-15].

3 The evaluation of knowledge is assessed to verify how far community
4 knowledge corresponds to biomedical concepts ^[5]. Some factors, such as
5 education, health literacy, family income, age, and access to information could
6 be associated with gaps in knowledge ^[16, 17].

7 Around the world studies have been conducted in order to evaluate viral
8 hepatitis perception among health professionals and students, viral hepatitis
9 patients or other risk groups ^[17-21]. There are still few reports regarding viral
10 hepatitis knowledge in low resource areas ^[5, 22-24]. In view of these gaps, the aim
11 of the present study was to evaluate the viral hepatitis knowledge among
12 individuals from different resource areas and health conditions in Brazil to
13 identify possible gaps and help authorities in the development of prevention
14 and education programs.

15

16 **MATERIALS AND METHODS**

17 *Population Studied*

18 This is a cross sectional study conducted from March 2015 to November
19 2015 where a minimum sample size of 50 participants per group was defined. **A
20 non-probability sampling method with consecutive sampling was used in
21 which every subject meeting the criteria of inclusion is selected until the
22 required sample size is achieved in this setting.**

23 Individuals were previously informed about the study and participant
24 eligibility criteria were: both genders, more than 18 years of age, free from
25 psychoactive drug use, agreement to inclusion and signed, informed consent.
26 The local ethical committee approved the study (CAEE 38846914.5.0000.5248).

27 The final sample was made up of a total of 447 questionnaires about
28 hepatitis knowledge obtained from five groups belonging to different
29 geographic regions in Brazil as follows:

- 30 • Southeast Viral Hepatitis Ambulatory comprises 100 individuals living
31 in Rio de Janeiro state, both in nearby cities and in different districts of

1 the city of Rio de Janeiro, who are referred to the outpatient clinic. These
2 individuals included not only those with acute, chronic, or suspected
3 cases of viral hepatitis but also those accompanying patients to the
4 Brazilian Referral center for viral hepatitis diagnosis. The recruitment
5 was performed prior to medical consultation. Rio de Janeiro state is
6 situated in the Southeast region of Brazil with a human development
7 Index (HDI) of 0.761^[25].

- 8 • South Health Center comprises 89 individuals residing in the city of
9 Curitiba (Paraná State) that were recruited in the Guidance and
10 Monitoring Center prior to medical consultation. This center performs
11 anonymous testing for hepatitis, syphilis and HIV. Curitiba is situated in
12 the South region of Brazil with an estimated population of 1.908.359, an
13 HDI of 0.823 and poverty rate of 31.71%^[25].
- 14 • Northeast Health Center comprises 114 individuals resident in the city of
15 Fortaleza (Ceará State) and they are users of the Brazilian Unified Health
16 System (SUS) seeking care in Medical Care Center integrated to the
17 University of Fortaleza. Recruitment was carried out prior to medical
18 consultation. Fortaleza is situated in the Northeast region of Brazil with
19 an estimated population of 2.627.482 an HDI of 0.754 and a poverty rate
20 of 43.17%^[25].
- 21 • Southeast low resource areas comprise 77 individuals living in low
22 resource communities from the Southeast region of Brazil (Complex of
23 Manguinhos district of Rio de Janeiro city). Interviewers visited residents
24 in their homes and only applied the questionnaires to those who agreed
25 to participate. Rio de Janeiro city is situated in the Southeast region of
26 Brazil with an estimated population of 6.520.266, an HDI of 0.799 and a
27 poverty rate of 23.85%. Manguinhos complex exhibited the fifth worst
28 HDI (0.726) among the 126 neighborhood groups in the city of Rio de
29 Janeiro and the average family income in population is below a
30 minimum Brazilian income^[25].

- Northeast low resource areas - comprises 67 individuals resident in a low-resource community from the Northeast Region of Brazil (Nossa Senhora de Nazaré city, Piauí State). This city has approximately 5,000 inhabitants and residents have a low income. Interviewers visited residents in their homes and only applied the questionnaires to those who agreed to participate. Nossa Senhora de Nazaré is situated in the Northeast region of Brazil with an estimated population of 4,786, an HDI of 0.586 and a poverty rate of 56.6% [25].

To assess knowledge scores, five populations were further aggregated into three groups, which were categorized as Southeast Viral Hepatitis Ambulatory (n= 100), Medical centers (n=203, South and Northeast) and underprivileged communities (n= 144, Southeast and Northeast low resource areas).

Data collection instrument

The questionnaire was composed of two parts: 1) Social demographic characteristics and 2) Viral hepatitis perception. Social demographic characteristics included gender, age, education level, race, monthly family income, marital status and number of people in-house. Monthly family income was considered in relation to the Brazilian minimum salary and classified as “low” (<US\$276.00 approximately), “intermediate” (US\$276.00 to 828.00 approximately) or “high” (>US\$828.00 approximately).

Viral hepatitis perception was assessed by the participants’ understanding of the proposed questions. The questionnaire was composed of nine groups of questions covering aspects about viral hepatitis including general information (questions 1 to 4), transmission (question 5), prevention (question 6), clinical manifestations (question 7), risk factors (question 8), and complications (questions 9). All questions except items 3 and 4 had subdivisions (i.e., 1a, 1b, 1c and 1d), thus a total of 46 answers could be correctly pointed out. Additionally, in items 3, 4, 5 and 6, individuals were asked to report which type of hepatitis virus related to their response.

1 The initial version of the questionnaire was structured in the Brazilian
2 Portuguese language and developed from a questionnaire applied in a previous
3 study [24] and through literature review about knowledge in viral hepatitis^{[5, 16,}
4 ^{17]}. The questionnaire was then piloted with 30 respondents for its acceptability
5 and consistency, 15 self-administered and 15 interviewed. From the self-
6 administered questionnaire, three of them had many unfilled questions, one of
7 them entirely unfilled. The questionnaire was modified after the pilot study and
8 the interview format was chosen for data collection. After this evaluation, the
9 questionnaire was made available for data collection. Data from the pilot study
10 was not included in the final analysis. Participants were interviewed face-to-
11 face in a confidential setting. At the end of the interview, the correct answers
12 were shown to each volunteer.

13

14 *Score of knowledge*

15 Viral hepatitis perception score was created based on average of correct
16 answers of all participants' responses (28.7). The perception was divided in two
17 scores: "Low" (0-28 correct answers) and "Desirable" (29-46 correct answers).
18 Associations between socio-demographic characteristics and perception were
19 also evaluated.

20

21 *Statistical Analysis*

22 Descriptive statistics were generated for the responses and the chi-
23 squared test for independence or for trend and Kruskal-Wallis test was used to
24 compare categorical and continuous variables respectively, among the
25 perception score groups. The variables that were associated with perception
26 score categories were inserted into the logistic regression model, using *forward*
27 *stepwise*. The 95% confidence intervals (95% CI) of the estimated odds ratio (OR)
28 were also calculated, and a P-value was calculated using the Statistical Package
29 for the Social Sciences (SPSS for Windows, release 20.0; SPSS, Chicago, IL).

30

31

1 **RESULTS**

2 *Demographic characteristics*

3 Most of the participants were female (269/60.2%), aged over 40 years
4 (254/56.8%); had secondary education (186/41.6%); received intermediate
5 monthly family income (250/55.9%); declared themselves as white (211/47.2%);
6 married (224/50.1%) and living in houses with three individuals (128/28.6%).
7 Only marital status was not significantly different between the five populations
8 (p=0.902) (Table 1).

9

1 Table 1: Socio-demographic characteristics of study participants.

Items	Total (447) n (%)	Southeast Hepatitis Ambulatory (n=100) n (%)	Viral South Health Center (89) n (%)	Northeast Health Center(114) n (%)	Southeast low resource areas (77) n (%)	Northeast low resource areas (67) n (%)	p value
Gender							
Female	269 (60.2)	55 (55.0)	33 (37.1)	76 (66.7)	51 (66.2)	54 (80.6)	0.000
Male	178 (39.8)	45 (45.0)	56 (62.9)	38 (33.3)	26 (33.8)	13 (19.4)	
Age groups (Years)							
≤40	193 (43.2)	29 (29.0)	28 (31.5)	68 (59.6)	27 (35.1)	41 (61.2)	0.000
>40	254 (56.8)	71 (71.0)	61 (68.5)	46 (40.4)	50 (64.9)	26 (38.8)	
Education							
Illiterate	136 (30.4)	28 (28.0)	11 (12.4)	27 (23.7)	38 (49.3)	32 (47.8)	0.000
Primary school	66 (14.8)	16 (16.0)	12 (13.5)	15 (13.2)	13 (16.9)	10 (14.9)	
Secondary school	186 (41.6)	42 (42.0)	48 (53.9)	51 (44.7)	25 (32.5)	20 (29.8)	
College	59 (13.2)	14 (14.0)	18 (20.2)	21 (18.4)	1 (1.3)	5 (7.5)	

Family income							
Low	38 (8.5)	3 (3.0)	1 (1.1)	5 (4.4)	7 (9.1)	17 (25.3)	
Intermediate	250 (55.9)	62 (62.0)	25 (28.1)	72 (63.2)	55 (71.4)	41 (61.2)	0.000
High	145 (32.5)	35 (35.0)	61 (68.5)	34 (29.8)	11 (14.3)	4 (6.0)	
Race							
White	211 (47.2)	47 (47.0)	67 (75.3)	33 (28.9)	42 (54.5)	22 (32.8)	
Non-white	225 (50.3)	51 (51.0)	20 (22.4)	74 (64.9)	35 (45.5)	45 (67.2)	<0.0001
Marital status							
Married	222 (49.7)	46 (46.0)	44 (49.4)	59 (51.8)	40 (51.9)	33 (49.3)	
Unmarried	224 (50.1)	54 (54.0)	45 (50.6)	55 (48.2)	36 (46.8)	34 (50.7)	0.909
People in home							
1	39 (8.7)	14 (14.0)	9 (10,1)	8 (7.0)	7 (9.1)	1 (1.5)	
2	97 (21.7)	23 (23.0)	28 (31,5)	16 (14.0)	24 (31.1)	6 (9.0)	
3	128 (28.6)	34 (34.0)	23 (25,8)	30 (26.3)	24 (31.2)	17 (25.4)	0.000
4	94 (21.0)	14 (14.0)	17 (19,1)	32 (28.1)	8 (10.4)	23 (34.3)	
5	88 (19.7)	14 (14.0)	12 (13.5)	28 (24.6)	14 (18.2)	20 (29.8)	

1

Legend: n- number of individuals.

Viral Hepatitis Perception

In the case of most categories, the majority of questions were correctly answered (varying from 56.4% to 77.3%), with the exception of the complications category where only 39.4% were answered correctly. Individuals from Southeast Viral Hepatitis Ambulatory showed the highest number of correct answers in general (66.4%), clinical manifestations (84.7%), complications (46.5%), transmission (81.4%) and prevention (80.6%). Participants from South Health Center showed the highest number of correctly answered questions regarding risk of acquiring hepatitis (68.1%) (Data not shown).

Table 2 describes the correct responses towards viral hepatitis knowledge separated by populations. More than 70% of participants recognized that hepatitis is caused by viruses, the existence of HAV, HBV, HCV and the availability of vaccines for hepatitis. Additionally, more than 60% of individuals did not know that hepatitis can be caused by alcohol or medicines and that an individual cannot have the same type of hepatitis more than once while more than 70% of participants were unaware of the existence of HDV and HEV.

Clinical manifestations and risk of acquiring hepatitis questions were correctly answered by most individuals. However, work in rural areas as a risk-factor in the acquisition of hepatitis was incorrectly answered by more than 60% of participants. Less than 27% of interviewees were able to associate loss of body movements, blood through the mouth, loss of vision and blood in the stool as complications of hepatitis. In addition, more than 50% of participants incorrectly answered questions about transmission by seafood, the absence of transmission by mosquito bite, and modes of prevention such as killing mosquitoes and using masks.

In general, correct answers were more common in Southeast Viral Hepatitis Ambulatory and less common in northeast low resource areas. In questions such as “Does hepatitis D exist?”, “Can hepatitis be transmitted by mosquito bite?”, “Can killing mosquitoes prevent viral hepatitis?” and “Does using masks prevent hepatitis?” less than 50% were correctly answered by all

participants but more than 50% of such questions were correctly answered in Southeast Viral Hepatitis Ambulatory (table 2).

Less than 10% of correct answers were observed in questions such as “Do hepatitis D and E exist?” in Northeast health center; “Is loss of body movement a complication of hepatitis?” in Southeast and Northeast low resource areas and “Is blood in the stool a complication of hepatitis?” in Northeast Health Center, Southeast and Northeast low resource areas (table 2).

In bivariate analysis of answered questions, some were not significant; such as those informing whether hepatitis can be caused by medicines; whether jaundice, pale stools and dark urine are clinical manifestations of hepatitis; whether people working in laboratories are at risk of infection; and whether loss of blood through the mouth; or blood in the stool are complications of infection ($p = 0.110$, $p = 0.922$, $p = 0.054$, $p = 0.233$ and $p = 0.121$, respectively) (table 2).

Figure 1 shows the distribution of correct answers in each population; the highest number of correct answered were found in the Southeast Viral Hepatitis Ambulatory group and the lowest number in northeast low resource areas. Also, is possible to observe a larger dispersion of correct answered in northeast low resource areas.

In 19 questions, it was necessary to determine which hepatitis type was related to the participant's response; only in three of them were more than 50% of the participants able to correctly identify at least one of the related hepatitis types. The percentage of incorrect answers (i.e. did not know, did not respond or did not associate the correct hepatitis type with the question) from these three questions were 14.5% for “selecting uninfected donors is hepatitis prevention”, 40.3% for “Can hepatitis be transmitted by air?” and 41.2% for “Which hepatitis types have a vaccine?”. For the other questions, the percentage of wrong answers varies from 50.6% (Can hepatitis be transmitted by hemodialysis?) to 88.1% (Can hepatitis be transmitted by seafood?) (Data not shown).

Table 2: Correct answers regarding viral hepatitis given by individuals from each group evaluated (n=447) according to general aspects, clinical manifestations, risk of acquiring hepatitis, complications, transmission and prevention

Sentence	Total (n=447) n (%)	Southeast Viral Hepatitis Ambulatory (n=100) n (%)	South Health Center (89) n (%)	Northeast Health Center (n=114) n (%)	Southeast low resource areas (n=77) n (%)	Northeast low resource areas (n=67) n (%)	p value
General aspects							
Can hepatitis be caused by viruses	321 (71.8)	84 (84.0)	69 (77.5)	75 (65.8)	48 (62.3)	45 (67.2)	0.005
Can hepatitis be caused by bacteria	242 (54.1)	50 (50.0)	19 (21.3)	74 (64.9)	56 (72.7)	43 (64.2)	0.000
Can hepatitis be caused by alcohol	172 (38.5)	31 (31.0)	31 (34.8)	38 (33.3)	34 (44.2)	38 (56.7)	0.006
Can hepatitis be caused by medicines	154 (34.5)	45 (45.0)	29 (32.6)	32 (28.1)	24 (31.2)	24 (35.8)	0.110
Does hepatitis A exist	394	98 (98.0)	78 (87.6)	97 (85.1)	68 (88.3)	53 (79.1)	0.004

	(88.1)						
Does hepatitis B exist	410 (91.7)	99 (99.0)	88 (98.9)	95 (83.3)	73 (94.8)	55 (82.1)	0.000
Does hepatitis C exist	359 (80.3)	99 (99.0)	86 (96.6)	66 (57.9)	61 (79.2)	47 (70.1)	0.000
Does hepatitis D exist	121 (27.1)	56 (56.0)	18 (20.2)	10 (8.8)	18 (23.4)	19 (28.4)	0.000
Does hepatitis E exist	92 (20.6)	40 (40.0)	15 (16.9)	7 (6.1)	14 (18.2)	16 (23.9)	0.000
Does a vaccine for hepatitis exist	376 (84.1)	91 (91.0)	78 (87.6)	97 (85.1)	58 (75.3)	52 (77.6)	0.026
Can you have the same hepatitis more the once	132 (29.5)	37 (37.0)	23 (25.8)	37 (32.5)	13 (16.9)	22 (32.8)	0.040
Clinical manifestations							
No clinical manifestations	292 (65.3)	89 (89.0)	75 (84.3)	61 (53.5)	35 (45.5)	32 (47.8)	0.000
After years	311 (69.6)	81 (81.0)	75 (84.3)	61 (53.5)	47 (61.0)	47 (70.1)	0.000
Fever discomfort, nausea	369	76 (76.0)	67 (75.3)	99 (86.8)	64 (83.1)	63 (94.0)	0.008

	(82.6)						
Jaundice, pale stools and dark urine	410 (91.7)	93 (93.0)	81 (91.0)	103 (90.4)	72 (93.5)	61 (91.0)	0.922
People at risk of acquiring hepatitis							
People working in laboratory	235 (52.6)	61 (61.0)	39 (43.8)	67 (58.8)	38 (49.4)	30 (44.8)	0.054
People who work in hospitals	310 (69.4)	72 (72.0)	58 (65.2)	88 (77.2)	56 (72.7)	36 (53.7)	0.014
Not people who work in rural areas	157 (35.1)	36 (36.0)	41 (46.1)	46 (40.4)	18 (23.4)	16 (23.9)	0.006
People who work in the beauty areas	353 (79.0)	91 (91.0)	70 (78.7)	89 (78.1)	57 (74.0)	46 (68.7)	0.007
People who use drugs	393 (87.9)	98 (98.0)	85 (95.5)	96 (84.2)	64 (83.1)	50 (74.6)	0.000
People who receive tattoos or piercings	389 (87.0)	98 (98.0)	79 (88.8)	96 (84.2)	64 (83.1)	52 (77.6)	0.001
People who live indoors	253 (56.6)	46 (46.0)	45 (50.6)	66 (57.9)	57 (74.0)	39 (58.2)	0.004

Not people who work in offices	299 (66.9)	19 (19.0)	68 (76.4)	28 (24.6)	26 (33.8)	31 (46.3)	0.000
--------------------------------	---------------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	--------------

Table 2 (continuation): Correct answers regarding viral hepatitis given by individuals from each group evaluated (n=447) according to general aspects, clinical manifestations, risk of acquiring hepatitis, complications, transmission and prevention

Sentence	Total (n=447) n (%)	Southeast Viral Hepatitis Ambulatory (n=100) n (%)	South Health Center (89) n (%)	Northeast Health Center (n=114) n (%)	Southeast low resource areas (n=77) n (%)	Northeast low resource areas (n=67) n (%)	p value
Complications							
Cirrhosis	361 (80.8)	91 (91.0)	82 (92,1)	79 (69.3)	62 (80.5)	47 (70.1)	0.000
Liver Cancer	378 (84.6)	91 (91.0)	78 (87,6)	95 (83.3)	65 (84.4)	49 (73.1)	0.031
There is no loss of body movements	88 (19.7)	32 (32.0)	17 (19,1)	27 (23.7)	6 (7.8)	6 (9.0)	0.233
There is no loss of blood through the mouth	65 (14.5)	17 (17.0)	18 (20,2)	16 (14.0)	8 (10.4)	6 (9.0)	0.000
There is no vision loss	117	30 (30.0)	23 (25,8)	40 (35.1)	13 (16.9)	11 (16.4)	0.016

	(26.2)						
There is no blood in the stool	49 (11.0)	18 (18.0)	10 (11.2)	9 (7.9)	7 (9.1)	5 (7.5)	0.121
Transmission							
By transfusion and transplantation	386 (86.4)	94 (94.0)	85 (95.5)	91 (79.8)	67 (87.0)	49 (73.1)	0.000
By sex	310 (69.4)	96 (96.0)	76 (85.4)	64 (56.1)	42 (54.5)	32 (47.8)	0.000
By water and contaminated vegetables	318 (71.1)	88 (88.0)	49 (55.1)	79 (69.3)	60 (77.9)	42 (62.7)	0.000
By seafood	135 (30.2)	59 (59.0)	17 (19.1)	27 (23.7)	23 (29.9)	9 (13.4)	0.000
By tattoo and piercing	361 (80.8)	96 (96.0)	76 (85.4)	88 (77.2)	57 (74.0)	44 (65.7)	0.000
By cutting instruments	385 (86.1)	99 (99.0)	77 (86.5)	90 (78.9)	66 (85.7)	53 (79.1)	0.005
By hemodialysis	280 (62.6)	74 (74.0)	58 (65.2)	60 (52.6)	53 (68.8)	35 (52.2)	0.010
Cannot be by mosquito bite	221	58 (58.0)	49 (55.1)	60 (52.6)	31 (40.3)	23 (34.3)	0.000

	(49.4)						
Cannot be by air	268 (60.0)	69 (69.0)	69 (77.5)	68 (59.6)	34 (44.2)	28 (41.8)	0.000
Prevention							
Building cesspools	324 (72.5)	78 (78.0)	49 (55.1)	89 (78.1)	63 (81.8)	45 (67.2)	0.000
Channeling water	318 (71.1)	76 (76.0)	53 (59.6)	84 (73.7)	63 (81.8)	42 (62.7)	0.007
Selecting uninfected donors	363 (81.2)	90 (90.0)	71 (79.8)	105 (92.1)	58 (75.3)	39 (58.2)	0.000
Filtering water and treating drinks	372 (83.2)	88 (88.0)	57 (64.0)	101 (88.6)	71 (92.2)	55 (82.1)	0.000
Killing mosquitoes does not prevent hepatitis	189 (42.3)	53 (53.0)	41 (46.1)	41 (36.0)	33 (42.9)	21 (31.3)	0.029
Providing vaccine	405 (90.6)	94 (94.0)	80 (89.9)	107 (93.9)	70 (90.9)	54 (80.6)	0.030
Using masks does not prevent hepatitis	210 (47.0)	69 (69.0)	57 (64.0)	46 (40.4)	26 (33.8)	12 (17.9)	0.000

Using condoms	378 (84.6)	97 (97.0)	82 (92.1)	93 (81.6)	56 (72.7)	50 (74.6)	0.000
---------------	---------------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	--------------

Legend: n- number of individuals.



Figure 1: Distribution of correct answers plotted according to each population evaluated. The y-axis represents the number of correct answers. The solid lines represent the average for P1 (Southeast Viral Hepatitis Ambulatory), P2 (South Health Center), P3 (Northeast Health Center), P4 (Southeast low resource areas) and P5 (Northeast low resource areas) which were respectively: $33,1\pm 4,5$; $29,1\pm 5,3$; $27,5\pm 5,0$; $27,6\pm 4,7$; $25,0\pm 8,5$.

Perception about viral hepatitis

Average of correct answers from all individuals was $28,7\pm 6,1$ which was considered as the cut off value in this analysis, in this way, scores from 0 to 28 were considered “low” and scores of 29 to 46 were considered “desirable”. Only Southeast Viral Hepatitis Ambulatory and South Health Center demonstrated a desirable knowledge ($30,5\pm 5,0$ and $29,5\pm 5,6$, respectively) (table 3).

Regarding the rate of correct answers, 255 (57.0%) individuals scored above average; 87 (87.0) from Southeast Viral Hepatitis Ambulatory, 52 (58.4%) from South Health Center, 56 (49.1%) from Northeast Health Center, 34 (44.1%) from Southeast low resource areas and 26 (39.4%) from Northeast low resource areas.

The caveats of gender, age, marital status and number of people in the home were associated with approximately the same average number of correct answers. The majority of the individuals with both low and desirable scores received an intermediate family income, however a lower average number of correct answers was observed in individuals who received low family income.

Desirable perception was more common among females (58.4%), subjects aged over 40 years (60.0%), with a secondary education (47.1%), receiving intermediate family income (56.9%), declaring themselves white (46.3%) and married (50.2%), living in houses with three individuals (25.5%) and belonging to Southeast Viral Hepatitis Ambulatory (34.1%).

Perception was associated only with education level, race, individuals living in the same home and populations in bivariate analysis (table 3). In multivariate analysis, population-type was found to be statistically significant (table 4).

Southeast Viral Hepatitis Ambulatory showed a higher number of desirable scores while underprivileged communities showed a lower number of desirable scores compared to low scores in the same areas. Medical centers also present a larger proportion of desirable scores compared to low scores though this was less pronounced (Figure 2).

Table 3: Socio-demographic characteristics according to knowledge scores for viral hepatitis.

Items	Mean of knowledge score (\pm SD)	Knowledge Score <i>n</i> (%)		Bivariate Analysis <i>p-value</i>
		Low (0-28) <i>n</i> =192	Desirable (29-46) <i>n</i> =255	
Gender				
Female	28.49 \pm 6.16	120(62.5%)	149(58.4%)	0.43

Male	29.04±6.10	72(37.5%)	106(41.6%)	
Age (Years)				
≤40	27.6±6.6	91 (47.4%)	102 (40.0%)	
>40	27.5±8.5	101 (52.6%)	153 (60.0%)	0.12
Education level				
Illiterate	25.4±8.3	74(38.5%)	62(24.3%)	
Primary school	28.1±5.1	32(16.7%)	34(13.3%)	0.002
Secondary school	30.9±5.7	66(34.4%)	120(47.1%)	
College	30.8±5.4	20(10.4%)	39(15.3%)	
Family income				
Low	26.1±6.9	21(10.9%)	17(6.7%)	
Indeterminate	29.4±7.0	105(54.7%)	145(56.9%)	0.20
High	30.3±5.5	57(29.7%)	88(34.5%)	
Race				
White	29.8±7.1	79(41.1%)	132(51.8%)	
Non-white	28.2±6.3	107(55.7%)	118(46.3%)	0.03
Marital status				
Married	28.4±7.1	94(48.9%)	128(50.2%)	0.84
Unmarried	27.3±8.0	97(50.5%)	127(49.8%)	
Individuals living in the same home				
1	30.5±5.0	11(5.7%)	28(11.0%)	
2	29.5±5.6	41(21.4%)	56(22.0%)	
3	28.3±6.3	63(32.8%)	65(25.5%)	0.014
4	28.8±6.6	31(16.1%)	63(24.7%)	
≥5	27.6±6.4	46(24.0%)	42(16.5%)	
Populations				
Southeast Viral Hepatitis	33.1±4.5	13(6.8%)	87(34.1%)	<0.0001

Ambulatory			
South Health Center	29.1±5.3	37(19.3%)	52(20.4%)
Northeast Health Center	27.5±5.0	58(30.2%)	56(22.0%)
Southeast low resource areas	27.6±4.7	43(22.4%)	34(13.3%)
Northeast low resource areas	25.0±8.5	41(21.3%)	26(10.2%)

Table 4: Final adjusted model of multivariate logistic regression for knowledge scores for viral hepatitis.

Variables	Knowledge Score			p_value
	OR	95% C.I		
		Lower	Upper	
Education level				
Illiterate	2.230	1.084	4.586	0.29
Primary school	1.799	0.807	4.009	0.151
Secondary school	1.028	0.528	2.002	0.936
College	1.000	-	-	
Individuals living in the same home				
1	1.000	-	-	
2	1.611	0.671	3.867	0.286
3	2.328	0.992	5.465	0.052
4	0.818	0.332	2.017	0.663
≥5	1.832	0.748	4.486	0.185
Populations				
Southeast Viral Hepatitis Ambulatory	1.000	-	-	
South Health Center	6.154	2.900	13.058	0.000
Northeast Health Center	8.617	4.177	17.777	0.000
Southeast low resource areas	7.491	3.508	15.994	0.000
Northeast low resource areas	11.262	5.007	25.327	0.000

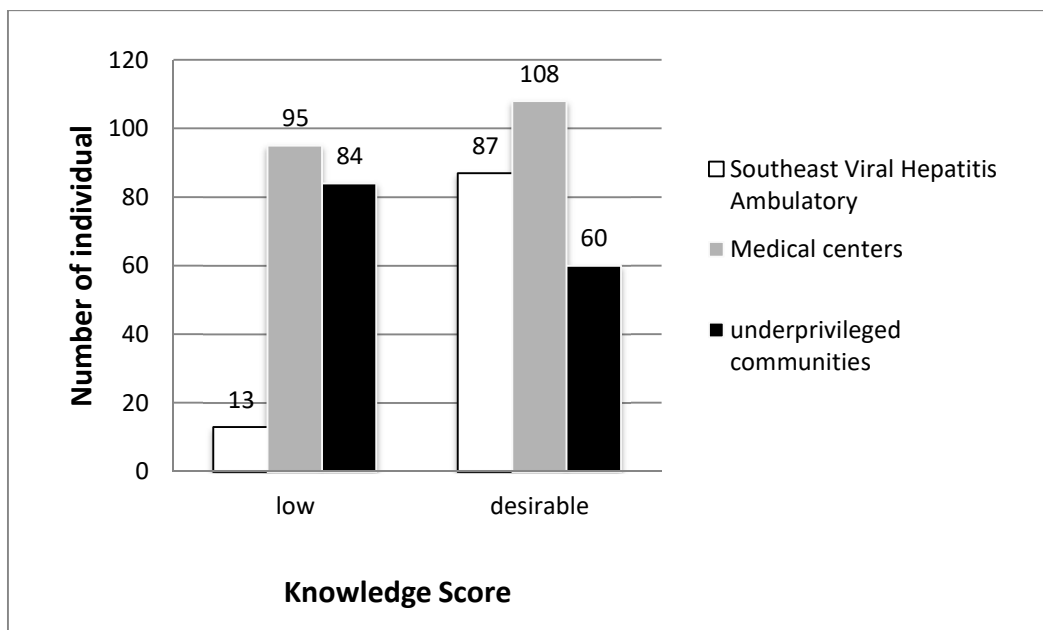


Figure 2: Number of individuals according to knowledge score in each group evaluated.

DISCUSSION

In the present study, knowledge level was scored according to the mean number of correct answers. Individuals from Southeast Viral Hepatitis Ambulatory and South Health Center showed a desirable knowledge in contrast to those recruited at Northeast Health Center, Southeast and Northeast low resource areas. The findings of the current study are in line with previous findings [5,22, 24]. However, the study in Egypt noted high baseline knowledge about HCV [23], likely due to the scale of the HCV epidemic in this country.

Complications arising from viral hepatitis was the worst set of questions evaluated in current study. Although more than 80% of participants can correctly correlate cirrhosis and liver cancer with complications of viral hepatitis, most of them relate complications that are not caused by hepatitis. In previous studies between health professionals, more than half of participants answered correctly to the questions about HCV complications[26]. However, an insufficient knowledge regarding HCV complications was observed in a study

among health professionals [27]. Clinical manifestations of viral hepatitis were the best set of questions evaluated, contrary to previous observations^[28].

In the present study, most individuals recognize the existence of HAV, HBV and HCV and do not recognize the existence of hepatitis D or E. The same finding has previously been observed in Brazil [24]. Another study [28] observed a very weak knowledge regarding the five hepatitis types among medical science students. Transmission and prevention modes were correctly answered in general, this data was also observed among medical and health science students in Ethiopia in the evaluation of HBV knowledge [21]. A large number of individuals do not know that viral hepatitis can be transmitted by seafood as observed previously [24]. Since HAV and HEV can be transmitted in this way [29, 30], the transmission may continue if preventive measures are not taken.

Viral hepatitis transmission by mosquito and forms to prevent it were incorrectly answered by most participants, probably due to the country-wide presence of Dengue virus, the transmission of which is widely understood by the public. Most individuals did not cite transmission by air but curiously, masks to avoid airborne contamination were cited. These questions highlight the need for raising awareness among the public to reinforce knowledge related to the modes of transmission and prevention.

In present study, population-type was the significant demographic factors associated with knowledge level in multivariate analysis as the same as found in other studies [5, 24, 31]. Contrary to a previous general population study in Brazil [24] monthly family income had no association with knowledge in the present study.

The results obtained in the present study can be used as a data source for the projection of intervention methods in health and public health policies, such as explanatory educational leaflet, educational booklets, lectures in schools, health campaigns, health fairs and others, in order to increase access to information of viral hepatitis and possibly to reduce the number of cases of these infections, especially among individuals from low resources areas that showed a lower level of knowledge in present finding.

The present study has some limitations: The study did not assess the information regarding the neighborhood of each participant to observe the sociodemographic diversity. The study did not assess the occupation of participants to categorize and compare with studies in specific groups such as health or beauty professionals. In viral hepatitis ambulatory and in medical centers it was not asked whether participants had previously consulted and whether they had any prior knowledge about hepatitis.

In conclusion, in general, desirable knowledge was observed among most participants. However, Northeast Health Center and underprivileged communities showed low knowledge. Knowledge levels were associated with education level, race and number of individuals living in the same home. The results of the present study should prove useful for information and prevention campaigns targeted at the general population, especially between neglected communities, in order to reduce the transmission of viral hepatitis.

ARTICLE HIGHLIGHTS

Research background

Viral hepatitis is an important public health problem in the world causing more than 1 million of deaths annually. It is important to evaluate viral hepatitis perception to identify the possible gaps and help public health authorities to create strategies to increase access to information about these infections.

Research motivation

Few studies have been done to evaluate viral hepatitis perception in uninfected individuals, particularly in Latin America.

Research objectives

The main aim of this study was to evaluate the viral hepatitis knowledge among individuals from different resource areas and health conditions in Brazil to identify possible gaps and help authorities in the development of prevention and education programs.

Research methods

This a cross sectional study where a questionnaire to evaluate viral hepatitis perception was applied among 447 individuals from five different populations in Brazil (Southeast low resource areas; Northeast low resource areas; South Health Center, Northeast Health Center, Southeast Viral Hepatitis Center). Viral hepatitis perception score was created based on average of correct answers of all participants' responses (28.7) and associations between socio-demographic characteristics and perception were also evaluated.

Research results

High perception level about viral hepatitis was observed in Southeast Viral Hepatitis Ambulatory and South Health Center compared to Northeast Health Center, Southeast and Northeast low resource areas. According to socio demographic characteristics, desirable scores were more common among those with secondary education (47.1%), those who declared themselves as white (46.3%), and those who lived in houses with three individuals (25.5%). Population-type was associated with knowledge level in multivariate analysis

Research conclusions

The study demonstrated a low level of perception about viral hepatitis among individuals from low resource areas. To identify the knowledge gaps in this

group could help to create strategies for increasing access to information and consequently reduce the transmission of these diseases.

Research perspectives

This study demonstrates that it is necessary to improve the access to health information about viral hepatitis, especially among residents of low-resource settings. It is important to conduct random sampling evaluation of larger numbers of individuals to confirm the results observed. A questionnaire could help to conduct these studies as the same as used in the present work.

ACKNOWLEDGMENTS

Authors would like to acknowledge the financial support of CAPES, CNPq and FAPERJ, and the volunteers who agreed to participate in this study.

REFERENCES

1. Focaccia R. Tratado de hepatites virais e doenças associadas. 3. Ed. Editora Atheneu, São Paulo; 2013.
2. WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION) 2017. Health topics Hepatitis. [access on 10/10/2017]. Available : <http://www.who.int/topics/hepatitis/en/>
3. CDC (Centers for Disease Control and Prevention). Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. Atkinson W, Hamborsky J, Wolfe S, eds. 12th ed., second printing. Washington DC: Public Health Foundation; 2012.

4. Pereira LM, Martelli CM, Merchán-Haman E, Montarroyos UR, Braga MC, de Lima ML, Cardoso MR, Turchi MD, Costa MA, de Alencar LC, Moreira RC, Figueiredo GM, Ximenes RA; Hepatitis Study Group. Population-based multicentric survey of hepatitis B infection and risk factors differences among three regions in Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2009; 81: 240-247. PubMed PMID: 19635877.
5. ul Haq N, Hassali MA, Shafie AA, Saleem F, Farooqui M, Aljadhey A 2012. A cross sectional assessment of knowledge, attitude and practice towards Hepatitis B among healthy population of Quetta, Pakistan. *BMC Public Health* 12:692. doi: 10.1186/1471-2458-12-692. PubMed PMID: 22917489.
6. Komatsu H., Inui A, Sogo T, Tateno A, Shimokawa R, Fujisawa T. Tears From Children With Chronic Hepatitis B Virus (HBV) Infection Are Infectious Vehicles of HBV Transmission: Experimental Transmission of HBV by Tears, Using Mice With Chimeric Human Livers. *J Infect Dis.* 2012; 206(4):478-485. doi: 10.1093/infdis/jis293. Epub 2012 Apr 16. PubMed PMID: 22508939.
7. Ogholikhan S, Schwarz KB. Hepatitis Vaccines. *Vaccines (Basel).* 2016 Mar 11;4(1). pii: E6. doi: 10.3390/vaccines4010006. Review. PubMed PMID: 26978406
8. Villar LM, Cruz HM, Barbosa JR, Bezerra CS, Portilho MM, Scalioni Lde P. Update on hepatitis B and C virus diagnosis. *World J Virol.* 2015; 4(4):323-42. doi: 10.5501/wjv.v4.i4.323. Review. PubMed PMID: 26568915.
9. Zhang X, An J, Tu A, Liang X, Cui F, Zheng H, Tang Y, Liu J, Wang X, Zhang N, Li H. Comparison of immune persistence among inactivated and live attenuated hepatitis a vaccines 2 years after a single dose. *Hum*

- Vaccin Immunother. 2016;12(9):2322-6. doi: 10.1080/21645515.2015.1134069. Epub 2016 Aug 5. PubMed PMID: 27494260.
10. Debing Y, Moradpour D, Neyts J, Gouttenoire J. Update on hepatitis E virology: Implications for clinical practice. *J Hepatol.* 2016 Jul;65(1):200-12. doi: 10.1016/j.jhep.2016.02.045. Epub 2016 Mar 8. Review. PubMed PMID: 26966047.
 11. Pang L, Alencar FE, Cerutti C Jr, Milhous WK, Andrade AL, Oliveira R, Kanasa-Thanan N, MaCarthy PO, Hoke CH Jr. Short report: hepatitis E infection in the Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg.*1995;52(4):347-8. PubMed PMID: 7741175.
 12. Paraná R, Vitvitski L, Andrade Z, Trepo C, Cotrim H, Bertillon P, Silva F, Silva L, de Oliveira IR, Lyra L. Acute sporadic non-A, non-B hepatitis in Northeastern Brazil: etiology and natural history. *Hepatology.* 1999 Jul;30(1):289-93. PubMed PMID: 10385669.
 13. Trinta KS, Liberto MI, de Paula VS, Yoshida CF, Gaspar AM. Hepatitis E virus infection in selected Brazilian populations. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001 Jan;96(1):25-9. PubMed PMID: 11285473.
 14. Santos DC, Souto FJ, Santos DR, Vitral CL, Gaspar AM. Seroepidemiological markers of enterically transmitted viral hepatitis A and E in individuals living in a community located in the North Area of Rio de Janeiro, RJ, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2002 Jul;97(5):637-40. Epub 2002 Aug 30. PubMed PMID: 12219125.
 15. Lyra AC, Pinho JR, Silva LK, Sousa L, Saraceni CP, Braga EL, Pereira JE, Zarife MA, Reis MG, Lyra LG, Silva LC, Carrilho FJ. HEV, TTV and

- GBV-C/HGV markers in patients with acute viral hepatitis. *Braz J Med Biol Res.* 2005 May;38(5):767-75. Epub 2005 May 25. PubMed PMID: 15917959.
16. Ataei B, Shirani K, Alavian SM, Ataie M. Evaluation of Knowledge and Practice of Hairdressers in Women's Beauty Salons in Isfahan About Hepatitis B, Hepatitis C, and AIDS in 2010 and 2011. *Hepat Mon.* 2013 Mar 6;13(3):e6215. doi:10.5812/hepatmon.6215. Print 2013 Mar. PubMed PMID: 23658593.
 17. Wu E, Chen X, Guan Z, Cao C, Rao H, Feng B, Chan M, Fu S, Lin A, Wei L, Lok AS. A comparative study of patients' knowledge about hepatitis C in the United States and in urban and rural China. *Hepatol Int.* 2015 Jan;9(1):58-66. doi: 10.1007/s12072-014-9559-z. Epub 2014 Jul 31. PubMed PMID: 25788380.
 18. Maniero VC, Goldbach T, Marques APC, Cavaretto LSP, Santos AMO, Villar LM. Evaluation of the knowledge of nursing students about viral hepatitis. *nurs ufpe on line.* 2012 apr;6(4):831-8. doi: 10.5205/reuol.2226-17588-1-le.0604201218
 19. Villar LM, de Paula VS, de Almeida AJ, do Ó KM, Miguel JC, Lampe E. Knowledge and prevalence of viral hepatitis among beauticians. *J Med Virol.* 2014 Sep;86(9):1515-21. doi: 10.1002/jmv.23993. Epub 2014 Jun 10. PubMed PMID: 24916521.
 20. Ganczak M, Dmytrzyk-Daniłow G, Korzeń M, Drozd-Dąbrowska M, Szych Z. Prevalence of HBV Infection and Knowledge of Hepatitis B Among Patients Attending Primary Care Clinics in Poland. *J Community*

- Health. 2016 Jun;41(3):635-44. doi: 10.1007/s10900-015-0139-5. PubMed PMID: 26699149; PubMed Central PMCID:PMC4842211.
21. Abdela A, Woldu B, Haile K, Mathewos B, Deressa T. Assessment of knowledge, attitudes and practices toward prevention of hepatitis B virus infection among students of medicine and health sciences in Northwest Ethiopia. *BMC Res Notes*. 2016 Aug 19;9(1):410. doi: 10.1186/s13104-016-2216-y. PubMed PMID: 27543117.
 22. Brouard C, Gautier A, Saboni L, Jestin C, Semaille C, Beltzer N; KABP Francegroup. Hepatitis B knowledge, perceptions and practices in the French general population: the room for improvement. *BMC Public Health*. 2013 Jun 13;13:576. doi:10.1186/1471-2458-13-576. PubMed PMID: 23764171.
 23. Chemaitelly H, Abu-Raddad LJ, Miller FD. An apparent lack of epidemiologic association between hepatitis C virus knowledge and the prevalence of hepatitis C infection in a national survey in Egypt. *PLoS One*. 2013 Jul 29;8(7):e69803. doi: 10.1371/journal.pone.0069803. Print 2013. PubMed PMID: 23922806.
 24. Cruz HM, de Paula VS, Villar LM. A Cross-Sectional Study of Viral Hepatitis Perception among Residents from Southeast and North Regions of Brazil. *Int J Environ Res Public Health*. 2018 Jan 24;15(2). pii: E189. doi: 10.3390/ijerph15020189. PubMed PMID: 29364166.
 25. IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). 2018. [access on 09/03/2018]. Available: <https://www.ibge.gov.br/index.php>

26. Sood A, Midha V, Awasthi G. Hepatitis C--knowledge & practices among the family physicians. *Trop Gastroenterol.* 2002 Oct-Dec;23(4):198-201. PubMed PMID:12833713.
27. Joukar F, Mansour-Ghanaei F, Soati F, Meskinkhoda P. Knowledge levels and attitudes of health care professionals toward patients with hepatitis C infection. *World J Gastroenterol.* 2012 May 14;18(18):2238-44. doi:10.3748/wjg.v18.i18.2238. PubMed PMID: 22611318.
28. Ghahramani F, Mohammadbeigi A, Mohammadsalehi N. A survey of the students' knowledge about hepatitis in Shiraz University of Medical Sciences. *Hepat Mon.* 2006;6(2):59-62.
29. Polo D, Varela MF, Romalde JL. Detection and quantification of hepatitis A virus and norovirus in Spanish authorized shellfish harvesting areas. *Int J Food Microbiol.* 2015; 193:43-50. 2015 Jan 16;193:43-50. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.10.007. Epub. 2014 Oct 13. PubMed PMID: 25462922.
30. Cui W, Sun Y, Xu A, Gao R, Gong L, Zhang L, Jiang M.. Hepatitis E seroprevalence and related risk factors among seafood processing workers: a cross-sectional survey in Shandong Province, China. *Int J InfectDis.* 2016 Aug;49:62-6. doi: 10.1016/j.ijid.2016.05.028. Epub 2016 Jun 3. PubMed PMID:27265612.
31. ul Haq N, Hassali MA, Shafie AA, Saleem F, Farooqui M, Haseeb A, Aljadhey H. A cross-sectional assessment of knowledge, attitude and practice among Hepatitis-B patients in Quetta, Pakistan. *BMC Public Health.* 2013 May 6;13:448. doi: 10.1186/1471-2458-13-448. PubMed PMID: 23641704.

5.6. Material educativo: Folheto educativo

Os resultados apresentados são referentes ao seguinte objetivo: **Elaborar produtos para incremento ao acesso à informação sobre as hepatites virais;**

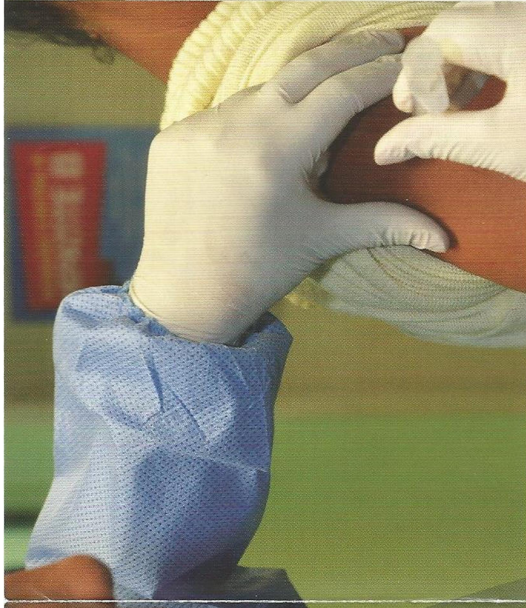
Situação: Impresso, divulgado e entregue à comunidade.

Foi desenvolvida uma estratégia de comunicação que pudessem servir como fontes de informação sobre as hepatites virais, resultando na produção de um folheto educativo. Este material didático foi desenvolvido a partir dos resultados obtidos com a aplicação de questionário entre pacientes atendidos no ambulatório de Hepatites Virais do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ.

O folheto foi elaborado com o intuito de ser entregue para a população como um todo, desta forma foi montado contendo informações gerais sobre as hepatites virais, seus sintomas, suas formas de prevenção, controle, diagnóstico e tratamento. Além disso, de acordo com as respostas dadas pelos respondedores dos questionários, foi possível observar os principais tópicos que precisavam ser abordados e as lacunas no conhecimento foram incluídas como informações úteis no folheto na tentativa de elucidar essas questões.

O QUE SÃO AS HEPATITES?

As hepatites virais consistem na inflamação do fígado. São causadas, principalmente, por cinco tipos de vírus (A, B, C, D e E). Alguns destes vírus podem agir silenciosamente por décadas sem a manifestação de sintomas. Quando o diagnóstico é feito tardiamente, o paciente pode apresentar um quadro avançado de cirrose ou câncer no fígado.



Tipos A e E

São transmitidas pela ingestão de água e alimentos contaminados com fezes e/ou esgoto contendo esses vírus. Em jovens e adultos a Hepatite A pode se apresentar de forma mais grave.

Como se pega?

- Bebendo água de torneira ou não filtrada contaminadas com o vírus
- Comendo verduras, legumes e frutos do mar contaminados com o vírus
- Ao entrar em contato com água de enchentes
- Tomando banho em cachoeira, praia ou piscina contaminadas
- Brincando com água de esgoto

Como prevenir?

- Filtrar e /ou ferver a água antes do consumo
- Cuidar da higiene pessoal, lavando as mãos após usar o banheiro, trocar fraldas, antes de comer e de preparar alimentos
- Lavar bem ou ferver os alimentos antes de serem consumidos
- Atualmente existe vacina disponível para Hepatite A (nos postos de saúde, indicada para crianças menores de dois anos de idade e em casos específicos de surtos da doença) e na rede particular

Tipos B, C e D

Os tipos B e C podem ser transmitidos pelo contato com sangue ou fluidos corporais infectados com os vírus. A hepatite do tipo B é considerada como DST (Doença Sexualmente Transmissível), pois o vírus pode ser transmitido pelo esperma e secreção vaginal. Além da transfusão de sangue contaminado, o tipo B pode ser transmitido da mãe infectada para o filho durante a gestação, o parto ou a amamentação. Já a hepatite D é mais comum na região amazônica do Brasil e depende da presença do vírus do tipo B para infectar uma pessoa, por isso, as suas características gerais são semelhantes.

Como se pega?

- Pelo uso de instrumentos contaminados, que não foram esterilizados ou descartados de forma correta, como materiais de manicure, dentistas, tatuagens, piercings e hemodialise
- Através de relação sexual sem uso de preservativos

Como prevenir?

- Tomar as três doses da vacina de Hepatite B (disponível na rede pública)
- Usar preservativo em todas as relações sexuais
- Não compartilhar escova de dente, lâminas, seringas e agulhas com outras pessoas
- Exigir material esterilizado/descartável nos serviços de saúde, para tatuagem, piercing e em consultórios dentários

Saiba mais

Quais são os sintomas das hepatites?

Em muitos casos, a pessoa pode não apresentar nenhum sintoma aparente. Mas naqueles indivíduos que apresentam sintomas, estes podem ser: dor de cabeça, febre baixa, falta de apetite, fraqueza muscular, mal estar semelhante a uma gripe, pele e olhos amarelados (chamada de icterícia), urina escura e fezes claras.

Como é feito o diagnóstico?

O hemograma não diagnostica as hepatites virais, apenas com exames de sangue específicos é possível saber se a pessoa está ou não com hepatite. Quanto mais cedo receber o diagnóstico, maior será a chance de cura.

Existe tratamento?

As hepatites virais têm tratamento, realizado com médicos especializados (infeccionistas, hepatologistas ou gastroenterologistas). É importante seguir as recomendações médicas para evitar quadros graves.



Informações úteis



As hepatites não são transmitidas pelo ar ou por insetos, como mosquitos.



Os familiares de pacientes diagnosticados com vírus da hepatite devem realizar o teste, pois a transmissão pode ocorrer por meio do compartilhamento de escovas de dente e outros utensílios, como alicates.



Caso o indivíduo tenha Hepatite B ou C e se corte com uma faca de cozinha, por exemplo, é necessário fazer a limpeza da área contaminada com água corrente e sabão. Em seguida, fazer um curativo. Caso seja um corte de maior extensão ou profundidade, deve-se procurar uma unidade de saúde para avaliação. Em ambos os casos, a faca deve ser limpa com água corrente e sabão e esterilizada com água sanitária por 10 minutos.



Não é necessário isolar pacientes que estão na fase aguda para hepatites A, B ou C. Algumas medidas de prevenção são recomendadas: usar preservativo em todas as relações sexuais, evitar beijo na boca e o compartilhamento de utensílios. As pessoas podem conviver normalmente com o indivíduo infectado por estes vírus.



Cada tipo de hepatite pode ser contraído apenas uma vez. Uma vez curado, o paciente cria defesas contra a doença.



O agravamento das hepatites virais pode causar cirrose e câncer de fígado.

Conteúdo: Lívia Villar e Helena Cruz - Lab. Hepatites Virais/IOC/Fiocruz
Redação: Vinícius Ferreira - Sejour/IOC/Fiocruz
Arte: Jefferson Mendes - Sejour/IOC/Fiocruz

Laboratório e Ambulatório de Hepatites Virais
Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz)

Campus da Fiocruz, em Manguinhos - RJ

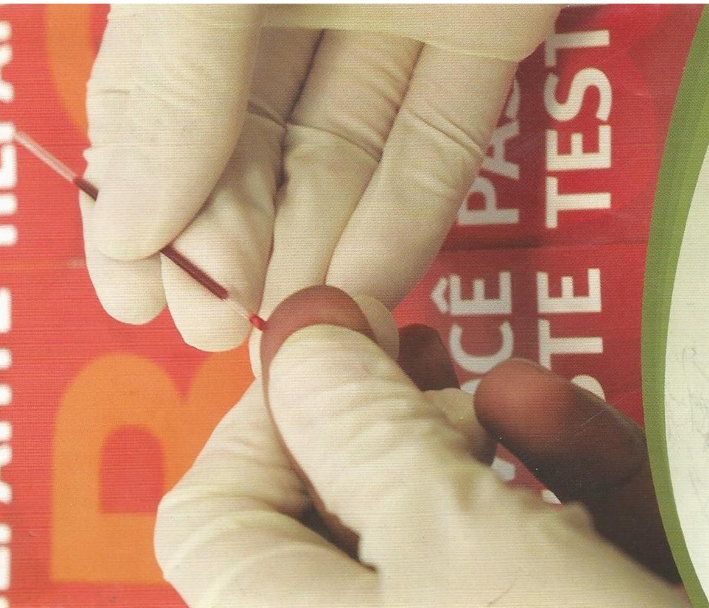
(Acesso pela Av. Brasil, 4.365 ou Rua Leopoldo Bulhões, 1.480)

Ministério da Saúde



IOC
Instituto Oswaldo Cruz

HEPATITE HEPAT



HEPATITES VIRAIS

6. DISCUSSÃO

6.1. Avaliação do uso de fluido oral e sangue seco em papel de filtro como espécimes clínicos alternativos ao diagnóstico e estudos de prevalência da Hepatite B

A utilização de espécimes clínicos alternativos ao soro fáceis de serem coletados e armazenados pode trazer benefícios ao acesso ao diagnóstico, especialmente entre populações em situações de pobreza ou que vivam em áreas remotas, garantindo a elas o acesso ao diagnóstico rápido e encaminhamento ao tratamento, quando necessário. Além disso, amostras de fluido oral e SSPF são mais fáceis de serem coletadas e seguras para quem realiza a coleta (Lee, Garon & Wong, 2009). Estudos prévios já avaliaram uso de fluido oral na detecção do marcador anti-HBc (Nokes *et al.*, 2001; Fisker *et al.*, 2002; Amado *et al.*, 2006; Flores *et al.*, 2017) e de SSPF na avaliação dos marcadores HBsAg, anti-HBc e anti-HBs (Forbi *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2011; Kania *et al.*, 2013; Villar *et al.*, 2011; Mössner *et al.*, 2016; Ross *et al.*, 2013; Boa-sorte *et al.*, 2014; Flores *et al.*, 2017). No entanto, é importante que essa avaliação seja feita em diferentes cenários a fim de observar a sua utilidade em diferentes localidades do Brasil.

Desta forma, o artigo 1 teve como objetivo aperfeiçoar e avaliar a detecção do marcador anti-HBc em amostras de fluido oral utilizando um EIE adaptado em diferentes populações. O melhor desempenho do ensaio foi observado em grupos de alta prevalência do HBV, em comparação aos outros grupos estudados. O artigo 2 teve como objetivo avaliar a detecção dos marcadores HBsAg, anti-HBc e anti-HBs utilizando amostras de SSPF em um EIE adaptado em diferentes populações, neste estudo, o desempenho variou de acordo com o marcador e grupo avaliados. Por fim, o artigo 3 teve como objetivo avaliar dois EIE comerciais, um adaptado para uso com SSPF e outro produzido para ser utilizado com essa amostra, na detecção do marcador HBsAg, sendo observada boa concordância do SSPF com o soro em ambos os EIEs.

Nos artigos 1 e 2, diferentes populações foram avaliadas, sendo incluídos grupos com alta prevalência de hepatite B (acompanhantes ou pacientes atendidos em ambulatórios de hepatites virais), grupos com baixa prevalência e indivíduos vulneráveis para aquisição do HBV (profissionais da área da beleza e usuários de crack). Esses mesmos grupos haviam sido avaliados em estudos de desempenho

de testes rápidos pelo nosso grupo (Scalioni *et al.*, 2014; Cruz *et al.*, 2015; Cruz *et al.*, 2017). Nos artigos 2 e 3, foram empregados EIEs comerciais para detecção de HBsAg, anti-HBc e anti-HBs que haviam sido avaliados em estudo prévio (Villar *et al.*, 2011) porém utilizando somente o grupo de pacientes atendidos no ambulatório de hepatites virais (FIOCRUZ). No artigo 3 também avaliamos o EIE específico para o SSPF (Imunoscreen HBsAg SS, MBIolog Diagnósticos) que é um teste comercial fabricado no Brasil.

No artigo 2, observamos melhor desempenho do teste de detecção de HBsAg em SSPF no grupo de ambulatório com valores de especificidade e sensibilidade acima de 84% e concordância com o soro de 77,3% enquanto que no artigo 3, os valores de sensibilidade encontrados foram mais elevados, 100,0% e 99,4% respectivamente no EIE comercial Diasorin adaptado e no EIE próprio para SSPF com uma concordância com os resultados do soro acima de 97,0% em ambos os ensaios. No artigo 3 foram incluídas amostras reagentes, provenientes do biobanco do laboratório de hepatites virais que apresentavam altos valores de DO, o que pode então, ter influenciado positivamente nos bons resultados obtidos.

Valores elevados de sensibilidade e especificidade também foram observados em estudos prévios utilizando ensaios adaptados para detecção do HBsAg em SSPF entre indivíduos de locais com alta prevalência de hepatite: valores acima de 85,0% foram observados em ambulatórios de hepatites virais no Brasil (Villar *et al.*, 2011; Flores *et al.*, 2017) e acima de 96,0% entre pacientes com HBV e HCV na Malásia (Lee *et al.*, 2011), entre indivíduos atendidos em Centro para AIDS em Burquina Faso (Kania *et al.*, 2013) e entre indivíduos provenientes de clínicas de reabilitações, bem como prisioneiros, pacientes com hepatites virais e doadores de sangue na Dinamarca (Mössner *et al.*, 2016). No nosso conhecimento, o EIE próprio para SSPF foi avaliado previamente em um único estudo entre grávidas no Brasil (Boa-sorte *et al.*, 2014) em que foi observada sensibilidade e especificidade de 100%. Um baixo número de amostras com a presença do marcador HBsAg (n=2) no estudo com grávidas poderia explicar os resultados um pouco melhores que o do presente trabalho.

No artigo 2, algumas análises foram realizadas a fim de observar diferenças com relação à sensibilidade do teste para o marcador HBsAg usando amostras de SSPF. A sensibilidade foi avaliada de acordo com a presença ou ausência do marcador anti-HBc; de acordo com a avaliação de amostras com o HBV DNA detectado e àquela independente da detecção ou não do HBV DNA. A sensibilidade

do teste utilizando amostras de SSPF na detecção do HBsAg foi maior quando as amostras apresentavam HBV DNA detectado (92.2%) e quando o marcador anti-HBc estava presente (91.6%). De acordo com os dados obtidos, foi possível observar melhor desempenho da detecção de HBsAg em SSPF nos casos de infecção ativa, com presença do HBV DNA e em pacientes com altos valores de DO.

No artigo 2 também foi avaliada a detecção do HBsAg utilizando amostras de SSPF em populações de baixa prevalência e com indivíduos vulneráveis para a aquisição do HBV. Entre os indivíduos vulneráveis, a sensibilidade foi de 80,0% e a especificidade de 96,2%, no entanto, a concordância com o soro foi de apenas 28,4%, o que provavelmente ocorreu pelo baixo valor preditivo positivo encontrado (33,3%), uma vez que esse valor é a probabilidade de um indivíduo avaliado e com resultado positivo ser realmente doente. Um alto número de indivíduos falso positivos (n=18) foi observado nessa população em comparação com o número de verdadeiro positivo (n=4). Desta forma, esse teste não apresentou bom desempenho para o diagnóstico do HBV nessa população.

Já o grupo de baixa prevalência apresentou os resultados de sensibilidade mais baixos para HBsAg em SSPF utilizando o EIE adaptado (37,5%), apesar dos altos valores de especificidade observados (92,7%). Esses resultados estão em desacordo com o que foi observado em estudos prévios para detecção do HBsAg em SSPF na Nigéria (78,6%) e Alemanha (98,6%) (Forbi *et al.*, 2010; Ross *et al.*, 2013). No entanto, algumas diferenças entre os estudos podem justificar os resultados, como por exemplo, número de amostras (cerca de 300 nos estudos prévios e de 1300 no presente estudo), tipos de ensaios utilizados nos estudos, bem como diferentes prevalências de HBV. Também é possível observar diferenças entre os achados da Nigéria e Alemanha entre si, mesmo sendo menores que as diferenças com presente estudo. Os resultados obtidos no presente estudo podem ter ocorrido devido ao baixo número de amostras positivas na população, menor concentração de antígeno ou ausência do HBV DNA nestas amostras, que não pôde ser realizado em todas as amostras de soro reagentes devido ao pouco volume do material. Os resultados observados indicam que essa amostra não é útil no diagnóstico do HBV na população em geral.

O marcador anti-HBc foi avaliado nos artigos 1 e 2 utilizando ensaios adaptados e em três diferentes grupos. No artigo 1 inicialmente foram realizadas avaliações com relação às modificações no protocolo do EIE comercial do fabricante Diasorin a fim de otimizar o desempenho do mesmo, uma vez que essa amostra

apresenta uma concentração de IgG substancialmente menor (média 300 vezes) quando comparada ao soro (Brandtzaeg, Fjellanger & Gjeruldsen, 1970; Soderling, 1989; Mortimer *et al.*, 1994; Amado-Leon *et al.*, 2015). Após estabelecido melhor protocolo de teste, o mesmo foi utilizado para detecção de anti-HBc em fluido oral nas três populações citadas anteriormente. Já o artigo 2 foi avaliado utilizando o EIE comercial Diasorin adaptado conforme determinado previamente (Villar *et al.*, 2011) utilizando amostras de SSPF nas três populações.

O desenvolvimento de testes para a detecção de marcadores para o diagnóstico de doenças infecciosas requer a otimização de inúmeros parâmetros para aumento da sensibilidade e especificidade. Esses parâmetros podem ser: tipo de tampão utilizado na eluição da amostra (Cruz *et al.*, 2011; Cruz *et al.*, 2012) diminuição da diluição da amostra aplicada ao teste (de Cock *et al.*, 2004), exclusão do passo de diluição (Amado *et al.*, 2006), aumento do volume da amostra e/ou tempo de incubação da amostra (Judd *et al.*, 2003; Hutse *et al.*, 2005). No artigo 1, os parâmetros avaliados no ensaio foram o tampão de eluição e volume de amostra aplicada ao teste. O tampão fosfato-salino com albumina de soro bovino à 0,5% (do inglês “phosphate buffer saline/ Bovine Serum albumin” – PBS/BSA 0,5%) apresentou melhor desempenho para detecção de anti-HBc em fluido oral, provavelmente devido à presença de albumina bovina que poderia evitar reações inespecíficas. O volume de amostra aplicada ao teste foi aumentado tal como realizado em estudos prévios (Judd *et al.*, 2003; Hutse *et al.*, 2005; Amado *et al.*, 2006; Cruz *et al.*, 2012), provavelmente devido a menor concentração de anticorpos presente em amostras de fluido oral em relação as amostras de soro.

O teste de detecção de anti-HBc em fluido oral e SSPF apresentou altos valores de especificidade (acima de 90%) nos 3 grupos avaliados. Elevados valores de especificidade também foram observados em estudos prévios na detecção do anti-HBc utilizando amostras de fluido oral (Nokes *et al.*, 2001; Fisker *et al.*, 2002; Amado *et al.*, 2006; Flores *et al.*, 2017) e SSPF (Villar *et al.*, 2011; Kania *et al.*, 2013; Mössner *et al.*, 2016; Flores *et al.*, 2017). Maiores valores de sensibilidade de detecção de anti-HBc foram observados em grupos de ambulatorios para Hepatites Virais tanto em fluido oral (70,6%) quanto em SSPF (80,8%). O grupo de ambulatorio apresenta um grande número de indivíduos com infecção ativa (HBsAg+/anti-HBc+) ou infecção passada (anti-HBc+/anti-HBs+) e isso, pode ter contribuído para os melhores resultados observados nessa população. Os resultados observados para o grupo de alta prevalência no artigo 1 estão em acordo

com os observados entre indivíduos monoinfectados por HBV ou coinfectados HBV/HIV no Brasil (82,4%) (Flores *et al.*, 2017) porém foram mais elevados que os valores observados entre indivíduos de ambulatórios no Brasil (13,0%) (Amado *et al.*, 2006). Nessa mesma população, no artigo 2, os resultados estão em acordo com resultados prévios em população de alta prevalência de hepatite B apresentando valores de sensibilidade acima de 76,0% e 90,0% no Brasil (Villar *et al.*, 2011; Flores *et al.*, 2017), de 98,0% em Burquina Faso (Kania *et al.*, 2013) e de 68,0% na Dinamarca (Mössner *et al.*, 2016).

No grupo com indivíduos vulneráveis, os valores de sensibilidade para detecção de anti-HBc foram de 57,1% em fluido oral e 63,9% em SSPF com uma concordância com o soro de 45,2% (fluido oral) e 75,2% (SSPF). Um estudo prévio com usuários de droga injetáveis utilizando amostras de fluido oral apresentou sensibilidade para anti-HBc mais elevada (85,9%) do que no presente estudo (Fisker *et al.*, 2002). Esses resultados indicam que as amostras de SSPF podem ser utilizadas em estudos de prevalência para hepatite B nessas populações enquanto as amostras de fluido oral não se mostraram bons espécimens para esse tipo de estudo. No grupo de baixa prevalência, foram observados baixos valores de sensibilidade para detecção de anti-HBc em ambos os fluidos: 30,7% (fluido oral) e 42,6% (SSPF).

Estudo prévio utilizando amostras de fluido oral na detecção do marcador anti-HBc em população rural da Etiópia apresentaram valores de sensibilidades semelhantes aos encontrados no presente estudo (43,0%) (Nokes *et al.*, 2001), enquanto estudos prévios utilizando amostras de SSPF na detecção do anti-HBc apresentaram valores de sensibilidade maiores do que os encontrados no presente estudo na população em geral da Alemanha (86,3%) (Ross *et al.*, 2013). Variações observadas entre os estudos podem ter ocorrido devido a quantidade de amostras avaliadas em cada estudo, tipo de coletor ou papel de filtro avaliado, teste empregado, valores de ponto de corte e mesmo prevalência da infecção nas populações estudadas.

Maiores valores de sensibilidade na detecção do anti-HBc em ambos os fluidos foram observados entre indivíduos com infecção ativa (HBsAg+/anti-HBc+) (92,7% e 98,4% em fluido oral e SSPF, respectivamente) quando comparados com aqueles com infecção passada (anti-HBc+/anti-HBs+) (37,0% e 45,8% em fluido oral e SSPF, respectivamente), uma provável queda nos títulos de anti-HBc ao longo dos anos, após a resolução da infecção poderia justificar esse achado. Estudos prévios

também demonstraram melhor desempenho de anti-HBc em fluido oral entre indivíduos provenientes de locais de alta prevalência (Fisker *et al.*, 2002) e entre aqueles com infecção ativa, apresentando sensibilidade de 90,5% quando somente indivíduos com infecção pelo HBV foram incluídos (Flores *et al.*, 2017).

Ao utilizar amostras de fluido oral, a sensibilidade da detecção do marcador anti-HBc também foi mais elevada no grupo de alta prevalência na ausência de indivíduos coinfetados com HCV e/ou HIV (90.9%) quando comparados com a presença dos mesmos na análise (70.6%). A mediana dos valores de DO das amostras de SSPF falso negativas foram superiores àqueles obtidos nas amostras de soro correspondente (por se tratar de um teste competitivo) tal como observado em estudos prévios (Mössner *et al.*, 2016; Flores *et al.*, 2017) nos quais foi sugerida uma interferência pela presença de HIV ou tratamento antirretroviral, o que não foi avaliado no nosso estudo. Até onde sabemos, estudos avaliando a interferência do HCV na detecção do anti-HBc em amostras de fluido oral ainda não foram realizados. Esses resultados demonstram a utilidade desse fluido para detecção de anti-HBc entre indivíduos com infecção ativa podendo encaminhá-los para a realização de testes complementares avaliando outros marcadores para fechar o diagnóstico de presença da infecção por HBV e iniciar do tratamento desses indivíduos.

Menores valores de sensibilidade para detecção de HBsAg e anti-HBc em fluido oral e SSPF foram observados em locais distantes do laboratório (Pantanal do Mato Grosso do Sul e Tocantins) (artigos 1 e 2). O armazenamento e envio do material podem ter influenciado nos resultados falso negativos encontrados. Esta também pode ser uma outra explicação para os baixos valores de sensibilidade encontrados na população em geral que apresentavam grupos provenientes de regiões distantes do laboratório. Esses resultados demonstram a importância da fase pré-analítica, tanto em fluido oral quanto SSPF, uma vez que o nível de antígenos e anticorpos pode sofrer alterações de acordo com as condições de coleta, armazenamento e transporte. Apesar de estudos prévios afirmarem que uma vantagem do SSPF em relação ao soro é que a amostra pode ser armazenada à temperatura ambiente por semanas sem degradação de ácidos nucleicos (Stene-Johansen *et al.*, 2016), estudos prévios de estabilidade de marcadores de hepatite B em SSPF e fluido oral já demonstraram a necessidade das amostras serem refrigeradas e armazenadas após o processamento, preferencialmente à -20°C e, o SSPF também deve ser depositado em saco hermeticamente fechado até o

momento dos testes (Villar *et al.*, 2011; Mayer *et al.*, 2012; Scalioni *et al.*, 2013) a fim de não ocorrerem diminuições no títulos de antígenos nas amostras.

No presente estudo observamos baixos valores de sensibilidade (58,4% a 65,5%) e especificidade (58,6% a 85,0%) para detecção de anti-HBs em SSPF. Estudos anteriores demonstraram valores de sensibilidade de 74,2%, 78,0% e 94,3% e de especificidade de 86,9%, 97,3% e 100,0% em grupos de ambulatorios no Brasil, entre pacientes e estudantes de medicina na Malásia e na população geral da Alemanha (Villar *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2011; Ross *et al.*, 2013), o que mais uma vez pode estar relacionado com as diferenças entre os estudos.

Maiores valores de sensibilidade de detecção de anti-HBs em SSPF foram observadas entre indivíduos com infecções prévias (anti-HBc+/anti-HBs+) (71,5%) em comparação com indivíduos com uma resposta vacinal (anti-HBc-/anti-HBs+) (55,7%) tal como observamos no desempenho do teste rápido para detecção de anti-HBs em soro (Cruz *et al.*, 2017). Este fato pode ter ocorrido devido aos baixos títulos de anti-HBs obtidos pela vacinação em diferentes circunstâncias. Além disso, melhor desempenho foi observado em amostras de SSPF com títulos de anticorpos acima de 100 UI/mL (86,7%) quando comparados com amostras com títulos de anticorpos abaixo de 100UI/mL (39,5%) tal como foi observado no desempenho do teste rápido para detecção de anti-HBs em soro (Cruz *et al.*, 2017). Essa elevada sensibilidade em indivíduos com altos níveis de anticorpos demonstram a utilidade deste teste na avaliação de não respondedores após o esquema vacinal.

A mediana dos valores de DO das amostras de SSPF falso negativas foram inferiores aos valores obtidos nas amostras de soro correspondentes demonstrando a menor concentração deste marcador pode interferir no resultado. O estudo prévio avaliando o teste de detecção de anti-HBs utilizando SSPF na população geral da Alemanha (Ross *et al.*, 2013) também observou menores valores de DO em amostras de SSPF, especialmente entre as amostras que foram falso negativas utilizando um teste automatizado (Abbott ARCHITECT). Além disso, Ross e colaboradores (2013) também observaram melhores valores de sensibilidade quando amostras HIV reagentes foram excluídas, estes dados não foram avaliados no presente estudo, no entanto a presença do HIV bem como a presença de HCV podem também ter interferido nos resultados do presente estudo.

O marcador anti-HBs no artigo 2 foi observado isoladamente em um baixo número de indivíduos, além disso, cerca de 50% dos participantes do estudo apresentavam suscetibilidade para infecção (HBsAg-, anti-HBc- e anti-HBs-) de

acordo com os dados dos testes sorológicos analisados. Muitos indivíduos não sabiam se já haviam sido vacinados e poucos reportaram terem sido vacinados. Baixa cobertura vacinal já foi reportada previamente, especialmente entre adolescentes e jovens adultos (Souto, 2016). Esse é um dado alarmante, e indica a necessidade de observar as falhas nas campanhas de vacinação ou aumentar a informação sobre a existência e necessidade da vacinação contra HBV.

O artigo 2 também avaliou a influência de características sócio-demográficas e de comportamentos de risco com a presença ou ausência dos marcadores HBsAg e anti-HBc tanto utilizando amostras de soro quanto amostras de SSPF na população de ambulatórios de Hepatites Virais. Essa avaliação foi realizada somente nesse grupo pelo alto número de indivíduos reagentes para esses marcadores presentes. História prévia de hepatite e vacinação para HBV foram associados com a presença de HBsAg e anti-HBc tanto no soro quanto no SSPF. Transfusão de sangue já foi previamente associado ao HBV em estudos controle realizados no Brasil e na Palestina (Nazzal & Sobuh, 2014; Pereira *et al.*, 2017). Tanto transfusão de sangue, quanto ter utilizado drogas ilícitas e ter tatuado conferiram proteção contra a infecção quando avaliado o HBsAg no presente estudo, o que é um achado não esperado. No entanto, como o grupo de ambulatório era composto por indivíduos encaminhados para ambulatórios de hepatites virais e incluíam indivíduos infectados pelo HCV, tais dados foram incluídos nos modelos intermediários. Quando tais fatores de confusão presumíveis foram introduzidos nos modelos, essas variáveis não permaneceram no modelo, provavelmente devido à confusão secundária à vacinação e outras medidas de proteção contra o HBV.

A utilização de amostras de fluido oral e SSPF pode aumentar a identificação de casos ativos de HBV que devem receber tratamento, essas amostras podem simplificar substancialmente e descentralizar os serviços de hepatite nessas áreas, ampliando o acesso aos cuidados (Soulie *et al.*, 2016).

Desta forma, foi possível concluir que o uso de amostras de fluido oral na detecção do anti-HBc e SSPF na detecção do HBsAg, anti-HBc e anti-HBs não são boas alternativas ao diagnóstico do HBV na população geral, no entanto, podem ser uma alternativa em locais de alta prevalência como ambulatórios de hepatites virais na detecção de anti-HBc em fluido oral e de HBsAg e anti-HBc em SSPF assim como na identificação de indivíduos que apresentam altos títulos de anti-HBs.

6.2. Avaliação do nível de conhecimento de diferentes populações sobre as hepatites virais.

Diferentes estudos já avaliaram o conhecimento das HV em grupos específicos, geralmente selecionados por apresentarem indivíduos vulneráveis ou infectados pelas HV (Joukar *et al.*, 2012, Ataei *et al.*, 2013; Mesfin e Kibret, 2013; Sacchetto *et al.*, 2013; ul Haq *et al.*, 2013; Villar *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2015). Já estudos com população em geral foram realizados em menor número (ul Haq *et al.*, 2012; Brouard *et al.*, 2013; Chemaitelly Abu-Raddad & Miller, 2013). Além disso, muitos destes estudos são realizados com somente um ou dois tipos de HV.

Os artigos 4 e 5 tinham como principal objetivo avaliar a percepção sobre as cinco HVs entre diferentes indivíduos da população em geral do Brasil. No artigo 4, a coleta de dados foi feita em um evento de saúde na região Sudeste e entre moradores de uma cidade do Norte do país. No artigo 5, a coleta foi realizada entre indivíduos de cinco diferentes populações: ambulatório HV no Rio de Janeiro, na região Sudeste, centros de saúdes em Curitiba, na região Sul, e em Fortaleza, na região Nordeste e comunidades carentes do Rio de Janeiro, na região Sudeste e no Piauí, na região Nordeste.

No artigo 4 observamos um conhecimento considerado fraco conforme determinado pelo estudo entre todos os indivíduos avaliados (média de acerto de $25,3 \pm 7,2$) enquanto no artigo 5, conhecimento baixo foi observado entre indivíduos atendidos na região Nordeste do Brasil (Fortaleza) e em comunidades carentes do Sudeste e Nordeste do país (Rio de Janeiro e Piauí). Enquanto conhecimento desejável foi observado nas populações atendidas em ambulatório de hepatite no RJ e em centro de saúde em Curitiba. Lacunas no conhecimento também foram observadas em estudos prévios entre indivíduos da população em geral no Paquistão que relatou falta de compreensão sobre controle e prevenção do HBV (ul Haq *et al.*, 2012) e na França, no que diz respeito à transmissão sexual, (Brouard *et al.*, 2013). Conhecimento considerado como desejável, conforme determinado pelo estudo foi observado no estudo de Chemaitelly e colaboradores (2013) na população geral do Egito sobre o HCV, provavelmente pelo alto número de casos dessa infecção no país.

O instrumento de coleta de dados utilizado para avaliar o conhecimento foi estruturado e utilizado primeiramente no artigo 4 e, em seguida o mesmo foi reformulado para a avaliação no artigo 5. Algumas questões foram reestruturadas e

mais informações sócio-demográficas foram incluídas. De forma geral, ambos os questionários continham perguntas sobre aspectos gerais das infecções, manifestações clínicas, riscos de aquisição da infecção, complicações, transmissão e prevenção. Apesar dos questionários entre os artigos apresentarem diferenças, o número de possíveis respostas certas foi próximo (47 no artigo 4 e 46 no artigo 5).

Observamos menor conhecimento (de acordo com a média de acertos) na cidade de Manaus (24.1 ± 7.0) no artigo 4 e na cidade de Nossa Senhora de Nazaré (Piauí) (25.0 ± 8.5) no artigo 5, em comparação com as outras populações avaliadas. O grupo com indivíduos provenientes de ambulatório de HVs assim como àqueles atendidos no centro médico de Curitiba foram os que apresentaram maior nível de conhecimento. O Estudo de Wu e colaboradores (2015) sobre HCV em pacientes infectados com este vírus, também demonstrou menor conhecimento na área rural da China quando comparado com indivíduos tanto da área urbana da China como dos EUA.

Em ambos os estudos do presente trabalho, a avaliação dos cinco tipos de HVs pode ter influenciado nos resultados, uma vez que nos dois artigos menos de 50% dos participantes reconheciam a existência de HDV e HEV. De fato, testes laboratoriais para diagnóstico de HEV não são realizados com grande frequência no Brasil, o que pode contribuir na falta de informação da população sobre essa infecção e até mesmo uma possível subnotificação dos casos. Um estudo prévio de Maniero e colaboradores (2012) entre enfermeiras no Brasil demonstrou um bom conhecimento relacionado as cinco HVs, o resultado provavelmente foi melhor do que o observado no presente estudo, por esse grupo apresentar maior conhecimento sobre essas infecções. A transmissão por frutos do mar também não foi citada pela maioria dos participantes em ambos os estudos e, uma vez que HAV e HEV podem ser transmitidos por essa via (Polo *et al.*, 2014; Cui *et al.*, 2016), o seu desconhecimento pode acabar por manter essa via de transmissão.

No artigo 4, questões sobre diagnóstico foram incluídas e, mais de 50% dos participantes em Manaus citaram a urina como material utilizado no diagnóstico. Apesar das HVs já terem sido detectadas em urina e outros fluidos corporais, tais como saliva, sêmen, leite materno, secreções vaginais, lágrimas entre outras (Komatsu *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2016), a urina não é ideal para diagnóstico das HVs (Wang *et al.*, 2014; Geng *et al.*, 2016) e sim amostras de sangue ou plasma.

A falta de sintomas ou o seu aparecimento tardio não foi reconhecido pela maioria dos participantes do estudo do artigo 4 tal como observado em estudo prévio

de Saleh e colaboradores sobre HCV no Egito (2014). No artigo 5, estas formas de apresentação das manifestações clínicas foram reconhecidas provavelmente devido a melhoria no programa de educação em saúde da população sobre sintomas das HVs ao longo dos anos entre o tempo de coleta de dados dos artigos 4 e 5.

Em ambos os cenários um nível maior de conhecimento foi observado entre indivíduos com ensino médio completo e com renda familiar mensal acima de três salários mínimos. Na análise bivariada, escolaridade e localidade foram associadas com o nível de conhecimento nos dois estudos. Estudos prévios também observaram associação da escolaridade (Amodio *et al.*, 2010; Brouard *et al.*, 2013; ul Haq *et al.*, 2013) e da localidade (ul Haq *et al.*, 2012; 2013; Wu *et al.*, 2015) com o nível de conhecimento sobre HV. Maior renda familiar mensal apresentou associação com maior nível de conhecimento no artigo 4, no entanto essa associação não foi observada no artigo 5 assim como não foi observada em estudos prévios (ul haq *et al.*, 2012; ul Haq *et al.*, 2013). Além disso, no artigo 5, outros dados sociodemográficos também foram avaliados e, foi possível observar associação de maior nível de conhecimento entre indivíduos brancos e entre indivíduos que viviam com menor número de pessoas na mesma casa.

No Brasil, o estudo de Maniero et al (2012) avaliando as hepatites virais entre enfermeiras também observou associação do conhecimento com localidade. Já o estudo de Villar e colaboradores (2014) avaliando conhecimento das hepatites A, B e C entre profissionais de beleza observou associação do conhecimento com a renda familiar mensal, mas não observou associação com escolaridade. Outros estudos no país avaliando hepatites virais em grupos variados não avaliaram a influência dos fatores sociodemográfico com o nível de conhecimento (Sacchetto *et al.*, 2013, Gonçalves & Gonçalves 2013, Delvaux *et al.*, 2013).

Mais da metade dos participantes em ambos os estudos conseguiram responder corretamente mais do que a média do número geral de acertos. Erros foram observados em todos os grupos de perguntas. Em ambos os cenários também foi possível observar que apesar de responderem corretamente questões sobre transmissão, prevenção e vacinação, por exemplo, esses mesmos indivíduos não eram capazes de identificar qual tipo de hepatite estava relacionada a essas mesmas questões. por exemplo, apesar de muitos participantes afirmarem que as HVs podem ser transmitidas por contato com sangue contaminado, muitos não sabiam que essa transmissão ocorre para HBV, HCV e HDV. Strong *et al.* (2015) afirma que o desconhecimento sobre as rotas de transmissão pode aumentar o

estigma relacionado a essas infecções e influenciar diretamente na transmissão dessas doenças.

No artigo 5, foram incluídas questões sobre transmissão de HVs por mosquito e pelo ar e suas prevenções. A maioria dos participantes considerou mosquito como forma de transmissão e em muitos casos essa confusão pode ter ocorrido com relação à doenças como dengue, Zika e febre amarela que tem essa via de transmissão e têm grande divulgação na mídia do país. Com relação à transmissão pelo ar, a maioria não acredita se tratar de uma forma de transmissão das HVs, no entanto, o uso de máscaras para evitar contaminação pelo ar foi considerado como medida de prevenção pela maioria dos participantes. Esses dados demonstram que em muitos casos os indivíduos não são capazes de associar causa e efeito o que pode influenciar negativamente na prevenção das infecções (Strong *et al.* 2015).

A existência da vacina para HVs também foi avaliada neste estudo e esta foi reportada por mais de 60,0% e 80,0% dos participantes nos artigos 4 e 5, respectivamente. Além disso, o conhecimento sobre a existência de vacina específica para HAV e HBV foi reportada por 14,3% e 58,8% dos participantes nos artigos 4 e 5, respectivamente. Apesar das diferenças entre as populações, foi possível observar um aumento no conhecimento do fornecimento destas vacinas. Esse dado pode estar relacionado com as modificações no fornecimento das vacinas entre um artigo e outro, a vacina do HBV passou a ser oferecida em 2015 para indivíduos com até 49 anos de idade (atualmente a vacina já é ofertada para toda a população) e a vacina contra HAV foi incluída no calendário infantil no ano de 2014 (Aids.gov, 2018). Apesar disso, ainda há desconhecimento da existência dessas vacinas, o que é alarmante.

Algumas limitações nos estudos foram observadas: ausência de informação sobre bairros dos indivíduos para análise mais específica, grande diversidade de ocupações ou não acesso a todas as ocupações, não sendo possível a categorização das profissões e observações de sua associação com o nível de conhecimento. O artigo 4, foi realizado em 2009 e, como medidas em saúde pública foram realizadas após sua aplicação, diferenças de avaliação podem se dar por este motivo. No artigo 5, não foi obtida informação se os pacientes do ambulatório e dos centros médicos haviam sido consultados antes da entrevista, o que poderia ter causado alguma variação no conhecimento.

Ao final da coleta e análise de dados sobre o conhecimento das HVs na população de ambulatório de hepatites virais do artigo 5, observamos a necessidade

de elaborar um material educativo para incremento do conhecimento sobre hepatites virais contendo informações gerais sobre prevenção, transmissão, sintomas, tratamento e diagnóstico das hepatites virais e algumas informações úteis que foram as principais dúvidas observadas na análise do questionário, como a não transmissão por mosquito e pelo ar. O folheto educativo foi produzido, impresso e entregue inicialmente no evento de combate às Hepatites Virais em Julho de 2016 na Fiocruz e continua sendo empregado para a disseminação do conhecimento de HVs entre pacientes e seus acompanhantes no ambulatório de HVs. Além disso, o folheto também está sendo distribuído entre a população em geral em eventos de coleta de amostras biológicas realizadas pelo laboratório de Hepatites Virais da Fiocruz. O folheto educativo é uma ferramenta que pode ser útil na divulgação de informações sobre essas infecções, auxiliando na diminuição dos casos de HVs. No entanto, se faz necessária a avaliação desse material. Desta forma, uma perspectiva seria avaliar em um estudo futuro, o impacto do folheto educativo no incremento ao acesso à informação sobre as hepatites virais.

Como conclusões, observamos a dificuldade dos participantes com algumas questões gerais demonstrando conhecimento abaixo do desejável conforme determinado pelo estudo, especialmente entre àqueles indivíduos que residem em áreas desprivilegiadas. Esses achados demonstram a importância dos programas de educação em saúde e da educação formal, visto que maior nível de escolaridade foi associado com maior nível de conhecimento. Os dados obtidos nos artigos 4 e 5 podem fomentar o combate às HVs por órgãos competentes.

6.3. Contribuição do presente estudo ao Plano Brasil sem Miséria

O Plano Brasil sem Miséria foi criado no ano de 2011 e é um programa social do governo federal Brasileiro direcionado aos brasileiros que vivem em lares com renda familiar mensal de R\$77,00 e com o desafio de superar a extrema pobreza (Brasil, 2016). A presente tese se insere no eixo do Plano BSM nos temas: Saúde- doenças associadas à pobreza e Educação- capacitação e qualificação da população em extrema pobreza entre 18 e 59 anos.

Em 2010, o IBGE demonstrou que a cobertura por plano de saúde está positivamente relacionada ao rendimento mensal domiciliar per capita, além de evidenciar que o acesso aos serviços de saúde é influenciado pela condição social e localização geográfica, demonstrando que indivíduos que residem em regiões

menos desenvolvidas utilizam menos os serviços de saúde. Desta maneira há a necessidade de intensificar o acesso destas populações aos serviços de saúde que são importantes no controle e erradicação de doenças infecciosas.

O diagnóstico do HBV é fundamental na identificação dos casos agudos e crônicos, especialmente no que diz respeito ao encaminhamento para o tratamento de indivíduos infectados, reduzindo o risco de desenvolvimento de cirrose e/ou câncer hepático (Ministério da Saúde, 2016). O presente estudo foi realizado em diferentes regiões do país, incluindo áreas remotas com populações disprevidadas (renda familiar mensal abaixo de R\$77,00), na avaliação da detecção de marcadores do HBV em amostras de fluido oral e sangue seco em papel de filtro, que são mais fáceis de serem coletadas e melhor aceitas que a coleta de soro. Somado ao diagnóstico do HBV, a avaliação do conhecimento sobre questões relacionadas à transmissão, prevenção e sintomas das HVs em diferentes populações pode contribuir positivamente na criação futura de estratégias de redução dessas infecções, que são uma das principais causas de doenças infecciosas que podem levar ao óbito no mundo (WHO, 2018).

Ao fim do estudo, conseguimos determinar que amostras de fluido oral e SSPF podem ser utilizadas na triagem e em estudos de prevalência em populações com alta prevalência, como é o caso do grupo de ambulatórios para detecção do marcador HBsAg (SSPF) e na detecção do marcador anti-HBc (SSPF e fluido oral) especialmente entre indivíduos com infecção ativa. A utilização desses espécimens pode contribuir para um diagnóstico mais rápido em regiões com condições de vida precárias, como é o caso do público alvo do Programa Brasil sem Miséria.

Também foi observado conhecimento adequado de populações provenientes de ambulatórios de hepatites e centros médicos destinados para testagens de ISTs, o que pode ter ocorrido devido a conhecimento prévio sobre as hepatites nessas populações e baixo nível de conhecimento na população geral, especialmente em comunidades carentes, demonstrando a necessidade de reforçar informações sobre prevenção das HVs especialmente entre populações alvo do Brasil sem Miséria.

Os resultados obtidos podem contribuir com melhorias no serviço de assistência e vigilância e auxiliar na informação, prevenção e controle da infecção dessas infecções. A diminuição de suas prevalências podem contribuir também na diminuição dos custos para o SUS, permitindo utilização dos recursos com outras necessidades da população, especialmente a de baixa renda.

7. CONCLUSÕES

- Foi possível adaptar um EIE comercial para detecção do marcador anti-HBc em fluido oral entre indivíduos de ambulatório de HV. Maior sensibilidade foi observada entre amostras de pacientes com infecção ativa. Baixa sensibilidade foi observada na população geral e em grupos vulneráveis, demonstrando que esta amostra pode ser uma alternativa se usada em locais de alta prevalência como ambulatórios de HVs;
- A detecção dos marcadores HBsAg e anti-HBc utilizando amostras de SSPF foi inadequada na população geral, porém boa concordância entre soro e SSPF foi obtida em grupos de ambulatório para ambos os marcadores e em grupos vulneráveis para o marcador anti-HBc. Além disso, melhores resultados de sensibilidade foram obtidos entre indivíduos com infecção ativa em ambos os marcadores. Esses dados demonstram que SSPF não é uma boa alternativa ao diagnóstico do HBV, mas pode funcionar como ferramenta de triagem especialmente em populações com alta prevalência, como ambulatórios de HVs;
- A detecção do marcador anti-HBs utilizando amostras de SSPF em comparação com os resultados obtidos em amostras de soro foi inadequada nos três grupos avaliados, deste modo, este fluido não é útil para identificar imunidade para HBV em diferentes perfis de indivíduos. No entanto, pode ser aproveitado para avaliação da resposta vacinal;
- Boa concordância entre o EIE adaptado e o desenvolvido para o uso com SSPF foi observada na detecção do marcador HBsAg quando amostras com altos títulos de antígeno foram testadas, validando a utilização do SSPF em ambos tipos de EIE como método de triagem para diagnosticar infecções por HBV, especialmente entre indivíduos com altas concentrações de antígenos;

- O nível de conhecimento sobre as Hepatites Virais teve associação positiva com o nível de escolaridade dos participantes. Conhecimento abaixo do desejável foi observado entre todos os participantes na avaliação no Rio de Janeiro e Manaus e entre indivíduos de Fortaleza e de áreas carentes do Piauí e Rio de Janeiro, enquanto nível de conhecimento desejável foi obtido nas populações de ambulatório no Rio de Janeiro e de centro médico em Curitiba. Esses achados demonstram a necessidade de melhorar o nível de conhecimento na população em geral, especialmente entre indivíduos que residem em áreas carentes bem como aumentar o acesso à educação formal da população e investir em programas de educação em saúde como fontes de informação sobre as hepatites virais, podendo auxiliar em uma diminuição do número de casos destas infecções;
- Foi desenvolvido um folheto educativo para ser entregue à toda população, a partir das respostas dos participantes em grupo de ambulatório. O folheto contou com informações gerais sobre as hepatites virais e as principais dúvidas observadas pelos participantes foram elucidadas no material

8. RECOMENDAÇÕES DO ESTUDO

Recomendação 1: Na avaliação do uso de fluido oral como substituto ao soro na detecção do marcador anti-HBc, melhores resultados foram observados entre indivíduos provenientes de ambulatório de hepatites virais e entre aqueles que apresentavam infecção ativa. Desta forma, recomendamos a utilização do fluido oral apenas para triagem de indivíduos infectados atendidos em ambulatórios de regiões com acesso difícil ou com poucos recursos para testes sorológicos.

Recomendação 2: Dados obtidos no estudo utilizando amostras de SSPF como substituto ao soro na detecção dos marcadores HBsAg, anti-HBc e anti-HBs:

- A partir da concordância entre amostras de SSPF e soro entre indivíduos provenientes de ambulatório e entre aqueles que apresentaram infecção ativa pelo HBV na detecção dos marcadores HBsAg e anti-HBc recomendamos a utilização do SSPF na triagem e em estudos de prevalência destes marcadores em ambulatórios de hepatites;
- Boa concordância também foi observada para o marcador anti-HBc entre indivíduos vulneráveis, desta forma, recomendamos a utilização do SSPF na triagem do marcador anti-HBc nesse grupo, tais como, usuários de drogas não injetáveis e profissionais de beleza;
- Valores de sensibilidade para o marcador anti-HBs foram melhores entre indivíduos que apresentavam altos títulos de anticorpos, desta forma recomendamos a utilização de SSPF apenas na avaliação da resposta vacinal.

Recomendação 3: Dados obtidos nos estudos sobre conhecimento de HVs

- A partir dos resultados observados, especialmente entre indivíduos de áreas carentes, recomendamos a utilização dos resultados como fonte de dados para projeção de métodos de intervenção em saúde e políticas de saúde pública, como folheto educativo, palestras em escolas, campanhas de saúde, entre outros.

9. REFERÊNCIAS

- Abdela A, Woldu B, Haile K, Mathewos B, Deressa T. Assessment of knowledge, attitudes and practices toward prevention of hepatitis B virus infection among students of medicine and health sciences in Northwest Ethiopia. *BMC Res Notes*. 2016 Aug 19;9(1):410.
- Adoba P, Boadu SK, Agbodzakey H, Somuah D, Ephraim RK, Odame EA. High prevalence of hepatitis B and poor knowledge on hepatitis B and C viral infections among barbers: a cross-sectional study of the Obuasi municipality, Ghana. *BMC Public Health*. 2015 Oct 11;15:1041.
- Aggarwal R, Goel A. Hepatitis A: epidemiology in resource-poor countries. *Curr Opin Infect Dis*. 2015;28(5):488-96.
- AIDS.gov [Homepage na internet]. O que são Hepatites virais. [acesso 21 Abr 2018] Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/publico-geral/o-que-sao-hepatites-virais>
- Al-Hazmi AH. Knowledge, attitudes and practice of dentists concerning the occupational risks of hepatitis B virus in Al Jouf Province, Saudi Arabia. *Niger J Clin Pract*. 2015 Mar-Apr;18(2):276-81.
- Alidjinou EK, Moukassa D, Sane F, Nyenyeli ST, Akoko EC, Mountou MV, et al. Detection of hepatitis B virus infection markers in dried plasma spots among patients in Congo-Brazzaville. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014;78(3):229–31.
- Almeida JD, Rubenstein D, Stott EJ. New antigen-antibody system in Australia-antigen-positive hepatitis. *Lancet*. 1971 Dec 4;2(7736):1225-7.
- Amado LA, Villar LM, de Paula VS, de Almeida AJ, Gaspar AM. Detection of Hepatitis A, B and C virus-specific antibodies using oral fluid for epidemiological studies. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006;101(2): 149-155.
- Amado Leon LA, de Almeida A J, de Paula VS, Tourinho RS, Villela DA, Gaspar AM, et al. Longitudinal study of Hepatitis A infection by saliva sampling: the kinetics of HAV markers in saliva revealed the application of saliva tests for Hepatitis A study. *PLoS One*. 2015 Dec 21;10(12):e0145454.
- Amodio E, Di Benedetto MA, Gennaro L, Maida CM, Romano N. Knowledge, attitudes and risk of HIV, HBV and HCV infections in hairdressers of Palermo city (South Italy). *Eur J Public Health* 2010; 20:433–437.
- Andrade AP, Pacheco SD, Silva FQ, Pinheiro LM, Castro JA, Amaral CE, et al. Characterization of hepatitis B virus infection in illicit drug users in the Marajó Archipelago, northern Brazil. *Arch Virol*. 2017;162(1):227-233.
- Annesley TM. It's about the journey, Not the destination: The birth of radioimmunoassay. 1960. *Clin Chem*. 2010 Apr;56: 671-2

- Arora G, Sheikh S, Pallagatti S, Singh B, Singh VA, Singh R. Saliva as a tool in the detection of hepatitis B surface antigen in patients. *Compend Contin Educ Dent*. 2012;33:174–176, 178; quiz 180, 182.
- Ataei B, Shirani K, Alavian SM, Ataie M. Evaluation of knowledge and practice of hairdressers in women's beauty salons in Isfahan about hepatitis B, hepatitis C, and AIDS in 2010 and 2011. *Hepat Mon* 2013; 13:e6215.
- Bancroft WH, Snitbhan R, Scott RM, Tingpalapong M, Watson WT, Tanticharoenyos P, Karwacki JJ, Srimarut S. Transmission of hepatitis B virus to gibbons by exposure to human saliva containing hepatitis B surface antigen. *J Infect Dis*. 1977 Jan;135(1):79-85.
- Befeler AS, Di Bisceglie AM. Hepatitis B. *Infect Dis Clin North Am*. 2000 Sep; 14(3):617-32.
- Bell BP, Feinstone SM. Hepatitis A vaccine. In: Plotkin SA, Oreinstein WA, eds. *Vaccines*. 4^a ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2004. 269–297.
- Bernieh B. Viral hepatitis in hemodialysis: An update. *J Transl Int Med*. 2015;3(3):93-105.
- Besharat S, Katoonizadeh A, Moradi A Potential mutations associated with occult hepatitis B virus status. *Hepat Mon*. 2014;14: e15275.
- Blumberg BS. The Curiosities of Hepatitis B Virus, Prevention, Sex Ratio, and Demography. *Proc Am Thor Soc*. 2006. 3: 14-20.
- Blumberg BS, Alter HJ, Visnich A. A "new" antigen in leukemia sera. *JAMA* 1965 Feb; 191: 541-546.
- Boa-sorta N, Purificacao A, Amorim T, Assuncao L, Reis L, Galvao-Castro B. Dried blood spot testing for the antenatal screening of HTLV, HIV, syphilis, toxoplasmosis and hepatitis B and C: prevalence, accuracy and operational aspects. *Braz J Infect Dis* 2014; 8 18 (6): 618-624.
- Bosch A, Guix S, Sano D, Pintó RM. New tools for the study and direct surveillance of viral pathogens in water. *Curr Opin Biotechnol*. 2008 Jun;19(3):295-301.
- Bradshaw D, Matthews G, Danta M. Sexually transmitted hepatitis C infection: the new epidemic in MSM? *Curr Opin Infect Dis*. 2013 Feb;26(1):66-72.
- Brandtzaeg P, Fjellanger I, Gjeruldsen ST. Human secretory immunoglobulins. Salivary secretions from individuals with normal or low levels of serum immunoglobulins. *Scand J Haematol*. 1970; 12 (Suppl.):1–83.
- Brouard C, Gautier A, Saboni L, Jestin C, Semaille C, Beltzer N; KABP France group. Hepatitis B knowledge, perceptions and practices in the French general population: the room for improvement. *BMC Public Health*. 2013 Jun 13;13:576.
- Brown BS, Klapper PE, Guiver M. Development of diagnostic serological and molecular screening from dried blood spots for HCV, HIV, HBV and syphilis.

Programme and abstracts of European Society for Clinical Virology (ESCV) winter meeting. *J Clin Virol.* 2012;44:S27–S28.

Caligiuri P, Cerruti R, Icardi G, Bruzzone B 2016. Overview of hepatitis B virus mutations and their implications in the management of infection. *World J Gastroenterol.* 7;22(1):145-54

Carvalho OMRS, Matos MA, Martins RMB, Pinheiro RS, Caetano KAA, Souza MM et al . Prevalência, fatores de risco e imunização contra a hepatite B: ajudando a preencher as lacunas na epidemiologia da hepatite B entre pessoas em situação de rua em Goiânia, Goiás, Brasil. *Cad. Saúde Pública.* 2017; 33(7).

Castagnola M, Picciotti PM, Messana I, Fanali C, Fiorita A, Cabras Tn, et al. Potential applications of human saliva as diagnostic fluid. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2011 Dec;31(6):347-57. Review.

Částková J, Benes C. Increase in hepatitis A cases in the Czech Republic in 2008 - an update. *Euro Surveill.* 2009 Jan 22;14(3). pii: 19091.

CDC. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. Atkinson W, Hamborsky J, Wolfe S, eds. 12th ed. Washington DC: Public Health Foundation; 2012.

CDC [homepage na internet]. Viral Hepatitis. [atualizada em: 31 Mai 2015; acesso em 27 Nov 2017]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/hepatitis/index.htm>

Chang JJ, Lewin SR. Immunopathogenesis of hepatitis B virus infection. *Immunol Cell Biol* 2007;85(1):16e23.

Chemaitelly H, Abu-Raddad LJ, Miller FD. An Apparent lack of epidemiologic association between Hepatitis C virus knowledge and the prevalence of hepatitis C Infection in a national survey in Egypt. Jhaveri R, ed. *PLoS ONE.* 2013;8(7):e69803.

Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF. Saliva specimen: A new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clin Chim Acta* 2007; 383: 30–40.

Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989 Apr 21; 244(4902):359-62.

Cockayne EA. 1912. Catarrhal jaundice, sporadic and epidemic, and its relation to acute yellow atrophy of the liver. *Q J Med os6* (1): 1-29.

Cortes VF, Taveira A, Cruz HM, Reis AA, Cezar JS, Silva BS, et al. Prevalence of Hepatitis B and C virus infection among alcoholic individuals: importance of screening and vaccination. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2017;59:e47.

Cruz HM, Silva EF, Villela-Nogueira CA, Nabuco LC, do Ó KM, Lewis-Ximenez LL, et al. Evaluation of Saliva Specimens as an Alternative Sampling Method to Detect Hepatitis B Surface Antigen. *J Clin Lab Anal.* 2011;25: 134–141.

Cruz HM, Marques VA, Villela-Nogueira CA, do Ó KM, Lewis-Ximenez LL, Lampe E, *et al.* An evaluation of different saliva collection methods for detection of antibodies against hepatitis C virus (anti-HCV). *J Oral Pathol Med.* 2012 Nov;41(10):793-800.

Cruz HM, Scalioni Lde P, de Paula VS, da Silva EF, do Ó KM, Milagres FA, *et al.* Evaluating HBsAg rapid test performance for different biological samples from low and high infection rate settings & populations. *BMC Infect Dis.* 2015 Nov 30;15:548.

Cruz HM, Scalioni LP, Paula VS, Miguel JC, Ó KM, Milagres FA, *et al.* Poor sensitivity of rapid tests for the detection of antibodies to the hepatitis B virus: implications for field studies. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2017 Mar;112(3):209-213.

Cui,W.; Sun, Y.; Xu, A.; Gao, R.; Gong, L.; Zhang, L.; *et al.* Hepatitis E seroprevalence and related risk factors among seafood processing workers: A cross-sectional survey in Shandong Province, China. *Int. J. Infect. Dis.* 2016, 49, 62–66.

Dan Y, Zhang Y, Cheng L, Ma J, Xi Y, Yang L, *et al.* Hepatitis B virus X protein (HBx)-induced abnormalities of nucleic acid metabolism revealed by (1)H-NMR-based metabolomics. *Sci Rep.* 2016;14;6:24430.

Dandri M, Locarnini S. New insight in the pathobiology of hepatitis B virus infection. *Gut.* 2012 May;61 Suppl 1:i6-17.

Dandri M, Petersen J. HBV virology in Mauss, Berg, Rockstroh, Sarrazin, Wedemeyer editors. *Hepatology: A clinical textbook.* 8^a ed. Hamburgo. Druckerei Heinrich GmbH; 2017.p. 85-196.

Datta S, Chatterjee S, Veer V, Chakravarty R. Molecular biology of the hepatitis B virus for clinicians. *J Clin Exp Hepatol* 2012; 2: 353-365.

Dane DS, Cameron CH, Briggs M. Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. *Lancet.* 1970 Apr 4;1(7649):695-8.

de Cock, L.; Hutse, V.; Verhaegen, E.; Quoilin, S.; Vandenberghe, H.; vranckx, R. Detection of HCV antibodies in oral fluid. *Journal of Virological Methods.* 2004 dez;122(2), 179-183.

de Franchis R, Hadengue A, Lau G, Lavanchy D, Lok A, McIntyre N, *et al.* EASL International Consensus Conference on Hepatitis B. *J Hepatol.* 2003; 39 (1):S3-25.

de Matos, MAD. Estudo epidemiológico e molecular da infecção pelo vírus da hepatite B em Afrodescendentes de comunidade isolada no Estado de Goiás (Kalungas). [Tese de doutorado]. Universidade Federal de Goiás;. 2007.

de Paula VS, Baptista ML, Lampe E, Niel C, Gaspar AM. Characterization of hepatitis A virus isolates from subgenotypes IA and IB in Rio de Janeiro, Brazil. *J Med Virol.* 2002 Jan;66(1):22-7.

Debing Y, Moradpour D, Neyts J, Gouttenoire J. Update on hepatitis E virology: Implications for clinical practice. *J Hepatol.* 2016 Jul;65(1):200-212.

- Delvaux N, Paula VS, Espírito-Santo MP, Silva EF, Miguel JC, Oliveira JC, *et al.* Knowledge about viral hepatitis among participants of Gay Pride Event in Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2013; 17(3):377-8
- Diel R, Schneider S. Transmission of hepatitis A in hamburg, germany, 1998-1999--A prospective population based study. *Eur J Epidemiol.* 2001;17(2):175-82.
- Dienstag JL. Hepatitis B Virus Infection. *N Engl J Med.* 2008;359:1486-500.
- Diepersloot RJ, van Zantvliet-van Oostrom Y, Gleaves CA. Comparison of a chemiluminescent immunoassay with two microparticle enzyme immunoassays for detection of hepatitis B virus surface antigen. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000; 7: 865-866
- Dokubo EK, Evans J, Winkelman V, Cyrus S, Tobler LH, Asher A, *et al.* Comparison of Hepatitis C Virus RNA and antibody detection in dried blood spots and plasma specimens. *J Clin Virol.* 2014 Apr;59(4):223-7.
- Duncan BB, Chor D, Aquino EML, Bensenor IM, Mill JG, Schmidt MI, *et al.* Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil: prioridade para enfrentamento e investigação. *Rev Saude Publica.* 2012; 46(Supl. 1):126-134.
- Dwyre DM, Fernando LP, Holland PV. Hepatitis B, hepatitis C and HIV transfusiontransmitted infections in the 21st century. *Vox Sang* 2011; 100: 92-98.
- Eguchi H, Wada K Knowledge of HBV and HCV and individuals' attitudes toward HBV- and HCV-infected colleagues: a national cross-sectional study among a working population in Japan. *PLoS One.* 2013; 8(9):e76921
- El Chaar M, Candotti D, Crowther RA, Allain JP Impact of hepatitis B virus surface protein mutations on the diagnosis of occult hepatitis B virus infection. *Hepatology.* 2010;52: 1600-1610.
- Farghaly AM, Kotkat AM. Study of the sensitivity of blood spotted on filter paper in the detection of HBsAg and anticore using ELISA technique. *J Egypt Public Health Assoc.* 1990;65(3-4):391-400.
- Farzadegan H, Noori KH, Ala F. Detection of hepatitis-B surface antigen in blood and blood products dried on filter paper. *Lancet.* 1978;1(8060):362-3.
- Fernandes, CNS, Alves, MM, Souza, ML, Machado, GA, Couto, G, Evangelista, RA. Prevalence of hepatitis B and C seropositivity in pregnant women. *Revista da Escola de Enfermagem da USP.* 2014;48(1), 89-96.
- Ferreira, MS. Diagnóstico e tratamento da Hepatite B. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2000;33(4): 389-400.
- Findlay GM, MacCallum FO. An interference phenomenon in relation to yellow fever and other viroses. *J. Path. Bact.* 1937;44(2):405-424.

Fisker N, Georgsen J, Stolborg T, Khalil MR, Christensen PB. Low hepatitis B prevalence among pre-school children in Denmark: saliva anti-HBc screening in day care centres. *J Med Virol*. 2002 Dec;68(4):500-4.

Flores GL, Cruz HM, Potsch DV, May SB, Brandão-Mello CE, Pires MMA, *et al*. Evaluation of HBsAg and anti-HBc assays in saliva and dried blood spot samples according HIV status. *J Virol Methods*. 2017 Sep;247:32-37.

Focaccia R, Sette Junior H, Conceicao OJ. Hepatitis E in Brazil. *Lancet*. 1995;346(8983):1165.

Focaccia R. Tratado de hepatites virais e doenças associadas. 3. Ed. Editora Atheneu, São Paulo; 2013.

Fonseca, JCF. Histórico das hepatites virais. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*. 2010 mai-jun; 43(3):322-330,

Forbi JC, Obagu JO, Gyar SD, Pam CR, Pennap GR, Agwale SM. Application of dried blood spot in the sero-diagnosis of hepatitis B infection (HBV) in an HBV hyper-endemic nation. *Ann Afr Med*. 2010;9:44–45.

Fourati S, Pawlotsky J-M. Recent advances in understanding and diagnosing hepatitis B virus infection. *F1000Research*. 2016;5:F1000 Faculty Rev-2243.

Franco E, Meleleo C, Serino L, Sorbara D, Zaratti L. Hepatitis A: Epidemiology and prevention in developing countries. *World J Hepatol*. 2012;4(3):68-73.

Ganczak M, Dmytryk-Daniłow G, Korzeń M, Drozd-Dąbrowska M, Szych Z. Prevalence of HBV infection and knowledge of Hepatitis B among patients attending primary Ccare clinics in poland. *J Community Health*. 2016 Jun;41(3):635-44.

Ganem D, Varmus HE. The molecular biology of the hepatitis B viruses. *Annu Rev Biochem*. 1987;56:651-93. Review. PubMed PMID: 3039907.

Geng, Y.; Zhao, C.; Huang, W.; Harrison, T.J.; Zhang, H.; Geng, K., *et al*. Detection and assessment of infectivity of hepatitis E virus in urine. *J. Hepatol*. 2016;64, 37–43.

Gerlich WH Medical virology of hepatitis B: how it began and where we are now. *Virology*. 2013;10:239.

Glanz K, Rimer BK, Lewis FM. Health Behavior and Health Education: Theory, Research and Practice. 3rd ed. San Francisco. Calif: Jossey-Bass Publications; 2002.

Gonçalves IC, Gonçalves MJ. Knowledge, attitudes and practices of nurses and doctors about the vertical transmission of hepatitis B. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2013 Sep-Oct;21(5):1030-8.

Gullett JC, Nolte FS 2015. Quantitative nucleic acid amplification methods for viral infections. *Clin Chem* 61: 72-78.

- Guthrie R, Susi A. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. *Pediatrics*. 1963;32:338–343.
- Hassan AO, Olukolade R, Ogbuji QC, Afolabi S, Okwuonye LC, Kusimo OC, *et al*. Knowledge about Tuberculosis: A Precursor to Effective TB Control-Findings from a Follow-Up National KAP Study on Tuberculosis among Nigerians. *Tuberc Res Treat*. 2017;2017:6309092.
- Hollinger FB. The five viruses: a perspective. AASLD Postgraduate Course “Viral hepatitis A to F: An Update”, 1994. p 2-20.
- Hu Y, Zhao Z, Wan Q. Facile preparation of carbon nanotubeconducting polymer network for sensitive electrochemical immunoassay of Hepatitis B surface antigen in serum. *Bioelectrochemistry* 2011; 81: 59-64
- Huang Y, Xu S, Wang L, Zhao Y, Liu H, Yao D, *et al*. Knowledge, Attitudes, and Practices Regarding Zika: Paper- and Internet-Based Survey in Zhejiang, China. *JMIR Public Health Surveill*. 2017 Oct 30;3(4):e81.
- Hughes SA, Wedemeyer H, Harrison PM. Hepatitis delta virus. *Lancet* 2011;378: 73-85.
- Hutse V, Verhaegen E, De Cock L, Quolin S, Vandenberghe H, Horsmans Y, *et al*. Oral fluid as a medium for the detection of Hepatitis B surface antigen. *J Med Virol*. 2005;77:56–63.
- Ingle PV, Samsudin SZ, Chan PQ, Ng MK, Heng LX, Yap SC, *et al*. Development and novel therapeutics in hepatocellular carcinoma: a review. *Ther Clin Risk Manag*. 2016;12: 445-55.
- Inoue T, Tanaka Y. Hepatitis B virus and its sexually transmitted infection - an update. *Microb Cell*. 2016 Sep 5;3(9):420-437.
- Ito K, Yotsuyanagi H, Yatsunami H, Karino Y, Takikawa Y, Saito T, *et al*. Risk factors for long-term persistence of serum hepatitis B surface antigen following acute hepatitis B virus infection in Japanese adults. *Hepatology* 2014;59: 89–97.
- Jacobsen KH, Wiersma ST. Hepatitis A virus seroprevalence by age and world region, 1990 and 2005. *Vaccine*. 2010 Sep 24;28(41):6653-7.
- Joukar F, Mansour-Ghanaei F, Soati F, Meskinkhoda P. Knowledge levels and attitudes of health care professionals toward patients with hepatitis C infection. *World J Gastroenterol*. 2012 May 14;18(18):2238-44.
- Judd A, Parry J, Hickman M, , McDonald T, Jordan L, Lewis K, *et al*. Evaluation of a modified commercial assay in detecting antibody to hepatitis C virus in oral fluids and dried blood spots. *J Med Virol*. 2003;71:49–55.
- Juszczyk J. Clinical course and consequences of hepatitis B infection. *Vaccine*. 2000;18(1): 23-25.

Kania D, Bekalé AM, Nagot N, Mondain AM, Ottomani L, Meda N, *et al.* Combining rapid diagnostic tests and dried blood spot assays for point-of-care testing of human immunodeficiency virus, hepatitis B and hepatitis C infections in Burkina Faso, West Africa. *Clin Microbiol Infect.* 2013. Dec;19(12):E533-41.

Kelava I, Karabeg V, Špehar SS. Attitudes and knowledge of general practitioners about irritable bowel syndrome. *Acta Med Croatica.* 2015 Nov;69(4):245-52.

Khan NR, Sadiq F. HBsAg ELISA: comparison of serum and uncentrifuged plasma samples dried on filter paper. *East Afr Med J.* 1996;73(9):592-3.

Khan TM, Buksh MA, Rehman IU, Saleem A. Knowledge, attitudes, and perception towards human papillomavirus among university students in Pakistan. *Papillomavirus Res.* 2016 Dec;2:122-127.

Khuroo MS, Khuroo NS, Khuroo MS. Accuracy of Rapid Pointof-Care Diagnostic Tests for Hepatitis B Surface Antigen-A Systematic Review and Meta-analysis. *J Clin Exp Hepatol.* 2014; 4:226-240

Khuroo MS, Khuroo MS, Khuroo NS. Hepatitis E: Discovery, global impact, control and cure. *World J Gastroenterol.* 2016 Aug 21;22(31):7030-45.

Klenerman P, Fitzmaurice K. An update on hepatitis C virus. *Clin Med (Lond).* 2015 Dec;15 Suppl 6:s33-6.

Komatsu H, Inui A, Sogo T, Tateno A, Shimokawa R, Fujisawa T. Tears from children with chronic hepatitis B virus (HBV) infection are infectious vehicles of HBV transmission: experimental transmission of HBV by tears, using mice with chimeric human livers. *J Infect Dis.* 2012 Aug 15;206(4):478-85.

Kramvis A, Kew M, Francois G. Hepatitis B virus genotypes. *Vaccine.* 2005;23:2409-2423.

Kramvis A. Genotypes and genetic variability of hepatitis B virus. *Intervirol.* 2014;57:141-50

Krugman S, Giles JP, Hammond J. Infectious hepatitis. Evidence for two distinctive clinical, epidemiological, and immunological types of infection. *JAMA* 1967; 200:365-73.

Kurbanov F, Tanaka Y, Mizokami M. Geographical and genetic diversity of the human hepatitis B virus. *Hepatology Research.* 2010;40: 14-30.

Labrague LJ, McEnroe-Petitte DM, van de Mortel T, Nasirudeen AMA. A systematic review on hand hygiene knowledge and compliance in student nurses. *Int Nurs Rev.* 2017 Oct 27. doi: 10.1111/inr.12410.

Lamontagne RJ, Bagga S, Bouchard MJ. Hepatitis B virus molecular biology and pathogenesis. *Hepatoma Res.* 2016;2:163-86

Lampe E, Mello FCA, do Espírito-Santo MP, Oliveira CMC, Bertolini DA, Gonçalves NSL, *et al.* On Behalf Of The Brazilian Hepatitis B Research Group. Nationwide

- overview of the distribution of hepatitis B virus genotypes in Brazil: a 1000-sample multicentre study. *J Gen Virol.* 2017 Jun;98(6):1389-1398.
- Lampertico P, Maini M, Papatheodoridis G. Optimal management of hepatitis B virus infection – EASL Special Conference. *Journal of Hepatology.* 2015;1238–1253.
- Lanini S, Easterbrook PJ, Zumla A, Ippolito G. Hepatitis C: global epidemiology and strategies for control. *Clin Microbiol Infect.* 2016 Oct;22(10):833-838.
- Lavanchy D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. *Clin Microbiol Infect.* 2011;Feb;17(2):107-15.
- Le Bouvier GL, McCollum RW, Hierholzer WJ Jr, Irwin GR, Krugman S, Giles JP. Subtypes of Australia antigen and hepatitis-B virus. *JAMA.* 1972;222(8):928-30.
- Lee JM, Garon E, Wong DT. Salivary diagnostics. *OrthodCraniofac Res;* 2009;12: 206–11.
- Lee CE, Sri Ponnampalavanar S, Syed Omar SF, Mahadeva S, Ong LY, Kamarulzaman A. Evaluation of the dried blood spot (DBS) collection method as a tool for detection of HIV Ag/Ab, HBsAg, anti-HBs and anti-HCV in a Malaysian tertiary referral hospital. *Ann Acad Med Singapore.* 2011 Oct;40(10):448-53.
- Leon, LAA. Saliva specimen sampling: a noninvasive method for diagnosis and basic investigation of viral hepatitis A, B and C. *Future Virol.* 2013;8 (6):576-588.
- Leuridan E, Van Damme P. Hepatitis B and the need for a booster dose. *Clin Infect Dis.* 2011 Jul 1;53(1):68-75.
- Locarnini S. Molecular virology of hepatitis B virus. *Semin Liver Dis.* 2004;24 1:3-10.
- Locarnini S, Omata M. Molecular virology of hepatitis B virus and the development of antiviral drug resistance. *Liver Int.* 2006;26(S2):11e22.
- Lukacs Z, Dietrich A, Ganschow R, Kohlschutter A, Kruithof R. Simultaneous determination of HIV antibodies, hepatitis C antibodies, and hepatitis B antigens in dried blood spots - a feasibility study using a multi-analyte immunoassay. *Clin Chem Lab Med.* 2005;43(2):141–5.
- MacCallum FO, Bradley WH. 1944. Transmission of infective hepatitis to human volunteers. *Lancet* 244(6311):228.
- Magnius LO, Espmark A. A new antigen complex co-occurring with Australia antigen. *Acta Pathol Microbiol Scand B Microbiol Immunol.* 1972;80(2):335-7.
- Malhotra BD, Turne APF. *Advances in Biosensors, Elsevier Science.* 5th ed. The Netherlands, 2003
- Maniero VC, Goldbach T, Marques APC, Cavaretto LSP, dos Santos AMO, Villar LM. Evaluation of the knowledge of nursing students about viral hepatitis. *J Nurs UFPE on line.* 2012 Apr;6(4):831-8

Marques BL, Brandão CU, Silva EF, Marques VA, Villela-Nogueira CA, Do Ó KM, *et al.* Dried blood spot samples: optimization of commercial EIAs for hepatitis C antibody detection and stability under different storage conditions. *J Med Virol.* 2012. Oct;84(10):1600-7.

Matsubayashi K, Kang JH, Sakata H, Takahashi K, Shindo M, Kato M, *et al.* A case of transfusion-transmitted hepatitis E caused by blood from a donor infected with hepatitis E virus via zoonotic food-borne route. *Transfusion.* 2008;48: 1368-1375

Mayer TK, Vargas RL, Knebel AE, Williams SA, Culver SP, Clark DM, *et al.* Hepatitis B assays in serum, plasma and whole blood on filter paper. *BMC. ClinPathol.* 2012 May 20;12:8.

Meireles LC, Marinho RT, Van Damme P. Three decades of hepatitis B control with vaccination. *World J Hepatol.* 2015 Aug 28;7(18):2127-32.

Mesfin YM, Kibret KT. Assessment of knowledge and practice towards hepatitis B among medical and health science students in Haramaya University, Ethiopia. *PLoS ONE.* 2013; 8(11): e79642.

Ministério da Saúde. Hepatites virais : o Brasil está atento / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 3. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2008.

Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico – Hepatites Virais. Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais Ed. Premium, Brasília. 2012.

Ministério da Saúde; Manual dos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais 4. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2014.

Ministério da Saúde. Manual técnico para o diagnóstico das hepatites virais – Brasília, 2015.

Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite B e Coinfecções/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. – Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

Ministério da Saúde Boletim Epidemiológico – Hepatites Virais. Brasília. V.48. 176 p. 2017.

Mirazo S, Ramos N, Mainardi V, Gerona S, Arbiza J. Transmission, diagnosis, and management of hepatitis E: an update. *Hepat Med.* 2014 Jun 3;6:45-59.

Mohr R, Boesecke C, Wasmuth JC. Hepatitis B in Mauss, Berg, Rockstroh, Sarrazin, Wedemeyer editors. *Hepatology: A clinical textbook.* 8^a ed. Hamburgo. Druckerei Heinrich GmbH; 2017.p. 85-196

Mohsen W, Levy MT. Hepatitis A to E: what's new? *Intern Med J.* 2017 Apr;47(4):380-389.

Morais LM, de Paula VS, Arantes MR, Oliveira ML, Gaspar AM. Early infection and asymptomatic spread of hepatitis A virus in a public child care center in Rio de Janeiro, Brazil: should attending children under two years of age be vaccinated? *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006 Jun;101(4):401-5.

Mortimer PP, Parry JV. Detection of antibody to HIV in saliva: a brief review. *Clin Diagn Virol*. 1994; 2:231–43. PMID: 15566769

Mossner BK, Staugaard B, Jensen J, Lillevang ST, Christensen PB, Holm DK. Dried blood spots, valid screening for viral hepatitis and human immunodeficiency virus in real-life. *World J Gastroenterol*. 2016 Sep 7;22(33):7604-12.

Moura MC. *Hepatites víricas. Bases científicas e prática clínica*. Lisboa: Permmayer Portugal; 1997.

Nakamura H, Karube I. Current research activity in biosensors. *Anal Bioanal Chem* 2003; 377: 446-468 [PMID: 12811457]

Nassal M & Schaller H. Hepatitis B Virus replication – an update. *J Viral Hep*. 1996;3(5):217-226.

Nazzal Z, Sobuh I. Risk factors of hepatitis B transmission in northern Palestine: a case - control study. *BMC Res Notes*. 2014; 28(7): 1-6

Ni Y, Lempp FA, Mehrle S, Nkongolo S, Kaufman C, Falth M, et al. Hepatitis B and D viruses exploit sodium taurocholate co-transporting polypeptide for species-specific entry into hepatocytes. *Gastroenterology* 2014;146(4): 1070e83.

Nokes DJ, Enquesselassie F, Nigatu W, Vyse AJ, Cohen BJ, Brown DW, et al. Has oral fluid the potential to replace serum for the evaluation of population immunity levels? A study of measles, rubella and hepatitis B in rural Ethiopia. *Bull World Health Organ*. 2001;79(7):588-95.

Nourani S, Ghourchian H, Boutorabi SM. Magnetic nanoparticlebased immunosensor for electrochemical detection of hepatitis B surface antigen. *Anal Biochem* 2013; 441: 1-7

O'Connell T, Thornton L, O'Flanagan D, Staines A, Connell J, Dooley S, et al. Oral fluid collection by post for viral antibody testing. *Int J Epidemiol*. 2001 Apr;30(2):298-301.

Ogholikhan S, Schwarz KB. *Hepatitis Vaccines*. Vaccines (Basel). 2016 Mar 11;4(1).

Oliveira ACDS, Focaccia R. Survey of hepatitis B and C infection control: procedures at manicure and pedicure facilities in São Paulo, Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2010 Oct; 14(5): 502-507.

Pang L, Alencar FE, Cerutti C Jr, Milhous WK, Andrade AL, Oliveira R, et al. Short report: hepatitis E infection in the Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg*. 1995;52(4):347-8.

Parana R, Vitvitski L, Andrade Z, Trepo C, Cotrim H, Bertillon P, et al. Acute sporadic non-A, non-B hepatitis in Northeastern Brazil: etiology and natural history. *Hepatology*. 1999;30(1):289-93.

Park W, Keefe B. Diagnosis and treatment of chronic hepatitis B. *Minerva gastroenterol Dietol*. 2004; 50:289-303.

Paul JR, Havens WP, Sabin AB, Philip CB. Transmission experiments in infectious hepatitis. *JAMA*. 1945;1128:911-915.

Pawlotsky JM. Hepatitis B virus (HBV) DNA assays (methods and practical use) and viral kinetics. *J Hepatol*. 2003;39 (1):31-35.

Pawlotsky JM. Virologic techniques for the diagnosis and monitoring of hepatitis B. *Gastroenterol Clin Biol*. 2008;32: S56-S63.

Pazeto DL, Pazeto CL, Bertolini DA, Hoss KA. Prevalência de marcadores sorológicos de hepatite B em pacientes internados para tratamento de alcoolismo em uma unidade de saúde mental do oeste catarinense. *Rev Bras Anal Clin*. 2012;44:87-92.

Pereira VRZB, Wolf JM, Luz CADS, Stumm GZ, Boeira TDR, Galvan J, et al. Risk factors for hepatitis B transmission in South Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2017 Aug;112(8):544-550.

Pischk S, Wedemeyer H. Hepatitis A in Mauss, Berg, Rockstroh, Sarrazin, Wedemeyer editors. *Hepatology: A clinical textbook*. 8^a ed. Hamburgo. Druckerei Heinrich GmbH; 2017.p. 85-196.

Polo D, Varela MF, Romalde JL. Detection and quantification of hepatitis A virus and norovirus in Spanish authorized shellfish harvesting areas. *Int J Food Microbiol*. 2015; Jan 16;193:43-50.

Portal da saúde. [homepage na Internet]. Ministério da Saúde amplia vacinação em todas as faixas etárias. [acessado em: 22/04/2016]. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/secretarias/svs/noticias-svs/27749-ministerio-da-saude-amplia-vacinacao-em-todas-as-faixas-etarias-2>>

Portilho MM, Mendonça ACDF, Bezerra CS, do Espírito-Santo MP, de Paula VS, Nabuco LC, et al. Usefulness of in-house real time PCR for HBV DNA quantification in serum and oral fluid samples. *J Virol Methods*. 2018 Jun;256:100-106.

Price J. An update on hepatitis B, D, and E viruses. *Top Antivir Med*. 2014 Jan;21(5):157-63. Review.

Prince AM. An antigen detected in the blood during the incubation period of serum hepatitis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1968 Jul;60(3):814-21.

Pyrasopoulos, NT. [homepage na Internet]. Hepatitis B. Medscape [atualizada 2017 Set 22; Acesso em 2017 Out 3]. Disponível em: <<http://emedicine.medscape.com/article/177632-overview>>.

Quasdorff M, Protzer U. Control of Hepatitis B virus at the level of transcription. *Journal of Viral Hepatitis*. 2010;17: 527-536.

Quoilin S, Hutse V, Vandenberghe H, Claeys F, Verhaegen E, De Cock L, *et al*. A population-based prevalence study of hepatitis A, B and C virus using oral fluid in Flanders, Belgium. *Eur J Epidemiol*. 2007;22(3):195-202. Epub 2007 Mar 14.

Raimondo G, Pollicino T, Cacciola I, Squadrito G. Occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2007 Jan;46(1):160-70. Epub 2006 Nov 7. Review.

Raimondo G, Navarra G, Mondello S, Costantino L, Colloredo G, Cucinotta E, *et al*. Occult hepatitis B virus in liver tissue of individuals without hepatic disease. *J Hepatol*. 2008 May;48(5):743-6.

Rizzetto M. HepatitisD: the comeback? *Liver Int*. 2009;29: 140–142.

Rizzetto M, Canese MG, Aricò S, Crivelli O, Trepo C, Bonino F, *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.

Rizzetto M, Shih JW, Gocke DJ, Purcell RH, Verme G, Gerin JL. Incidence and significance of antibodies to delta antigen in hepatitis B virus infection. *Lancet*. 1979;2: 986-990.

Ross RS, Stambouli O, Grüner N, Marcus U, Cai W, Zhang W, *et al*. Detection of infections with hepatitis B virus, hepatitis C virus, and human immunodeficiency virus by analyses of dried blood spots—performance characteristics of the ARCHITECT system and two commercial assays for nucleic acid amplification. *Viol J*. 2013 Mar 5;10:72.

Rotman Y, Brown TA, Hoofnagle JH. Evaluation of the patient with Hepatitis B. *Hepatology*. 2009;49: 22-27.

Sacchetto MS, Barros SS, Araripe Tde A, Silva AM, Faustino SK, da Silva JM. Hepatitis B: knowledge, vaccine situation and seroconversion of dentistry students of a public university. *Hepat Mon*. 2013 Oct 5;13(10):e13670.

Saleh DA, Amr S, Jillson IA, Wang JH, Khairy WA, Loffredo CA. Knowledge and perceptions of hepatitis C infection and pesticides use in two rural villages in Egypt. *BMC Public Health*. 2014;24;14:501.

Santos Cruz M, Andrade T, Bastos FI, Leal E, Bertoni N, Villar LM, *et al*. Key drug use, health and socio-economic characteristics of young crack users in two Brazilian cities. *Int J Drug Policy*. 2013 Sep;24(5):432-8.

Santos DC, Souto FJ, Santos DR, Vitral CL, Gaspar AM. Seroepidemiological markers of enterically transmitted viral hepatitis A and E in individuals living in a community located in the North Area of Rio de Janeiro, RJ, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97(5):637-40.

Santos DL, Oliveira Filho EF, Pinto MA. Hepatite E no Brasil e no Mundo: Revisão de Literatura. *Vet. e Zootec.* 2013 set.; 20(3): 9-26.

Savi, R. Avaliação de jogos voltados para a disseminação do conhecimento [tese de doutorado] Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Gestão do Conhecimento, 2011.

Scalioni LP, Cruz HM, de Paula VS, Corrêia OJ, Tourinho SR, Motta-Castro AR, *et al.* Importance of Collection Methods and Stability of Oral Fluid Samples for Hepatitis B Surface Antigen Detection. *J Clin Lab Anal.* 2013;27(3):186-94

Scalioni Lde P, Cruz HM, de Paula VS, Miguel JC, Marques VA, Villela-Nogueira CA, *et al.* Performance of rapid hepatitis C virus antibody assays among high- and low-risk populations. *J Clin Virol.* 2014 Jul;60(3):200-5.

Schaefer S. Hepatitis B virus: significance of genotypes. *J Viral Hepat.* 2005;12: 111-124

Scheiblaue H, El-Nageh M, Diaz S, Nick S, Zeichhardt H, Grunert HP, *et al.* Performance evaluation of 70 hepatitis B virus (HBV) surface antigen (HBsAg) assays from around the world by a geographically diverse panel with an array of HBV genotypes and HBsAg subtypes. *Vox Sang.* 2010; 98: 403-414

Schimid R. 1994. Viral hepatitis: Some Historical Perspectives. In: Vyas GN, Dienstag JL, Hoofnagle JH, editors. *Viral Hepatitis and Liver Disease* p.1-7.

Scott RM, Snitbhan R, Bancroft WH, Alter HJ, Tingpalapong M. Experimental transmission of hepatitis B virus by semen and saliva. *J Infect Dis* 1980; 142:67-71

Seeger C, Zoulim F. Hepadnaviruses. In: Fields, NB. *Virology*, 5^a ed. Philadelphia: Lincott Williams & Wilkins, 2007. p.2977-3029.

Sureau C, Salisse J. A conformational heparan sulfate binding site essential to infectivity overlaps with the conserved hepatitis B virus a-determinant. *Hepatology.* 2013 Mar;57(3):985-94.

Sherlock, S. Hepatitis B: the disease. *Vaccine.* 1990;8 (suppl): S6-9

Silva ACB, Souza LFB, Katsuragawa TH, Lima AA, Vieira DS, Salcedo JMV. Perfil seroepidemiológico de la hepatitis B en localidades ribereñas del río en Porto Velho, Estado de Rondônia, Brasil. *Rev Pan-Amaz Saude.* 2015 Jun 6(2): 51-59.

Soderling E. Practical aspects of salivary analysis. In: Tenovus JO, editor. *Humansaliva: clinical chemistry and microbiology*, vol. 1. Boca Raton, FL: CRC Press; 1989. p. 1-24.

Soulier A, Poiteau L, Rosa I, Hézode C, Roudot-Thoraval F, Pawlotsky JM, *et al.* Dried Blood Spots: a tool to ensure broad access to hepatitis C screening, diagnosis, and treatment monitoring. *J Infect Dis.* 2016 Apr 1;213(7):1087-95.

- Souto FJ. Distribution of hepatitis B infection in Brazil: the epidemiological situation at the beginning of the 21st century. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2016;49(1):11–23.
- Stene-Johansen K, Yaqoob N, Overbo J, Abera H, Desalegn H, Berhe N, *et al.* Dry Blood Spots a reliable method for measurement of hepatitis B viral load in resource-limited settings. *PLoS One.* 2016 Nov 7;11(11)
- Strong C, Hur K; Kim F, Pan J, Tran S, Juon RS. Sociodemographic Characteristics, Knowledge and Prevalence of Viral Hepatitis Infection Among Vietnamese Americans at Community Screenings. *J. immigr. minor. health.* 2015; 17:298–30.
- Sureau C, Salisse J. A conformational heparan sulfate binding site essential to infectivity overlaps with the conserved hepatitis B virus a determinant. *Hepatology.* 2013;57: 985–94.
- Taebi S, Keyhanfar M, Noorbakhsh A. A novel method for sensitive, low-cost and portable detection of hepatitis B surface antigen using a personal glucose meter. *J Immunol Methods.* 2018 Apr 12.
- Takahashi T, Nakagawa S, Hashimoto T, Takahashi K, Imai M. Large-scale isolation of Dane particles from plasma containing hepatitis B antigen and demonstration of circular double-stranded DNA molecule extruding directly from their cores. *J Immunol.* 1976 Oct;117(4):1392-7.
- Tam AW, Smith MM, Guerra ME, Huang CC, Bradley DW, Fry KE, *et al.* Hepatitis E virus (HEV): molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. *Virology.* 1991 Nov;185(1):120-31.
- Tannahill A. Beyond evidence--to ethics: a decision-making framework for health promotion, public health and health improvement. *Health Promot Int.* 2008 Dec;23(4):380-90.
- Tatematsu K, Tanaka Y, Kurbanov F, Sugauchi F, Mano S *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. *J Virol* 2009;83:10538– 10547.
- Teshale EH, Grytdal SP, Howard C, Barry V, Kamili S, Drobeniuc J, *et al.* Evidence of person-to-person transmission of hepatitis E virus during a large outbreak in Northern Uganda. *Clin Infect Dis.* 2010; 50: 1006-1010
- Tiollais P, Pourcel C, Dejean A. The hepatitis B virus. *Natur.* 1985;317:489-495.
- Tiwari S, John J. Special educators' knowledge and training on autism in Karnataka: A cross-sectional study. *Indian J Psychiatry.* 2017 Jul-Sep;59(3):359-365.
- Tong S, Revill P. Overview of hepatitis B viral replication and genetic variability. *J Hepatol.* 2016;64(1 Suppl):S4-16.
- Tran TT, Trinh TN, Abe K. New complex recombinant genotype of hepatitis B virus identified in Vietnam. *J Virol* 2008;82:5657–5663.

- Trinta KS, Liberto MI, Paula VS, Yoshida CF, Gaspar AM. Hepatitis E virus infection in selected Brazilian populations. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2001;96(1):25-9.
- ul Haq N, Hassali MA, Shafie AA, Saleem F, Farooqui M, Aljadhey H. A cross sectional assessment of knowledge, attitude and practice towards Hepatitis B among healthy population of Quetta, Pakistan. *BMC Public Health*. 2012;12:692.
- ul Haq N, Hassali MA, Shafie AA, Saleem F, Farooqui M, Haseeb A, *et al*. A cross-sectional assessment of knowledge, attitude and practice among Hepatitis-B patients in Quetta, Pakistan. *BMC Public Health*. 2013 May 6;13:448.
- Uliana CV, Riccardi CS, Yamanaka H. Diagnostic tests for hepatitis C: recent trends in electrochemical immunosensor and genosensor analysis. *World J Gastroenterol*. 2014;20: 15476-15491.
- United Nations. Transforming Our World: The 2030 Agenda for Sustainable Development. [Acesso: 31 Ago 2017]. Disponível em: <https://sustainabledevelopment.un.org/post2015/transformingourworld>
- Valaydon ZS, Locarnini SA. The virological aspects of hepatitis B. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2017 Jun;31(3):257-264.
- van Loo IHM, Dukers-Muijrs NHTM, Heuts R, van der Sande MAB, Hoebe CJPA. Screening for HIV, hepatitis B and syphilis on dried blood spots: A promising method to better reach hidden high-risk populations with self-collected sampling. *PLoS One*. 2017 Oct 20;12(10):e0186722
- Vierling JM. The immunology of hepatitis B. *Clin Liver Dis*. 2007;11(4): 727e59.
- Villa, E.; Cartolari, R.; Bellentani, S.; Rivasi, P.; Casolo, G.; Manenti, F. Hepatitis B virus markers on dried blood spots. A new tool for epidemiological research. *J Clin Pathol*. 1981;34:809–812.
- Villar LM, Esteves CMC, de Paula VS, Gaspar AM. Hepatitis a outbreak in a public school in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002 Apr;97(3):301-5.
- Villar LM, de Oliveira JC, Cruz HM, Yoshida CF, Lampe E, Lewis-Ximenez LL. Assessment of dried blood spot samples as a simple method for detection of hepatitis B virus markers. *J Med Virol*. 2011;83(9):1522-9.
- Villar LM, Amado LA, de Almeida AJ, de Paula VS, Lewis-Ximenez LL, Lampe E. Low prevalence of hepatitis B and C virus markers among children and adolescents. *Biomed Res Int*. 2014;2014:324638.
- Villar LM, de Paula VS, Almeida AJ, do O KMR, Miguel JC, Lampe E. Knowledge and Prevalence of Viral Hepatitis Among Beauticians. *Journal of Medical Virology*. 2014b;86(9):1515-21.
- Villar LM, Ó KM, Scalioni LP, Cruz HM, Portilho MM, Mendonça AC, *et al*. Prevalence of hepatitis B and C virus infections among military personnel. *Braz J Infect Dis*. 2015;May-Jun;19(3):285-90.

- Villar LM, Cruz HM, Barbosa JR, Bezerra CS, Portilho MM, Scalioni Lde P. Update on hepatitis B and C virus diagnosis. *World J Virol.* 2015b; 4(4):323-42.
- Wang X, Li Y, Wang H, Fu Q, Peng J, Wang Y *et al.* Gold nanorod-based localized surface plasmon resonance biosensor for sensitive detection of hepatitis B virus in buffer, blood serum and plasma. *Biosens Bioelectron.* 2010;26: 404-410
- Wang L, Ye Z, Xu L, Zhang B, Liang H, Feng Z, *et al.* Diagnostic value of urine HBV DNA for hepatitis B virus-associated glomerulonephritis. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 2014 Nov;34(11):1705-Insidebackcover. Chinese.
- Wei Y, Neuveut C, Tiollais P, Buendia MA. Molecular biology of Hepatitis B virus and role of the X gene. *Pathologie Biologie.* 2010;2885: 1010-1016.
- World Health Organization. 2008. Advocacy, communication and social mobilization for TB control: a guide to developing knowledge, attitude and practice. [acesso em 10/07/2017]. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43790/1/9789241596176_eng.pdf
- World Health Organization. [homepage na internet] Health topics Hepatitis. [acesso em 20/04/2018]. Disponível em: <http://www.who.int/topics/hepatitis/en/>
- Wong DT Salivary extracellular noncoding RnA: emerging biomarkers for molecular diagnostics. *Clin Ther.* 2015;37: 540-551.
- Wu E; Chen X; Guan Z; Cao C; Rao H; Feng B; A comparative study of patients' knowledge about hepatitis C in the United States and in urban and rural China. *Hepatol Int.* 2015;9:58–66.
- Ximenes RA, Pereira LM, Martelli CM, Hamann EM, Stein AT, Figueiredo GM, *et al.* Methodology of a nationwide cross-sectional survey of prevalence and epidemiological patterns of hepatitis A, B and C infection in Brazil. *Cad Saude Publica.* 2010; 26:1693-1704.
- Xu W, Li Y, Wang M, Gu J. Comparison of two immunoassays for determining hepatitis B virus serum markers. *Clin Chem Lab Med.* 2012;50: 153-157
- Yalow RS, Berson SA. Assay of plasma insulin in human subjects by immunological methods. *Nature* 1959; 184 (Suppl 21): 1648-1649
- Yamamoto T, Suzuki H, Toyota T, Takahashi M, Okamoto H. Three male patients with sporadic acute hepatitis E in Sendai, Japan, who were domestically infected with hepatitis E virus of genotype III or IV. *J Gastroenterol.* 2004; 39: 292-298
- Yan H, Zhong G, Xu G, He W, Jing Z, Gao Z, *et al.* Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus. *eLife.* 2012;13;1:e00049
- Yang WT, Wu LW, Tseng TC, Chen CL, Yang HC, Su TH, *et al.* Hepatitis B Surface Antigen Loss and Hepatocellular Carcinoma Development in Patients With Dual Hepatitis B and C Infection. *Medicine (Baltimore).* 2016 Mar;95(10):e2995.

Yao CY, Fu WL. Biosensors for hepatitis B virus detection. *World J Gastroenterol*. 2014; 20: 12485-12492.

Yoshida CFT, Gaspar AMC, Lewis-Ximenes LL, Oliveira JM. Hepatites de transmissão parenteral B, Delta e C. In: Coura JR, organizador. *Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias*. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro; 2005.p.1725-34.

Zhang X, An J, Tu A, Liang X, Cui F, Zheng H, et al. Comparison of immune persistence among inactivated and live attenuated hepatitis a vaccines 2 years after a single dose. *Hum Vaccin Immunother*. 2016;12(9):2322-6.

Zhuang H, Coulepis AG, Locarnini SA, Gust ID. Detection of markers of hepatitis B infection in serum dried on to filter-paper: an application to field studies. *Bull World Health Organ*. 1982;60(5):783-7.

10. ANEXOS

10.1. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa no estudo de conhecimento nas cidades de Rio de Janeiro e Manaus



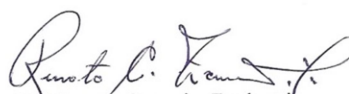
Duque de Caxias, 13 de março de 2009


Do: Comitê de Ética em Pesquisa da UNIGRANRIO
Para Pesquisadora: Livia Melo Villar

O Comitê de Ética em Pesquisa da UNIGRANRIO considerou **aprovado** o projeto de pesquisa protocolado sob o n.º 0086.0.317.000-08, "AVALIAÇÃO DO CONHECIMENTO SOBRE HEPATITES VIRAIS NA POPULAÇÃO BRASILEIRA", encontrando-se a referida pesquisa e o Consentimento Livre e Esclarecido em conformidade com a Resolução N.º 96, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, sobre pesquisa envolvendo seres humanos.

O pesquisador deverá informar ao Comitê de Ética qualquer acontecimento ocorrido no decorrer da pesquisa.

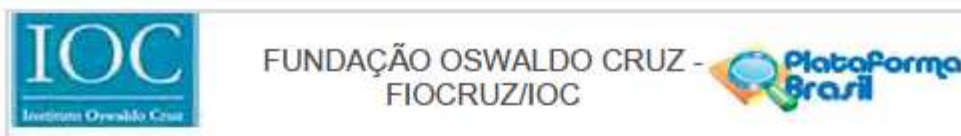
O Comitê de Ética em Pesquisa solicita a V. S^a., que ao término da pesquisa encaminhe a este comitê um resumo dos resultados do projeto, a fim de que seja expedido o certificado de aprovação final.


Prof. Ms Renato Cerqueira Zambrotti
Coordenador do CEP/UNIGRANRIO


Márcia Ribeiro Pedra Fixe
Secretária do CEP/UNIGRANRIO

CEP/UNIGRANRIO – COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA da UNIGRANRIO
Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160 – 25 de Agosto – Duque de Caxias – CEP: 25071-202
Tel.: 21 2672-7733 – E-mail: rzambrotti@unigranrio.com.br

10.2. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa no estudo em diferentes populações



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DO CONHECIMENTO SOBRE HEPATITES VIRAIS

Pesquisador: Helena Medina Cruz

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 38848914.5.0000.5248

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Patrocinador Principal: MINISTERIO DA EDUCACAO
MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.038.998

Data da Relatoria: 17/04/2015

Apresentação do Projeto:

As hepatites Virais são inflamações no fígado que podem ocorrer de forma aguda ou crônica, causando sérios agravos em sua decorrência como cirrose e hepatocarcinoma. Hepatite viral é um termo comumente usado para várias doenças clinicamente semelhantes, porém etiológica e epidemiologicamente distintas. (CDC, 2012). Em sua maioria, são doenças silenciosas, que em muitas fases passam despercebidas na vida das pessoas, até o momento em que os sinais e sintomas começam a aparecer e a doença se manifesta (Ministério da saúde, 2012).

Existem cinco tipos de Hepatites Virais (A, B, C, D e E) e elas podem ser transmitidas por diferentes vias, tais quais: via fecal-oral através de água ou alimentos contaminados que podem transmitir as hepatites A e E, ou via parenteral, por fluidos corporais contaminados que podem transmitir as hepatites B, C e D (Ministério da saúde, 2008, Focaccia, 2013). O HAV, HBV e HCV são os responsáveis pela grande maioria das formas agudas da infecção (Ferreira e Silveira, 2004). As hepatites virais tem grande importância pelo numero de indivíduos atingidos e pela possibilidade de complicações (Ministério da saúde, 2008). Elas causam pelos menos 1,4 milhões de mortes por ano sendo uma das principais causas infecciosas que levam ao óbito no mundo (WHO, 2014). A distribuição destas infecções é universal, sendo que a magnitude dos diferentes tipos varia de

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfocruz@ioc.fiocruz.br



região para região.

No Brasil, também há grande variação regional na prevalência de cada hepatite (Ministério da saúde, 2008). Entre as hepatites virais, a infecção pelo vírus da hepatite A (HAV) é a mais prevalente no nosso meio devido às baixas condições socioeconômicas e de higiene. Entretanto, nos últimos anos, a incidência desta doença tem diminuído devido a melhorias de condições de higiene em algumas regiões do Brasil (Vital et al., 2006). Apesar da existência de uma vacina eficaz contra a hepatite A, esta ainda não se encontra disponível para a população, devido ao seu alto custo. Entretanto as hepatites B e C apresentam graves problemas de saúde pública no Brasil, devido o aumento do número de infecções pelo HCV, principalmente em indivíduos submetidos a transfusões de sangue e hemoderivados, pois ainda não há uma vacina disponível (Gaze et al., 2006). Com isso, existe a necessidade de aumentar os conhecimentos da população em geral a fim de reduzir o impacto da disseminação dessas infecções. Neste estudo, serão incluídos 1000 indivíduos, distribuídos entre as diferentes regiões do Brasil. Os indivíduos serão convidados a participar do estudo, podendo, no entanto, se recusarem a participar do mesmo. Antes de iniciarem as perguntas, os participantes irão assinar um termo de consentimento livre e esclarecido permitindo a utilização de suas respostas. Os indivíduos selecionados para participarem do estudo serão encontrados em diferentes situações, a fim de garantir variedade de informações e possíveis lacunas de conhecimento de um grupo para outro. Os indivíduos então poderão ser obtidos em comunidades carentes das cidades, em ambulatórios para acompanhamento e tratamento de hepatites virais, em suas casas, em eventos voltados para a área da saúde, em escolas, entre outros locais.

Os grupos estudados serão: Centro de Referência com população composta por indivíduos com suspeita de infecção pelos vírus das hepatites. O Centro de Referência do Rio de Janeiro recebe indivíduos residentes em comunidades situadas na área de Manguinhos, Vila do João, Favela da Maré, entre outras comunidades carentes de assistência médica, situadas próximas a estas localidades; População em geral do Rio de Janeiro com população composta por indivíduos da população em geral residentes da cidade, os entrevistadores irão visitar as residências questionando o interesse da participação; Indivíduos residentes na cidade de Nossa Senhora de Nazaré (Piauí) com população composta por indivíduos da população em geral residentes da cidade, os entrevistadores irão visitar residências questionando o interesse da participação. Indivíduos residentes nas cidades de Divinópolis, Palmas e Fortaleza com populações compostas

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfioacruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 1.038.998

por indivíduos da população em geral residentes das cidades, os entrevistadores irão visitar residências, faculdades, clínicas, hospitais e/ou ambulatórios questionando o interesse da participação. A coleta de dados será feita mediante a utilização de questionário com questões fechadas elaborado neste estudo. O instrumento contem dois questionários distintos serão aplicados:

1) Questionário destinado para indivíduos em período escolar, podendo ser ou não menor de idade. O mesmo questionário será preenchido pelo aluno duas vezes, uma antes e outra imediatamente após apresentação de uma palestra com informações sobre Hepatites, a fim de verificar se as informações são facilmente absorvidas por esse grupo após a palestra;

2) Questionário destinado para indivíduos da população em geral e maiores de idade, que deverá ser preenchido por um entrevistador imediatamente após o preenchimento do TCLE sem consulta do entrevistado a qualquer fonte a fim de verificar o conhecimento sobre as Hepatites.

Critério de Inclusão:

Como critério de inclusão, os indivíduos poderão ser de qualquer sexo, idade, cor ou renda e deverão concordar com o termo de consentimento assinando-o.

Critério de Exclusão:

Indivíduos serão divididos em dois subgrupos de trabalho onde apenas o fator idade será excludente:

- 1) Indivíduos em período escolar podendo ser menores ou maiores de idade;
- 2) Indivíduos da população geral, podendo ser apenas maiores de idade

Objetivo da Pesquisa:

Hipótese:

A população em geral do Brasil apresenta lacunas no conhecimento sobre Hepatites Virais.

Objetivo Primário:

Determinar o conhecimento sobre aspectos clínicos, epidemiológicos, transmissão e prevenção das hepatites Virais em indivíduos da população em geral.

Objetivo Secundário:

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepflocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 1.038.998

Determinar o conhecimento sobre hepatites virais em indivíduos atendidos em unidades de saúde do país;

Determinar o conhecimento sobre hepatites virais em indivíduos da população geral que participam em eventos de diagnóstico sobre hepatites virais e campanhas de vacinação para doenças infecciosas;

Determinar o conhecimento sobre hepatites virais em estudantes de ensino médio e fundamental antes e após a palestra educativa sobre o tema;

Determinar o nível de conhecimento sobre hepatites virais em relação a renda familiar, escolaridade, sexo e grupo estudado.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos e benefícios foram adequadamente explicitados nessa versão do protocolo e estão de acordo com o que está regulamentado na resolução 468/12.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Em resposta à pendências geradas no parecer de número 951.390, datado 11 de fevereiro de 2015. O termo de consentimento livre e esclarecido deverá ser redigido na terceira pessoa e não na primeira, ou seja, você está sendo convidado para participar deste estudo... As possibilidades de retirada da autorização e de desligamento da pesquisa deverão estar claramente mencionadas. A expressão "uma cópia deste termo" deverá ser retirada, mencionando que o termo será assinado em duas vias de igual teor e o voluntário ficará com exemplar assinado por ele e pela pesquisadora.

Pendência atendida.

Pendência decorrente da ausência da identificação clara do(s) risco(s) no TCLE: Os riscos envolvidos neste estudo não foram apresentados no TCLE (nem no Projeto). Cabe ressaltar que de acordo com a Resolução CNS 468/12, considera-se que toda pesquisa envolvendo seres humanos envolve risco. O dano eventual poderá ser imediato ou tardio, comprometendo o indivíduo ou a coletividade. Ressalte-se ainda que a resolução define como risco da pesquisa - possibilidade de danos à dimensão física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual do ser humano, em qualquer fase de uma pesquisa e dela decorrente. Solicitamos adequação. O participante pode

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manginhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfocruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 1.038.998

ficar constrangido por não saber responder às questões, por exemplo.

O pesquisador afirma que poderá ocorrer a possibilidade de danos à dimensão física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual do ser humano, em qualquer fase de uma pesquisa e dela decorrente, mas não descreve quais são os riscos e o que farão para minimizá-los. Um risco, por exemplo, pode ser o constrangimento gerado pelo fato do participante não conseguir responder as perguntas do questionário.

Pendência não atendida.

A acrescentar a carta de anuência da Universidade Federal de São João del Rei.

Pendência atendida.

Em resposta à pendências geradas no parecer de número 998.432 datado de 22 de março de 2015.

Seguem respostas ao Parecer 998.432, datado de 22 de março de 2015, referentes ao projeto intitulado "AVALIAÇÃO DO CONHECIMENTO SOBRE HEPATITES VIRAIS" registro CAAE 38846914.5.0000.5248. Os itens incluídos nos arquivos: Termo de assentimento do menor versao 3.0.docx; Termo de Consentimento conhecimento versao 3.0.doc; Projeto_Plataforma_Brasil_Conhecimento_versao_3.0.doc apresentam a alteração solicitada por este Comitê em cor vermelha para melhor visualização.

1-Os riscos envolvidos neste estudo não foram apresentados no TCLE (nem no Projeto). Cabe ressaltar que de acordo com a Resolução CNS 468/12, considera-se que toda pesquisa envolvendo seres humanos envolve risco. O dano eventual poderá ser imediato ou tardio, comprometendo o indivíduo ou a coletividade. Ressalte-se ainda que a resolução define como risco da pesquisa - possibilidade de danos à dimensão física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual do ser humano, em qualquer fase de uma pesquisa e dela decorrente. Solicitamos adequação. O participante pode ficar constrangido por não saber responder às questões, por exemplo.

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Mangulhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfocruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 1.038.998

A solicitação foi atendida com a inclusão da informação dos riscos relacionados a aplicação do questionário nos arquivos do projeto e dos termos de consentimento e assentimento. Os riscos da pesquisa são aqueles relacionados a questões sobre nível de escolaridade e renda econômica que podem gerar constrangimento ao participante da pesquisa. Além disto, o participante pode ficar constrangido por não saber responder as perguntas sobre o conhecimento das hepatites virais, entretanto estes riscos serão minimizados pela aplicação do questionário por profissionais treinados onde o sigilo e confidencialidade serão mantidos. O participante também será informado que nestas situações, não há necessidade de responder a questão citada.

Pendência atendida.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Carta resposta ao CEP Fiocruz;

TERMO DE assentimento menor versão 3.0;

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido versão 3.0;

Protocolo versão 3.0.

Recomendações:

Apresentar relatórios parciais (anuais) e relatório final do projeto de pesquisa é responsabilidade indelegável do pesquisador principal.

Qualquer modificação ou emenda ao projeto de pesquisa em pauta deve ser submetida à apreciação do CEP Fiocruz/IOC.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Oswaldo Cruz (CEP FIOCRUZ/IOC), em sua 203ª Reunião (Reunião extraordinária), realizada em 28.04.2015, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 468/12, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Mangulhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 1.038.998

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido -TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

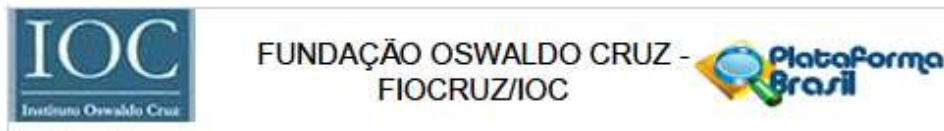
O pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

RIO DE JANEIRO, 28 de Abril de 2015

Assinado por:
José Henrique da Silva Pilotto
(Coordenador)

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Mangunhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfioacruz@ioc.fiocruz.br

6.1. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do estudo com fluido oral e SSPF



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Padronização de testes de diagnóstico da infecção pelos vírus das hepatites B e C em amostras de saliva

Pesquisador: LIVIA MELO VILLAR

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 34055514.9.0000.5248

Instituição Proponente: Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ/IOC

Patrocinador Principal: Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ/IOC
Conselho Nacional de Desenvolvimento e Tecnologia
FUN CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 889.582

Data da Relatoria: 17/11/2014

Apresentação do Projeto:

A pesquisadora principal informa que atualmente o diagnóstico da infecção pelo HBV e HCV é feito por meio de testes sorológicos e moleculares. A coleta de amostras de sangue é necessária para realização de testes sorológicos e estabelecimento do diagnóstico etiológico da infecção pelo HBV e HCV. Entretanto a coleta de amostras de sangue requer a punção venosa que é dolorosa e necessita de pessoal treinado. A aceitação geral da coleta de amostras de saliva e sangue seco em papel de filtro é muito maior em toda comunidade e isto facilitaria as investigações e o acompanhamento do tratamento. Deste modo, a detecção de marcadores de infecção pelo HBV e HCV utilizando saliva e sangue seco em papel de filtro pode ser uma ferramenta de importância epidemiológica, clínica e econômica. Para tanto, a pesquisadora propõe consulta em prontuários de pacientes oriundos de diversas Instituições coparticipantes, o que será de responsabilidade dos pesquisadores do estudo em colaboração com os médicos das instituições parceiras, que segunda ela, manterá a privacidade e sigilo dos participantes. Serão, também, abordados pessoalmente, sendo recrutados 8.800 indivíduos participantes da pesquisa.

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinho CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepflocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 889.582

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Padronizar a detecção de marcadores de hepatite B e C em saliva e sangue seco em papel de filtro.

Objetivos Secundários:

1- Padronizar a detecção de anticorpos totais anti-HCV em amostras de saliva e SCPF utilizando um ensaio imunoenzimático comercial.

2- Padronizar a detecção de anticorpos anti-HBs, anticorpos anti-HBc, e antígeno HBs em amostras de saliva e SCPF utilizando um ensaio imunoenzimático comercial.

3- Padronizar a detecção do RNA do HCV em amostras de saliva e SCPF utilizando testes moleculares qualitativos e quantitativos.

4- Padronizar a detecção do DNA do HBV em amostras de saliva e SCPF utilizando testes moleculares qualitativos e quantitativos

5- Determinar a correlação entre a presença de anticorpos anti-HCV e RNA do HCV encontrados nas amostras de soro e saliva e SCPF a fim de verificar a utilidade destas amostras para o diagnóstico da infecção pelo HCV.

6- Determinar a correlação entre a presença de anticorpos e antígeno do HBV e o DNA do HBV encontrados nas amostras de soro e saliva e SCPF a fim de verificar a utilidade destas amostras para o diagnóstico da infecção pelo HBV.

7- Detectar a presença do replicativo intermediário do HCV nas amostras positivas pela técnica de PCR a fim de verificar se a saliva possui a forma replicativa do vírus o que seria muito importante para estudar a possibilidade de transmissão do vírus por este fluido biológico.

8- Realizar a análise do polimorfismo dos genes IL28B e ITPA em amostras pareadas de soro e saliva de indivíduos infectados pelos vírus das hepatites B e C a fim de verificar a utilidade da saliva para realização destas análises.

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)

Bairro: Mangunhos CEP: 21.040-360

UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfocruz@ioc.fiocruz.br

Continuação do Parecer: 889.582

9- Determinar o coletor de saliva mais apropriado para realização de testes de detecção e quantificação do HBV DNA e HCV RNA.

10- Padronizar a detecção dos marcadores HBsAg e anti-HCV em amostras de saliva e SSPF utilizando um ensaio imunoenzimático in house.

11- Investigar a presença do HBV DNA e suas formas replicativas (cccDNA e pgRNA) e do HCV RNA (fita positiva e negativa) utilizando PCR em tempo real em amostras de soro, saliva e SSPF de pacientes com HBV e HCV.

12- Realizar o sequenciamento nucleotídico da região dos genes da polimerase e de superfície do HBV em amostras de soro, saliva e SSPF em pacientes com hepatite B a fim de avaliar a utilidade da saliva e SSPF para determinação do genótipo viral, detecção de mutações que conferem resistência a fármacos e caracterização do grau de compartimentalização do HBV em termos de quasipécies virais.

13- Realizar o sequenciamento nucleotídico da região dos genes NS3/4A, NS5A, NS5B do HCV em amostras de soro, saliva e SSPF em pacientes com hepatite C a fim de avaliar a utilidade da saliva e SSPF para determinação do genótipo viral, detecção de mutações que conferem resistência a fármacos e caracterização do grau de compartimentalização do HBV em termos de quasipécies virais.

14- Avaliar a dinâmica das quasipécies do HBV e do HCV em pacientes com hepatite B ou hepatite C antes do tratamento e seis meses após o início do tratamento no caso da hepatite B e seis meses após o fim do tratamento no caso da hepatite C.

15- Avaliar a aplicabilidade da saliva e do SSPF para detecção do HBV DNA em pacientes com hepatite B oculta.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Segundo a pesquisadora principal, os possíveis riscos e desconfortos são aqueles relacionados

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)

Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360

UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 889.582

com a retirada rotineira de sangue, dor ou rouidão no local que serão controladas por uma coleta de sangue realizada dentro das normas de biossegurança.

Benefícios:

Obter resultado de exames laboratoriais para Hepatite B e C que serão entregues acompanhados de esclarecimentos sobre o significado dos resultados de maneira confidencial e ser encaminhado para unidades de saúde, nos casos em que o tratamento da hepatite se fizer necessário.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está suficientemente claro, bem fundamentado, sem necessidade de ser encaminhado para a CONEP. O estudo proposto é pertinente e possui valor científico.

A pesquisadora principal fez os ajustes necessários, tornando o projeto em conformidade à Resolução CNS 466/12.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram anexados:

1- Termo de anuência das Instituições coparticipantes; 2- CV dos membros da equipe; 3- Projeto Detalhado; 4- TCLE; 5- Parecer do CEP Fiocruz de 2008; 6-Regulamento do Biorrepositório LAHEP v2 16-12, 2013; 7- Termo de Compromisso e sigilo dos pesquisadores envolvidos na pesquisa e 8- Termo de anuência das instituições parceiras autorizando a consulta nos prontuários.

Recomendações:

Recomenda-se que cada localidade tenha o endereço do pesquisador colaborador local e não todos no mesmo TCLE como o apresentado pela pesquisadora principal. Por exemplo:

a) para os participantes do Hospital Geral de Bonsucesso, Ministério da Saúde seria o endereço do Dr João Luiz Pereira e o endereço-Av Londres 616, Bonsucesso, 21041-030 - Rio de Janeiro, RJ – Brasil Telefone: (21) 39779629.

b) para os participantes de Tocantins seria o endereço do Dr Flavio Augusto Milagres – UFT-Consultório.

602 Sul, Av Ns 02, conj. 02, Lt 09, Plano diretor Sul 77022008 - Palmas, TO – Brasil,

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Mangulhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 889.582

Telefone: (63) 32142985.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Os ajustes solicitados foram realizados pela pesquisadora principal, estando citados ponto a ponto na carta de 24 de setembro de 2014 anexada à Plataforma Brasil. A saber:

1- Foi esclarecido que o Dr. Christian Niel não participa do projeto. A pesquisadora principal explicou que; por ter assinado a folha de rosto do projeto original como diretor do Instituto Oswaldo Cruz, as correspondências eram encaminhadas em nome da Dra Livia Villar e do Dr Niel.

2- A pesquisadora principal esclareceu que o presente projeto está em andamento desde 2008 e que relatórios parciais, assim como a prorrogação do prazo do projeto já foram enviados em data anterior à Plataforma Brasil.

3- Foram incluídos os Termos de Compromisso e sigilo dos membros da equipe

4- Foi esclarecido o porquê dos Termos de anuências das Instituições coparticipantes terem datas diferentes, sendo que foram anexados alguns termos de anuência com datas recentes, assim como os Termos de Compromisso e sigilo de todos os responsáveis pelas Instituições participantes.

5- Os objetivos do Projeto Detalhado e os do PB_INFORMAÇÕES BÁSICAS DO PROJETO foram ajustados de modo que os mesmos objetivos estavam presentes nos dois campos.

6- TCLE:

a) Foram realizadas alterações, que deixam claro que a participação do indivíduo será isenta de despesas e, sendo voluntária, não existirá remuneração ou vínculo empregatício.

b) Foram incluídos os endereços e número dos telefones dos pesquisadores responsáveis por cada unidade coparticipante, conforme solicitado pelo CEP Fiocruz/IOC.

7- Com relação aos prontuários:

a) Foi esclarecido que a consulta aos prontuários será feita pelos membros do estudo, que assinaram o termo de compromisso e sigilo. A consulta será feita no respectivo centro sob

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)

Bairro: Mangueiras CEP: 21.040-360

UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 889.582

supervisão do médico responsável pelo centro.

b) Esclareceu ainda que, os dados serão armazenados em banco de dados do Microsoft Office e mantidos sob guarda do coordenador do projeto.

c) A pesquisadora informou que os dados coletados serão codificados de modo a manter o sigilo e privacidade de cada participante.

d) Os responsáveis pelos hospitais forneceram os termos de anuência para o desenvolvimento do estudo, o que inclui a anuência para coleta de dados nos prontuários.

8- A pesquisadora informou como foi estimada a amostra a ser utilizada no estudo.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Oswaldo Cruz (CEP Fiocruz/IOC), de acordo com as atribuições definidas na Res.CNS 466/12, manifesta-se por APROVAR, ad referendum, o projeto da forma como foi apresentado após a inclusão das pendências supracitadas, o que foi cumprido.

Apresentar relatórios parciais (anuais) e relatório final do projeto de pesquisa é responsabilidade indelegável do pesquisador principal.

Qualquer modificação ou emenda ao projeto de pesquisa em pauta deverá ser submetida à apreciação do CEP Fiocruz/IOC.

O participante da pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)

Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360

UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 889.582

O pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido- TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

RIO DE JANEIRO, 27 de Novembro de 2014


Assinado por:
Maria Regina Reis Amendoeira
(Coordenador)

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfocruz@ioc.fiocruz.br

Página 7 de 07

11. APÊNDICES

11.1. Termo de consentimento livre esclarecido estudo com fluido oral

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<p>INSTITUTO OSWALDO CRUZ LABORATÓRIO DE HEPATITES VIRAIS Rua Leopoldo Bulhões, nº 1480, CEP: 21041-210 Pav. Hélio e Peggy Pereira, Bloco A (Térreo), Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ</p>
--	--

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Instituição: Laboratório de Hepatites Virais do Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz
Projeto de Pesquisa: Padronização De Testes De Diagnóstico Da Infecção Pelos Vírus Das Hepatites B e C Em Amostras De Saliva
Pesquisador: Dra. Livia Melo Villar

Como voluntário, o (a) Sr. (a) está sendo convidado a participar de uma pesquisa realizada pelo Laboratório de Hepatites Virais do Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz sob a coordenação da Dra. Livia Melo Villar. O objetivo da pesquisa é padronizar o diagnóstico da infecção pelos vírus das hepatites B e C através de testes realizados em saliva e sangue em papel de filtro.

Este documento pretende fornecer a (o) Sr. (a) informações sobre o problema de saúde em estudo, detalhando os procedimentos, exames, benefícios, inconvenientes e riscos potenciais. O (a) Sr.(a) possui a liberdade de recusar a participar da pesquisa ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização e sem prejuízo ao seu cuidado.

Os investigadores se obrigam a não revelar sua identidade em qualquer publicação resultante de informações obtidas durante o estudo. Os exames e procedimentos aplicados são gratuitos. O (a) Sr. (a) receberá todos os cuidados médicos adequados para o controle dos efeitos colaterais que possam ocorrer em consequência de sua participação na pesquisa.

Antes de assinar este termo, o Sr.(a) será informado plenamente sobre a pesquisa, não hesitando em formular perguntas sobre qualquer aspecto que julgar conveniente esclarecer. É importante estar ciente das seguintes condições:

1. **Exames e procedimentos que serão realizados:** o voluntário será submetido à coleta de sangue e saliva. Serão coletados 8 ml de sangue por punção venosa periférica e 1 ml de saliva utilizando um coletor comercial pelos técnicos especializados do Grupo de Atendimento para Hepatites Virais (IOC/FIOCRUZ). Também serão coletadas amostras de sangue em papel de filtro que serão coletadas por punção digital com lanceta e aplicadas em papel de filtro Whatmann 903. Alternativamente, as amostras de sangue total obtidas por punção venosa serão aplicadas em papel de filtro Whatmann 903.
2. **Benefícios:** Obter resultado de exames laboratoriais para Hepatite B e C que serão entregues acompanhados de esclarecimentos sobre o significado dos resultados de maneira confidencial. O (a) Sr. (a) também será encaminhado para unidades de saúde do Estado do Rio de Janeiro, nos casos em que o tratamento da hepatite se fizer necessário. Esta pesquisa poderá não trazer benefícios imediatos para o meu acompanhamento clínico, mas poderá auxiliar no desenvolvimento de métodos inovadores para o diagnóstico da infecção pelos vírus das hepatites B e C.
3. **Inconvenientes:** Caso seja necessário, o (a) Sr. (a) será contatado por um dos membros da pesquisa que irá perguntar se o (a) Sr. (a) está disposto a doar nova amostra de sangue. O (a) Sr. (a) estará livre para recusar esta solicitação.
4. **Riscos potenciais conhecidos até o dia de hoje:** Os possíveis riscos e desconfortos são aqueles relacionados com a retirada rotineira de sangue, dor ou rouidão no local que serão controladas por uma coleta de sangue realizada dentro das normas de biossegurança.
5. **Garantia de esclarecimentos:** Todos os esclarecimentos sobre a metodologia da pesquisa antes e durante o desenvolvimento da mesma serão realizados pela equipe da Pesquisa.
6. **Utilização para estudos futuros:** O material biológico coletado, após exames, será estocado, podendo ser usado posteriormente, em outras pesquisas com fins semelhantes, mas somente após a avaliação, pelo Comitê de Ética em Pesquisa, que poderá dispensar a assinatura de um novo Termo de Consentimento, todavia mantendo sempre a identidade do doador em sigilo;

Eu, _____ (nome do(a) paciente),
abaixo identificado(a) e firmado(a), declaro ter sido informado(a) claramente sobre todas as indicações e riscos
relacionados à coleta de sangue e saliva.

Os termos médicos foram explicados e todas as minhas dúvidas foram esclarecidas pelo pesquisador
_____ (nome do pesquisador).

Expresso também minha concordância e espontânea vontade em submeter-me ao referido procedimento (coleta
de sangue e saliva).

Entendi que minhas informações pessoais poderão ser revistas por pessoas devidamente autorizadas para
conduzir a pesquisa, porém serão estritamente **CONFIDENCIAIS** e, de forma alguma, poderão tornar-se
públicas.

Assim, declaro que:

- Fui claramente informado a respeito dos benefícios que a pesquisa pode trazer na avaliação dos resultados dos
exames usados no diagnóstico das hepatites virais.

- Fui também claramente informado a respeito dos potenciais riscos relacionados a coleta de sangue para a
realização desses exames.

() Autorizo a coleta, o depósito, o armazenamento e a utilização do material biológico coletado.

() Não autorizo o armazenamento da minha amostra para estudos futuros.

Os novos exames que podem ser realizados levarão mais informações sobre as hepatites virais e aspectos
relacionados. Além disto, o Sr. (a) tem o direito de receber os resultados destes novos exames, caso tenha
interesse, pedimos que deixe um telefone de contato: _____

Toda nova pesquisa a ser realizada com o material armazenado será submetida para aprovação do Comitê de
Ética em Pesquisa (CEP) institucional e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
(CONEP);

Paciente: _____ RG do paciente: _____

Sexo do paciente: () Masculino () Idade: _____ Telefone: () _____
Feminino

Endereço: _____ Cidade: _____ CEP: _____ -

Responsável legal (quando for o caso): _____

RG do responsável legal: _____

Assinatura do paciente ou do responsável legal: _____

Pesquisador Responsável: Livia Melo Villar

RG:11403613-0/IFP

Caso tenha alguma dúvida ou necessite de qualquer esclarecimento sobre o estudo você pode entrar em contato
com o pesquisador relacionados acima:

Laboratório de Hepatites Virais, fone 2562-1918.

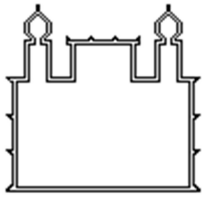
(local e data)

Testemunha: _____ (nome completo)

(assinatura)

Assinatura do pesquisador responsável.

11.1. Termo de consentimento livre esclarecido estudo de conhecimento

 FIOCRUZ	Ministério da Saúde Fundação Oswaldo Cruz Instituto Oswaldo Cruz
--	--

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Projeto de pesquisa: “Avaliação do conhecimento sobre hepatites virais na população brasileira”

Instituição: FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Investigadora Principal: Dra. Livia Melo Villar

O (A) Sr. (a) está sendo convidado (a) a participar de um estudo que irá avaliar o nível de conhecimento sobre as hepatites virais na população brasileira.

Este documento pretende fornecer a (o) Sr. (a) informações sobre o estudo, detalhando os benefícios e riscos potenciais. O (A) Sr. (a) poderá recusar-se a participar da pesquisa sem que este fato venha lhe causar qualquer constrangimento. Os investigadores se obrigam a não revelar sua identidade em qualquer publicação resultante de informações obtidas durante o estudo.

Antes de assinar este termo, o Sr. (a) deve informar-se plenamente sobre a pesquisa, não hesitando em formular perguntas sobre qualquer aspecto que julgar conveniente esclarecer. É importante estar ciente das seguintes condições:
Objetivo da pesquisa: **Avaliar o nível de percepção sobre hepatites virais na população brasileira para definir os conhecimentos e dificuldades sobre o tema a fim de definir estratégias para fornecer informações sobre hepatites virais.**

Procedimentos. Será realizada a aplicação de questionário para cada indivíduo contendo questões fechadas sobre diversos aspectos ligados às hepatites virais.

Registro de imagens (fotos e vídeos): a ser utilizado exclusivamente com fins acadêmicos, incluindo publicações dos resultados obtidos através de veículos de divulgação científica.

Benefícios: Obter informações sobre hepatites virais assim como avaliar o seu nível de conhecimento sobre o assunto.

Riscos potenciais conhecidos até o dia de hoje: Os riscos potenciais da pesquisa são aqueles relacionados a questões sobre nível de escolaridade e renda econômica que podem gerar constrangimento a você. Além disso, você pode ficar constrangido por não saber responder as perguntas sobre o conhecimento das hepatites virais. Entretanto estes riscos serão minimizados pela aplicação do questionário por profissionais treinados onde o sigilo e confidencialidade serão mantidos. Caso sinta algum constrangimento, você não precisa responder a questão.

Eu _____, declaro estar ciente do inteiro teor deste termo de consentimento e devidamente esclarecido sobre os objetivos da investigação e da necessidade e importância da coleta de informações sobre hepatites virais entre a população geral para melhorar o nível de conhecimento sobre o assunto. Declaro ainda, pois, dar consentimento para participar da coleta de informações sobre hepatites virais através de questionário. Pesquisadores da área de saúde, treinadas e qualificadas darão prosseguimento ao procedimento, observando os princípios bioéticos, além de sigilo da identidade.

O termo será assinado em duas vias de igual teor e o voluntário ficará com exemplar assinado por ele e pela pesquisadora a outra via permanecerá registrada nos arquivos da Fundação Oswaldo Cruz.

Caso tenha alguma dúvida ou necessite de qualquer esclarecimento sobre o estudo você pode entrar em contato com a pesquisadora Dra. Livia Melo Villar - Laboratório de Hepatites Virais, fone 21 2562-1918, endereço: Av. Brasil, 4365, Manguinhos – RJ.

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos - CEP Fiocruz/IOC. Avenida Brasil, 4.036 - sala 705 (Expansão)

Manguinhos - Rio de Janeiro-RJ - CEP: 21.040-360 Tel.: (21) 3882-9011 Tel/Fax: (21) 2561-4815

e-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br Skype: cep_fiocruz_ioc,

nos seguintes horários: de segunda a sexta-feira, de 8 às 17:00 horas.

(local e data)

Nome do voluntário: _____ ID: _____

Endereço do voluntário: _____ Bairro: _____

Cidade: _____ CEP _____ - Telefone: _____

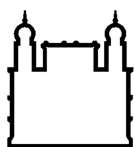
Responsável legal (quando for o caso): _____ ID: _____

Assinatura do paciente ou do responsável legal: _____

Assinatura da testemunha

Assinatura do investigador

11.2. Termo de consentimento livre esclarecido para estudo com SSPF



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz
Laboratório de Hepatites Virais

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Instituição: Laboratório de Hepatites Virais do Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz

Projeto de Pesquisa: Avaliação de Marcadores do vírus da hepatite B e C obtidos em papel de filtro armazenados em diferentes condições ambientais

Pesquisador: Dra. Lia Laura Lewis-Ximenez e Livia Melo Villar

Como voluntário, o (a) Sr. (a) está sendo convidado a participar de uma pesquisa realizada pelo Laboratório de Hepatites Virais do Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz sob a coordenação da Dra. Lívia Melo Villar. O objetivo da pesquisa é padronizar o diagnóstico da infecção pelos vírus das hepatites B e C através de testes realizados em sangue em papel de filtro.

Este documento pretende fornecer a (o) Sr. (a) informações sobre o problema de saúde em estudo, detalhando os procedimentos, exames, benefícios, inconvenientes e riscos potenciais. O (a) Sr.(a) possui a liberdade de recusar a participar da pesquisa ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização e sem prejuízo ao seu cuidado.

Os investigadores se obrigam a não revelar sua identidade em qualquer publicação resultante de informações obtidas durante o estudo. Os exames e procedimentos aplicados são gratuitos. O (a) Sr. (a) receberá todos os cuidados médicos adequados para o controle dos efeitos colaterais que possam ocorrer em consequência de sua participação na pesquisa.

Antes de assinar este termo, o Sr.(a) será informado plenamente sobre a pesquisa, não hesitando em formular perguntas sobre qualquer aspecto que julgar conveniente esclarecer. É importante estar ciente das seguintes condições:

1. **Exames e procedimentos que serão realizados:** o voluntário será submetido à coleta de sangue. Serão coletados 8 ml de sangue por punção venosa periférica pelos técnicos especializados do Grupo de Atendimento para Hepatites Virais (IOC/FIOCRUZ). Também serão coletadas amostras de sangue em papel de filtro que serão coletadas por punção digital com lanceta e aplicadas em papel de filtro Whatmann 903. Alternativamente, as amostras de sangue total obtidas por punção venosa serão aplicadas em papel de filtro Whatmann 903.
2. **Benefícios:** Obter resultado de exames laboratoriais para Hepatite B e C que serão entregues acompanhados de esclarecimentos sobre o significado dos resultados de maneira confidencial. O (a) Sr. (a) também será encaminhado para unidades de saúde do Estado do Rio de Janeiro, nos casos em que o tratamento da hepatite se fizer necessário. Esta pesquisa poderá não trazer benefícios imediatos para o meu acompanhamento clínico, mas poderá auxiliar no desenvolvimento de métodos inovadores para o diagnóstico da infecção pelos vírus das hepatites B e C.
3. **Inconvenientes:** Caso seja necessário, o (a) Sr. (a) será contatado por um dos membros da pesquisa que irá perguntar se o (a) Sr. (a) está disposto a doar nova amostra de sangue. O (a) Sr. (a) estará livre para recusar esta solicitação.
4. **Riscos potenciais conhecidos até o dia de hoje:** Os possíveis riscos e desconfortos são aqueles relacionados com a retirada rotineira de sangue, dor ou rouidão no local que serão controladas por uma coleta de sangue realizada dentro das normas de biossegurança.
5. **Garantia de esclarecimentos:** Todos os esclarecimentos sobre a metodologia da pesquisa antes e durante o desenvolvimento da mesma serão realizados pela equipe da Pesquisa.
6. **Utilização para estudos futuros:** O material biológico coletado, após exames, será estocado, podendo ser usado posteriormente, em outras pesquisas com fins semelhantes, mas somente após a avaliação, pelo Comitê de Ética em Pesquisa, que poderá dispensar a assinatura de um novo Termo de Consentimento, todavia mantendo sempre a identidade do doador em sigilo;

Eu, _____ (nome do(a) paciente), abaixo identificado(a) e firmado(a), declaro ter sido informado(a) claramente sobre todas as indicações e riscos relacionados à coleta de sangue e saliva.

Os termos médicos foram explicados e todas as minhas dúvidas foram esclarecidas pelo pesquisador _____ (nome do pesquisador).

Expresso também minha concordância e espontânea vontade em submeter-me ao referido procedimento (coleta de sangue e saliva).

Entendi que minhas informações pessoais poderão ser revistas por pessoas devidamente autorizadas para conduzir a pesquisa, porém serão estritamente **CONFIDENCIAIS** e, de forma alguma, poderão tornar-se públicas.

Assim, declaro que:

- Fui claramente informado a respeito dos benefícios que a pesquisa pode trazer na avaliação dos resultados dos exames usados no diagnóstico das hepatites virais.

- Fui também claramente informado a respeito dos potenciais riscos relacionados a coleta de sangue para a realização desses exames.

Autorizo a coleta, o depósito, o armazenamento e a utilização do material biológico coletado.

Não autorizo o armazenamento da minha amostra para estudos futuros.

Os novos exames que podem ser realizados levarão mais informações sobre as hepatites virais e aspectos relacionados. Além disto, o Sr. (a) tem o direito de receber os resultados destes novos exames, caso tenha interesse, pedimos que deixe um telefone de contato: _____

Toda nova pesquisa a ser realizada com o material armazenado será submetida para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) institucional e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP);

Paciente: _____ RG do paciente: _____

Sexo do paciente: Masculino (Idade: _____ Telefone: () _____
 Feminino

Endereço: _____ Cidade: _____ CEP: _____
- _____

Responsável legal (quando for o caso): _____

RG do responsável legal: _____

Assinatura do paciente ou do responsável legal: _____

Pesquisador Responsável: Livia Melo Villar RG:11403613-0/IFP

Caso tenha alguma dúvida ou necessite de qualquer esclarecimento sobre o estudo você pode entrar em contato com o pesquisador relacionados acima:

Laboratório de Hepatites Virais, fone 2562-1918.


(local e data)

Testemunha: _____ (nome completo)

(assinatura)

Assinatura do pesquisador responsável.

11.3. Questionário Sócio demográfico

 Ministério da Saúde FIUCRUZ Fundação Oswaldo Cruz		INSTITUTO OSWALDO CRUZ LABORATÓRIO DE HEPATITES VIRAIS Rua Leopoldo Bulhões, nº 1480, CEP: 21041-210 Pav. Hélio e Peggy Pereira, Bloco A (Térreo), Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ	
P1)	Data de Nascimento: / /	P2) Profissão:	P3) Idade:
P4)	Sexo: () 1. Masculino () 2. Feminino		
P5)	Estado Civil: () 1. Casado () 2. Solteiro () 3. União estável		
P6)	Cor: () 1. Branco () 2. Negro () 3. Asiático		
P7)	Escolaridade () 1. Analfabeto () 2. Educação Infantil () 3. EF(1º grau) completo	() 4. EF(1º grau) incompleto () 5. EM(2º grau) completo () 6. EM(2º grau) incompleto () 7. ES completo	() 8. ES incompleto () 9. Curso de Pós-Graduação completo () 10. Curso de Pós-Graduação incompleto
P8)	Altura (cm):		
P9)	Massa (Kg):		
P10)	Pressão Arterial:		
P11)	Circunferência Abdominal:		
P12)	A renda de sua família está em torno de quantos salários mínimos (salário mínimo = R\$ 510,00)? () 1. Nenhum () 2. Menos de 1 () 3. 1 a 3 () 4. 4 a 6 () 5. 7 a 9 () 6. 10 a 12 () 7. Mais de 12		
P13)	Você alguma vez já ficou com a pele e os olhos amarelos e/ou urina muito escura (cor de ‘cha preto’ ou ‘coca-cola’ ou teve hepatite confirmada por exame de sangue? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não se lembra		
P14)	No caso de ter hepatite, já fez ou faz uso de algum medicamento para hepatite? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder		
P15)	Você já foi vacinado contra Hepatite B ? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder		
P16)	No caso de ter sido vacinado, quantas doses tomou? () 1. 3 doses () 2. 2 doses () 3. 1 dose () 4. Não quis responder () 5. Não sabe () 6. Não foi vacinado		
P17)	Você já foi submetido(a) a transfusão de sangue ou plasma? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder		
P18)	Foi transfundido antes de 1994? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder		
P19)	Você já fez hemodiálise? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder		
P20)	Você tem alguma tatuagem no corpo? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder		
P21)	Você tem algum piercing no corpo? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder		
P22)	Você já furou a orelha para colocar brincos? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder		
P22)	Você já furou a orelha para colocar brincos? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder		
P23)	Você já fez acupuntura? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder		
P24)	Você já cuidou das unhas na manicure? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder		
P25)	Usou o seu próprio alicate? () 1. Sim, usou () 2. Não, não usou () 3. Não frequenta manicure		
P26)	O alicate que usava era esterilizado? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder		
P27)	Já fez depilação em salão de beleza? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder		
P28)	Os materiais eram descartáveis ou esterilizados?		

	() 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder
P29)	Você já compartilhou laminas ou gilete com outra pessoa? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder
P30)	Você já compartilhou escova de dentes com outra pessoa? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder
P31)	Você já fez algum tipo de tratamento dentário (extração, canal, cirurgia gengival, implante)? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder
P32)	Você já foi atendido, por qualquer motivo, em alguma unidade de emergência ou urgência e mantido com acesso venoso ou recebeu medicamento(s) injetável(is)? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder
P33)	Você já fez uso de algum tipo de droga ilícita injetável ou inalatória? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder
P34)	Com que frequência faz uso de drogas? () 1. Frequentemente () 2. Raramente () 3. Não sabe () 4. Não quis responder () 5. De vez em quando
P35)	Qual o tipo de droga? () 1. Cocaína () 2. Heroína () 3. Crack () 4. Êxtase () 5. Outra () 6. Não sabe () 7. Não quis responder
P36)	Já compartilhou agulha, seringa, canudo ou outro objeto com outra pessoa? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder
P37)	Qual a sua orientação sexual? () 1. Heterossexual () 2. Homossexual () 3. Bissexual () 4. Não sabe () 5. Não quis responder
P38)	Você já teve relação sexual com alguém? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder
P39)	Qual o numero de parceiros (as) por ano? () 1. Menos de 5 () 2. entre 6-10 () 3. Mais de 10 () 4. Fixo () 5. Não sabe () 6. Não quis responder
P40)	Com que frequência faz uso de camisinha? () 1. Sempre () 2. Nunca () 3. Raramente () 4. De vez em quando () 5. Frequentemente () 6. Não sabe () 7. Não quis responder
P41)	Você já fez sexo oral? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder
P42)	Você já fez sexo anal? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder
P43)	Qual foi o tipo de sexo anal? () 1. Insestivo () 2. Receptivo () 3. Não sabe () 4. Não quis responder
P44)	Houve sangramento durante? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder
P45)	Houve ejaculação? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder () 5. Não se aplica
P46)	Você já teve relação sexual com parceiro (a) com hepatite viral ou AIDS? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder
P47)	De que tipo?
P48)	Você já teve contato dentro de casa com alguém com hepatite viral ou AIDS? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder
P49)	Você já teve alguma doença sexualmente transmissível ou venerea? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder
P50)	Qual?
P51)	Voce ingere bebida alcoólica? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder
P52)	Com que frequência ingere bebida alcoólica? () 1. 1x semana () 2. 2x semana () 3. 3x semana () 4. 4x semana () 5. 5x ou mais/semana
P53)	Toma algum medicamento regularmente? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder
P54)	Qual medicamento?

11.4. Questionário sobre conhecimento das Hepatites Virais no estudo nas cidades do Rio de Janeiro e Manaus

Name: _____ **Gender:** Male Female **Age:** ____ years


Education level: Illiterate Primary school Secondary school College

Family income: Low Intermediate High

Occupation _____ **City of residence:** _____

1. What geographic region of Brasil has more individuals infected by hepatitis?
a) South b) North c) Northeast d) Midwest e) Do not know
 2. Which are the agents that cause hepatitis? a) Virus b) Viruses and bacteria
c) Alcohol and drugs d) all items cited before e) do not know
 3. Is there? a) Hepatitis A b) Hepatitis B c) Hepatitis C d) Hepatitis D e) Hepatitis E f) do not know
 4. Hepatitis can be spread by seafood: Yes No do not know Which are ____
 5. Hepatitis can be spread by Blood: Yes No do not know Which are ____
 6. Sexual contact can spread hepatitis Yes No do not know Which are ____
 7. Hepatitis can be spread by water or vegetables without treatment Yes No do not know Which are ____
 8. Which of the groups below present elevated risk of acquiring viral hepatitis
a) Person who work in clinical analysis laboratory yes no do not know
b) Person who work in hospitals yes no do not know
c) Person who use drugs yes no do not know
d) Person who had tattoos or piercings yes no do not know
 9. Viral hepatitis can be diagnosed by
a) blood test yes no do not know
b) Urinalysis yes no do not know
c) Biopsy yes no do not know
d) ultrasonography and X-ray yes no do not know
 10. Symptoms of viral hepatitis could be:
A person can be infected with hepatitis and not have any symptoms yes no do not know
Symptoms can appear after years post infection yes no do not know
Fever yes no do not know
Jaundice yes no do not know
 11. Viral hepatitis complications could be:
a) cirrhosis yes no do not know
b) Liver Cancer yes no do not know
c) loss of body movements yes no do not know
d) bleeding from the mouth yes no do not know
e) blood in stool yes no do not know
 12. Viral hepatitis can be cured yes no do not know
 13. There are vaccines for viral hepatitis yes no do not know Which are ____
 14. You can't have the same hepatitis more than once yes no do not know
 15. Do you know the differences between acute and chronic hepatitis yes no do not know
 16. HAV and HEV can be prevented by
a) Septic tanks and sewerage system yes no do not know
b) piped water yes no do not know
c) providing vaccine for HAV yes no do not know
 17. HBV and HCV can be prevented by
a) Screening of blood donors without hepatitis yes no do not know
b) use of condoms yes no do not know
c) providing vaccine to HBV and medicines to HCV. yes no do not know
d) All answers above yes no do not know
 18. Viral hepatitis can be prevented by
a) MMR vaccine yes no do not know b) BCG vaccine yes no do not know
c) polio vaccine yes no do not know
 19. How can you collaborate in the control of viral hepatitis?
a) Teaching what you learned about the disease to the people who frequent the same places you got infected yes no do not know
b) Informing to your family and colleagues to search for a health service yes no do not know
c) Informing family and colleagues to buy and take good medicine to inactivate the virus yes no do not know
-

11.5. Questionário sobre conhecimento das Hepatites Virais no estudo de diferentes populações

 <p>Município de Saúde IOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<p>INSTITUTO OSWALDO CRUZ LABORATÓRIO DE HEPATITES VIRAIS</p> <p>Rua Leopoldo Bulhões, nº 1480, CEP: 21041-210 Pav. Hélio e Peggy Pereira, Bloco A (Térreo), Manginhos, Rio de Janeiro, RJ</p>
---	--

QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO DO CONHECIMENTO SOBRE HEPATITES VIRAIS

IDENTIFICAÇÃO

Data do nascimento: ___/___/___ **Idade:** _____ anos

Profissão: _____ **Local:** _____

Sexo: Masculino Feminino **Cidade que mora:** _____

Cor: Branca Preta Parda Amarela Indígena Sem declaração

Estado civil: Casado Solteiro União estável Divorciado

Escolaridade

<input type="checkbox"/> Analfabeto	<input type="checkbox"/> Ensino Fundamental incompleto	<input type="checkbox"/> Ensino Superior completo
<input type="checkbox"/> Educação Infantil	<input type="checkbox"/> Ensino Médio completo	<input type="checkbox"/> Ensino Superior incompleto
<input type="checkbox"/> Ensino Fundamental completo	<input type="checkbox"/> Ensino Médio incompleto	<input type="checkbox"/> Pós-Graduação completa
		<input type="checkbox"/> Pós-Graduação incompleta

Quantas pessoas vivem na sua casa? _____

Renda mensal de todas as pessoas que vivem na casa é de aproximadamente R\$ _____

1. As hepatites podem ser causadas por:	Sim	Não	Não sabe
1.a. Vírus?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1.b. Bactérias?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1.c. Álcool?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1.d. Medicamentos?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Com relação aos tipos de hepatites, existe:	Sim	Não	Não sabe
2.a. Hepatite A?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2.b. Hepatite B?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2.c. Hepatite C?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2.d. Hepatite D?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2.e. Hepatite E?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

	Sim	Se sim, qual(is) hepatite(s)?	Não	Não sabe
3. Existem vacinas para as hepatites?	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Você pode ter um mesmo tipo de hepatite mais de uma vez?	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. A hepatite pode ser transmitida através de:	Sim	Se sim, qual(is) hepatite(s)?	Não	Não sabe
5.a. Transfusão de sangue ou transplante de órgãos	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.b. Contato sexual	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.c. Ingestão de água ou verduras contaminadas	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.d. Ingestão de frutos do mar	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.e. Tatuagem, piercing ou brincos	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.f. Uso ou compartilhamento de instrumentos contaminados (alicate, escova de dentes, giletes ou lâminas)	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.g. Hemodiálise	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.h. Mosquitos	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.i. Ar em ambientes fechados, como elevador, ônibus etc	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. As hepatites podem ser prevenidas:	Sim	Se sim, qual (is) hepatite(s)?	Não	Não sabe
6.a Construindo-se fossas e rede de esgoto adequado	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.b Canalizando-se o sistema de água	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.c Selecionando doadores de sangue não infectados	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.d Lavando-se alimentos e realizando tratamento adequado de bebidas	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.e Eliminado o mosquito vetor	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.f Fornecendo vacina para sua prevenção	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.g Utilizando-se máscaras para evitar contaminação pelo ar	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.h Utilizando-se preservativos durante o ato sexual	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

7. Se você estiver com hepatite, você pode:	Sim	Não	Não sei
7.a. Não sentir nada	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7.b. Apresentar sintomas somente depois de anos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7.c. Apresentar febre, mal estar, fraqueza, falta de apetite, náuseas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7.d. Apresentar a pele amarelada, fezes claras, urina escura	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

8. Apresentam maior chance de contrair hepatite:	Sim	Não	Não sei
8.a. Pessoas que trabalham em laboratório de análises clínicas (ex.: biólogo)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.b. Pessoas que trabalham em hospitais (ex.: médicos e enfermeiras)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.c. Pessoas que trabalham na área rural	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.d. Profissionais que trabalham na área de beleza (ex: manicuras e pedicuras)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.e. Pessoas que usam drogas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.f. Pessoas que fazem tatuagens ou piercing	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.g. Pessoas que vivem em ambientes fechados (ex: creche, asilo, presídio)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.h. Pessoas que trabalham em escritório	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

9. O agravamento da hepatite pode levar à (o):	Sim	Não	Não sei
9.a. Cirrose	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9.b. Câncer de fígado	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9.c. Perda dos movimentos do corpo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9.d. Sangramento pela boca	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9.e. Perda de visão	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9.f. Sangue nas fezes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

DATA: ____/____/____

Assinatura do entrevistador