

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE MEDICINA

ISABELA CAVALCANTE SALGADO

**SOROCONVERSÃO TARDIA DO HBEAG EM PORTADORES DO SUBGENÓTIPO
D4 DO VÍRUS DA HEPATITE B**

São Luís
2017

ISABELA CAVALCANTE SALGADO

**SOROCONVERSÃO TARDIA DO HBEAG EM PORTADORES DO SUBGENÓTIPO
D4 DO VÍRUS DA HEPATITE B**

Artigo apresentado ao Curso de Medicina da
Universidade Federal do Maranhão, como
requisito para obtenção do grau de Médico.

Orientadora: Prof.^a Dra. Adalgisa de Souza
Paiva Ferreira

São Luís
2017

Salgado, Isabela Cavalcante

Soroconversão tardia do HBeAg em portadores do subgenótipo D4 do vírus da hepatite B/ Isabela Cavalcante Salgado. 2017.

46 f.

Orientadora: Prof^a Dra. Adalgisa de Souza Paiva Ferreira

Artigo (Graduação) Curso de Medicina, Universidade Federal do Maranhão, 2017.

1. Hepatite B. 2. Soroconversão HBeAg. I. Ferreira, Adalgisa de Souza Paiva.(Orient). II. Título.

ISABELA CAVALCANTE SALGADO

**SOROCONVERSÃO TARDIA DO HBEAG EM PORTADORES DO SUBGENÓTIPO
D4 DO VÍRUS DA HEPATITE B**

Artigo apresentado ao Curso de Medicina da
Universidade Federal do Maranhão, como
requisito para obtenção do grau de Médico.

Aprovado em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Adalgisa de Souza Paiva Ferreira (Orientadora)

Universidade Federal do Maranhão

Ana Cristina Rodrigues Saldanha

Universidade Federal do Maranhão

Rosângela Cipriano de Souza

Universidade Federal do Maranhão

Rogério Soares Castro

Hospital Universitário Presidente Dutra

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que permitiu que eu chegasse até aqui. Por me dar força e coragem para seguir em frente e por ter me ajudado a compreender que tudo acontece em seu devido tempo.

Aos meus pais, Afonso Celso Caldeira Salgado e Marlúcia Cavalcante Salgado, pelo amor, paciência e todo incentivo. Por não medirem esforços para que eu pudesse levar meus estudos adiante e por terem vibrado junto a cada conquista. Essa vitória é de vocês.

Às minhas irmãs Luana Cavalcante Salgado e Vanessa Cavalcante Salgado, pela proteção, cuidado e lealdade compartilhados e por acreditarem que posso conquistar todos os meus sonhos. Agradeço, também, por me presentear com meus queridos sobrinhos. E a estes, agradeço por deixarem os dias mais suaves e que, no futuro, possam entender o significado de esforço e dedicação.

Aos demais familiares, agradeço por sempre acreditarem no meu potencial. Em especial, ao meu avô Natalino Salgado (*in memoriam*) por ter sonhado comigo a realização dessa trajetória.

À Universidade Federal do Maranhão, pelas experiências, conhecimentos, e habilidades adquiridos durante o curso de Medicina. Carregar o brasão da minha Universidade é motivo de orgulho.

Àquela que tanto admiro, minha professora e orientadora, Adalgisa de Souza Paiva Ferreira, ver sua competência profissional singular e sua dedicação pelo ensino me fazem sentir ainda mais grata pela orientação, apoio e confiança.

Aos demais docentes pelo conhecimento transmitido durante as aulas, além dos ensinamentos extraclasse, por terem ajudado no meu amadurecimento pessoal e principalmente profissional.

Aos profissionais, mestrandos, doutorandos e parceiros de iniciação científica do Centro de Pesquisa Clínica (CEPEC) que acolheram este projeto, local no qual se desenvolveu grande parte desta pesquisa. Em especial a Marinilde Teles Souza por sua dedicação e trabalho de forma ativa na construção deste estudo.

À Liga Acadêmica de Combate às Hepatites Virais, onde pude crescer academicamente e como médica em formação, juntamente com os demais ligantes e pacientes. Em especial, ao preceptor Rogério Soares Castro, obrigada por ser fonte de inspiração e mostrar que compromisso com o problema do outro é fundamental para o estabelecimento de uma relação médico-paciente sólida.

A Adriano Oliveira Brandão Ferreira, pelo companheirismo, cuidado, paciência e compreensão ao longo desses anos, ajudando-me a superar-me a todo instante, compartilhando comigo todas as novas etapas da vida.

Às minhas amigas de longa data, Camila Marão e Jéssica Belluomini, pela alegria de crescer com vocês e sempre estarem presentes. Saibam que estão eternizadas em minha memória. Ao longo dessa caminhada vocês se tornaram verdadeiras irmãs.

Aos meus amigos que convivi ao longo dessa jornada de seis anos, em especial a Lara Melo, Thais Feres, Thais Martins, Renan Gottardi, Vinícius Barbalho e tantos outros que poderia citar, por compartilhar com vocês essa caminhada e poder vivenciar cada momento juntos.

Agradeço, também, a todos aqueles, que apesar de não terem sido citados diretamente, ajudaram na realização desse sonho.

“Podemos recuar em direção à segurança, ou avançar em direção ao crescimento. A opção pelo crescimento tem que ser feita repetidas vezes. E o medo tem que ser superado a cada momento”

Abraham Maslow

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 MÉTODO	16
2.1 Estudos	17
2.1.1 Estudo 1.....	17
2.1.2 Estudo 2.....	17
2.2 Amostra estudada	17
2.3 Testes realizados	18
2.4 Análise estatística	18
2.5 Aspectos éticos	18
3 RESULTADOS	19
4 DISCUSSÃO	20
REFERÊNCIAS	23
APÊNDICES	27
ANEXOS	33

TABELAS

Tabela 1	Descrição das características demográficas e virológicas de portadores do VHB, com subgenótipo A1 e D4.....	19
Tabela 2	Comparação das características demográficas e virológicas de portadores do VHB, com subgenótipo A1 e D4.....	20
Tabela 3	Comparação dos níveis de VHB-DNA, entre portadores do VHB subgenótipo A1 e D4, com HBeAg negativos.....	20

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Anti-HBc	Anticorpo contra o antígeno do core do vírus da hepatite B
Anti-HBe	Anticorpo contra o antígeno e do vírus da hepatite B
Anti-HBs	Anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B
CEPEC	Centro de Pesquisa Clínica do HU-UFMA
DNA	Ácido desoxirribonucléico
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FAPEMA	Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão
HBeAg	Antígeno e do vírus da hepatite B
HBsAg	Antígeno de superfície do vírus da hepatite B
HUUFMA	Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão
LACEN	Laboratório Central do Estado
LGHT FM/USP	Laboratório de Gastroenterologia e Hepatologia Tropical da Faculdade de Medicina da USP
ML	Mililitro
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Polymerase Chain Reaction
PPSUS	Programa Pesquisa para o SUS
SUS	Sistema Único de Saúde
UI/ml	Unidades Internacionais por mililitro
VHB	Vírus da Hepatite B

ARTIGO

Soroconversão tardia do HBeAg em portadores do subgenótipo D4 do vírus da hepatite B

(Normalizado de acordo com a Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical)

Soroconversão tardia do HBeAg em portadores do subgenótipo D4 do vírus da hepatite B

Delayed HBeAg seroconversion in carries of sub genotype D4 virus hepatitis B

Isabela Cavalcante Salgado¹

Adalgisa de Souza Paiva Ferreira²

¹ Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil.

² Universidade Federal do Maranhão, Professora Adjunta, Doutora da Disciplina de Gastroenterologia. São Luís, MA, Brasil.

Endereço para Correspondência: Isabela Cavalcante Salgado, Avenida da Universidade, quadra 04, número 32, cohafuma, 65070-650 São Luís, MA, Brasil. Telefone: (98) 981533952. E-mail: bela_salgado@hotmail.com.

RESUMO

Introdução: O vírus da hepatite B (HBV) apresenta diversidade do seu genoma, o que o faz ser classificado em diferentes genótipos e subgenótipos (A-J). Tem sido demonstrado que os diversos genótipos estão relacionados com a história natural da infecção. A manutenção da replicação viral pode ser um dos fatores relacionado aos genótipos. **Materiais e métodos:** Foram estudados portadores do HBV identificados em dois estudos que envolveram indivíduos provenientes do Estado do Maranhão, Nordeste do Brasil, que tinham determinação de genótipos e subgenótipos, sorologias para o HBeAg e anti-HBe e cargas virais. Sorologias foram realizadas por ELISA, HBV-DNA quantificado por PCR em tempo real e genotipagem realizada por sequenciamento. **Resultados:** Foram identificados 146 portadores. Dentre estes, 136 eram subgenótipo A1 ou D4. Sendo 85 - A1 (62,5%) e 51 - D4 (37,5%). Não houve diferença entre os grupos quando foi avaliado idade (42 ± 12 vs 38 ± 17 $p=0.11$) ou gênero (masculino 48,5% vs 51,5% $p=0.18$). Entre os portadores do subgenótipo D4 havia mais indivíduos com HBeAg positivo (23,5% vs 9,4 %, $p=0.02$) e maior proporção de portadores de cargas virais acima de 20.000 UI/ml (43,1% vs 12,9% $p<0.0001$), mesmo quando avaliados apenas aqueles com HBeAg negativos (25,6% vs 6,5% $p=0.007$), quando comparados com os de subgenótipo A1. **Conclusão:** portadores do HBV, subgenótipo D4, quando comparados com subgenótipo A1 apresentam soroconversão mais tardia do HBeAg e maiores níveis de HBV-DNA, sugerindo que esse subgenótipo possivelmente está relacionado com potencial para doença mais grave e maior facilidade de transmissão da infecção.

Palavras-chaves: Hepatite B. Soroconversão HBeAg. Subgenótipo D4.

ABSTRACT

Introduction: The hepatitis B virus (HBV) present diversity of its genome, which is to be classified in different genotypes and subgenotypes (A-J). It has been demonstrated that different genotypes are related to the natural history of infection. The maintenance of viral replication could be one of the factors related to genotypes. **Materials and methods:** HPV carriers identified have been studied in two studies involving individuals from the state of Maranhão, northeast, Brazil, which had genotyping and subgenotypes, serology for HBeAg and anti-HBe and certain viral loads. Serological tests were performed by ELISA, HBV DNA quantification real time PCR and genotyping performed by sequencing. **Results:** We identified 146 patients. Among these, 136 were subgenotype A1 or D4. It is 85 - A1 (62.5%) and 51 - D4 (37.5%). No difference was found between groups when age was evaluated (42 ± 12 vs 38 ± 17 $p = 0.11$) or gender (male 48.5% vs 51.5% $P = 0.18$). Among the D4 subgenotype carriers had more patients with HBeAg positive (23.5% vs 9.4%, $p = 0.02$) and a higher proportion of patients with viral loads above 20,000 IU / ml (43.1% vs 12.9 % $p < 0.0001$), even when only those with negative HBeAg (25.6% vs 6.5%, $p = 0.007$) when compared with the A1 subgenotype. **Conclusion:** HBV carriers, subgenotype D4, compared to A1 subgenotype have delayed HBeAg seroconversion and higher levels of HBV DNA, suggesting that this subgenotype is possibly related to the potential for more severe illness and greater ease of transmission of infection.

Keywords: Hepatitis B. HBeAg Seroconversion. Subgenotype D4.

1 INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus da hepatite B (VHB) ainda é um grande problema de saúde no mundo e tem desfechos importantes como cirrose hepática e carcinoma hepatocelular (CHC), que estão associados a aproximadamente 600.000 mortes por ano¹. Estimativas atuais indicam que dois bilhões de pessoas já foram infectados pelo VHB em todo o mundo^{2,3} e cerca de 240 milhões são portadores crônicos⁴.

O diagnóstico das várias fases desta infecção viral baseia-se em achados sorológicos e moleculares, alterações bioquímicas e histológicas⁵. Na primeira fase, denominada de Imunotolerância, há positividade do antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg), do antígeno e marcador de replicação viral (HBeAg), altos níveis de DNA viral (VHB-DNA), aminotransferases normais e, em geral, não há dano hepático. Na segunda fase, denominada Imunorreação ou hepatite crônica HBeAg positiva, verifica-se a manutenção de HBsAg e HBeAg, flutuações nos níveis de aminotransferases, diminuição do VHB-DNA e presença de atividade inflamatória hepática. Na terceira fase, denominada não replicativa, ocorre soroconversão para o anticorpo contra o antígeno e marcador de replicação viral (anti-HBe), níveis de VHB-DNA baixos ou indetectáveis e aminotransferases normais. Essa fase pode persistir por período indeterminado^{6,7}.

A soroconversão para o anti-HBe pode não significar parada da replicação viral, porque podem ocorrer mutações pontuais nas regiões precore ou core promoter do genoma viral (causando a parada de produção do HBeAg), mas a replicação viral permanece, sendo identificada pelos níveis elevados do VHB-DNA, seria a chamada fase de hepatite crônica HBeAg negativa^{7,8,9}.

Assim, a replicação viral é caracterizada pela presença do HBeAg, que em geral associa-se a altos níveis de VHB-DNA^{3,4} ou identificação de cargas virais acima de 2000 UI/ml em indivíduos com HBeAg negativos⁸.

A progressão da doença hepática está associada com fatores virológicos e do hospedeiro⁹. Entre os fatores virológicos tem sido demonstrado que a presença do HBeAg e maiores cargas virais estão diretamente associadas com a progressão para cirrose e CHC¹⁰. A diversidade genética do seu genoma, caracterizada por diferentes genótipos do VHB (A-J) também parece ter importante papel na manutenção da replicação viral com seus consequentes resultado na história natural¹¹.

Os genótipos têm distribuição diversa ao redor do mundo e guardam estreita relação com a formação dos povos^{12,13,14}. Para os genótipos A, B, C, D, e F, foram descritos subgenótipos^{12,14}.

Dentre os mais frequentes, o genótipo A encontra-se distribuído por todo o mundo, os genótipos B e C são predominantes no continente asiático e o genótipo D prevalece na Europa e Nordeste da África^{12,14}. O genótipo E é predominante na África¹⁵ e o F encontra-se mais frequentemente na América do Sul^{16,17}.

O papel dos diferentes genótipos do VHB na manutenção da replicação viral tem sido demonstrado mais frequentemente nas comparações entre genótipos B e C e entre genótipos A e D, correspondendo aos tipos mais frequentes em cada região estudada^{18,19,20}.

Estudos asiáticos mostraram soroconversão mais tardia do HBeAg em portadores do genótipo C, quando comparado ao genótipo B^{18,21,22,23}. Mais elevadas cargas virais também foram observadas em portadores do genótipo C²⁴.

Entre os genótipos A e D estudos europeu e americano mostraram maiores taxas de soroconversão sustentada do HBeAg entre os primeiros^{25,26}. Do mesmo modo, foram identificadas maiores cargas virais em portadores do genótipo D²⁷.

A maioria dos estudos no Brasil mostra uma maior frequência do genótipo A, seguido pelos genótipos D e F^{16,17,28-31} justificada pela formação do povo brasileiro composto por índios e indivíduos provenientes da imigração africana e europeia¹⁷. Entre os portadores do genótipo D, o subgenótipo mais frequentemente identificado foi o D3³², atribuído a imigração europeia¹⁷.

No estado do Maranhão, Nordeste do país, recentemente foi descrito por Barros et al.³⁰, frequência elevada do subgenótipo D4. Esse último havia sido descrito em apenas dois outros estudos brasileiros da região da Amazônia ocidental^{31,32}.

Ainda não há informações sobre o comportamento deste subgenótipo em relação à frequência de replicação viral. Assim o objetivo desse estudo foi avaliar o estado de replicação viral entre portadores do VHB estudados no estado do Maranhão.

2 MÉTODO

Trata-se de um estudo transversal que envolveu os portadores do VHB, que tinham carga viral e genótipos determinados, proveniente de dois estudos realizados no estado do Maranhão, Nordeste do Brasil.

2.1 Estudos

2.1.1 Estudo 1

Foram incluídos 119 portadores crônicos acompanhados em um centro de referência de atendimento para hepatites virais em um Hospital Universitário que tinham VHB-DNA quantificado e com determinação de genótipo e subgenótipo³⁰.

2.1.2 Estudo 2

Foram incluídos 27 portadores identificados em um estudo transversal, que é parte integrante de um projeto de pesquisa intitulado “Estudos das hepatites B, C e D nos municípios de Urbano Santos, Humberto de Campos e da Região do Baixo Muni, Maranhão, Brasil”. A população foi composta por indivíduos residentes nos municípios mencionados. A coleta de dados foi feita com o uso de um questionário (APÊNDICE A), e as amostras de material biológico após o processamento foram armazenadas em freezers a –80°C e direcionado aos exames sorológicos e de biologia molecular.

A amostragem foi feita com base em conglomerado, inicialmente sorteados os setores com probabilidade proporcional à população, seguido do sorteio dos quarteirões. Com o uso do mapa do setor, inicialmente foram sorteados o quarteirão inicial, seguido do ponto do quarteirão que se iniciava, observando o sentido horário. Não sendo obtido o quantitativo da amostra no setor, seria feito mais um sorteio de quarteirão, observando todos os detalhes, até que se completasse o número estipulado.

2.2 Amostra estudada

Entre os 119 portadores do primeiro estudo, 80 (67%) eram subgenótipo A1, 29 (24%) eram subgenótipo D4, 3 (3%) eram D3, 1 (1%) D2 e 6 (5%) eram F2a.

Entre os 27 do segundo estudo, 5 (19%) eram subgenótipo A1 e 22 (81%) eram subgenótipo D4. Não foram encontrados outros subgenótipos.

Foram então incluídos no estudo os dois subgenótipos mais frequentemente encontrados: A1 e o D4 (n=136). Os dois grupos foram comparados quanto à idade, sexo, frequência do HBeAg e cargas virais (categorizadas em < 2000 UI, entre 2000 e 20.000 UI e > 20.000 UI/ml).

2.3 Testes realizados

Em ambos os estudos os testes sorológicos (HBsAg, anti-HBc total, HBeAg e anti-HBe) e moleculares (quantificação do VHB-DNA e genotipagem) foram realizados utilizando a mesma metodologia. Os testes sorológicos foram realizados no Laboratório Central (LACEN) do Maranhão e no Laboratório de Gastroenterologia e Hepatologia Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (LGHT-FMUSP). Os testes moleculares foram realizados no LGHT-FMUSP.

Os testes sorológicos foram realizados por técnica de ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) usando kits comerciais DiaSorin Ltda, Italy.

A extração do DNA do VHB foi realizada empregando-se o Kit Comercial QIAamp® DNA Blood Mini Kit (Qiagen®, Hilden Germany) a partir de 200 µL de plasma ou soro, seguindo instruções do fabricante.

A quantificação da carga viral foi realizada através da técnica de PCR em tempo real, tal como descrito anteriormente³⁴. A amplificação de um fragmento de 136 pares de bases (pb), que compreende todo o gene HBsAg e parte da polimerase foi feito através da técnica de *nested*-PCR. Todas as sequências dos *primers* e procedimentos de amplificação e sequenciamento já foram descritos^{30,35}.

2.4 Análise Estatística

Diferenças entre variáveis numéricas foram calculadas pelo teste t de *Student*, e entre as nominais o Qui-quadrado. Foi utilizado o programa SPSS, versão 22.0.

2.5 Aspectos Éticos

Estes estudos foram submetidos à Comissão Científica do HUUFMA, à análise do Comitê de Ética em Pesquisa do HUUFMA e tiveram Parecer Consubstanciado de aprovação 487/2007 (ANEXO A) e 448.731 (ANEXO B), atendendo aos requisitos da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde.

Somente após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE B) foi realizada a coleta das informações por meio de questionário, assim como a coleta de sangue para a realização dos exames. Os procedimentos de biossegurança referentes à coleta, manipulação e processamento do material biológico, foram realizados segundo as regras básicas para o trabalho em laboratório.

3 RESULTADOS

Foram identificados os 146 portadores do VHB com VHB-DNA quantificado e genótipos e subgenótipos definidos. Entre eles, 136 (93,1%) tinham subgenótipos A1 e D4. Oitenta e cinco indivíduos tinham genótipo A1 (62,5%) e 51 (37,5%) eram D4. Não houve diferença entre os grupos quando comparado a idade (42 ± 12 vs 38 ± 17 $p=0,11$) ou gênero (masculino 48,5% vs 51,5% $p=0,18$). Quanto a frequência do HBeAg, 20 (14,7%) eram positivos e 116 (85,3%) negativos (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição das características demográficas e virológicas de portadores do VHB, com subgenótipos A1 e D4. São Luís, MA, 2017.

CARACTERÍSTICAS	(n =136)	%
Idade (anos) Média \pm Dp	42 \pm 12	
Gênero		
Masculino	66	48,5
Feminino	70	51,5
Subgenótipos do VHB		
A1	85	62,5
D4	51	37,5
HBeAg		
Positivo	20	14,7
Negativo	116	85,3
Total	136	100,0

VHB: vírus da hepatite B; **Dp:** desvio padrão; **HBeAg:** antígeno E do vírus da hepatite B.

Quando comparados portadores dos subgenótipos A1 e D4 não houve diferença quanto a idade ($p=0,11$) ou gênero ($p=0,18$). Maior frequência de HBeAg positivo (23,5% vs 9,4% $p=0,02$) e cargas virais mais elevadas foram identificadas entre os portadores de D4 ($p<0,001$) (Tabela 2). Quando avaliados apenas os com HBeAg negativos, os portadores do subgenótipo D4 ainda apresentaram maior frequência de cargas virais acima de 20.000 UI/ml (Tabela 3).

Tabela 2. Comparação das características demográficas e virológicas de portadores do VHB, com subgenótipos A1 e D4. São Luís, MA, 2017.

CARACTERÍSTICAS	Subgenótipo A1 (n=85)	Subgenótipo D4 (n=51)	Valor de p
Gênero (masc.)	45 (52,9%)	21 (41,2%)	0,18
Idade (anos)	41±12	38±16	0,11
HBeAg positive	8 (9,4%)	12 (23,5%)	0,02
VHB-DNA			
< 2000 UI/ml	43 (50,6%)	21 (41,2%)	
>2000 e < 20.000	31 (36,5%)	8 (15,7%)	< 0,001
≥ 20.000 UI/ml	11 (12,9%)	22 (43,1%)	

VHB: vírus da hepatite B; **HBeAg:** antígeno E do vírus da hepatite B; **VHB-DNA:** DNA do vírus da hepatite B.

Tabela 3. Comparação dos níveis de VHB-DNA entre portadores do VHB subgenótipos A1 e D4, com HBeAg negativos. São Luís, MA, 2017.

VHB-DNA	Subgenótipo A1 (n=77)	Subgenótipo D4 (n=39)	Valor de p
< 2000 UI/ml	42 (54,5%)	21 (53,8%)	
>2000 e < 20.000	30 (38,9%)	8 (20,5%)	0,007
≥ 20.000 UI/ml	05 (6,5%)	10 (25,6%)	

VHB-DNA: DNA do vírus da hepatite B; **VHB:** vírus da hepatite B; **HBeAg:** antígeno E do vírus da hepatite B.

4 DISCUSSÃO

Neste estudo foram avaliadas características de replicação viral entre 136 portadores do VHB, subgenótipos A1 e D4 (subgenótipos mais frequentemente encontrados) provenientes do estado do Maranhão, nordeste do Brasil. Uma frequência superior do subgenótipo A1 identificada corresponde ao que tem sido descrito na maioria das regiões brasileiras^{17,29,36}.

O genótipo D tem distribuição mundial, revisado recentemente em Ozaras et al.³⁷, mas o subgenótipo D4 tem sido descrito em poucas regiões como na Austrália, Nova Guiné¹⁴, Ruanda³⁸ e predomina no Haiti entre os genótipos D encontrados¹⁵.

Este subgenótipo D4, o segundo mais frequentemente observado no Maranhão³⁰ tem sido pouco encontrado em outras regiões do Brasil^{31,32}. Sua presença no Maranhão tem sido justificada pelo tráfico de escravos provenientes do sudeste da África, diferentemente das

regiões de onde vieram os africanos para o Rio de Janeiro e Bahia, locais de maior desembarque dos escravos no Brasil³⁹.

No estudo de Barros et al.³⁰, foram incluídos 29 portadores do subgenótipo D4 e, na comparação com portadores do subgenótipo A1, houve maior frequência de HBeAg positivo. No presente estudo, que incluiu 51 portadores do subgenótipo D4, incluindo os 29 do estudo de Barros et al.³⁰, foi confirmada a maior frequência do HBeAg e também observada maior proporção de indivíduos com níveis séricos mais elevados de VHB-DNA, mesmo entre aqueles com HBeAg negativos. Não houve diferenças entre as idades dos indivíduos ($p=0.11$) sugerindo que os portadores do D4 não são mais jovens e, portanto, esta não seria a justificativa para a maior frequência do HBeAg.

A Permanência do HBeAg tem sido associada a piores prognósticos na infecção pelo VHB, como foi descrito em Yang et al.⁴⁰, Chu et al.⁴¹, Chen et al.⁴², Ott; Stevens; Wiersma³, Seto et al.⁴³. Esse pior prognóstico deve estar associado ao fato de que em portadores do HBeAg são observadas taxas mais elevadas de VHB-DNA, que claramente estão relacionadas com maior frequência de evolução para cirrose e CHC^{10,40,42,44,45}.

Nessa amostra também foi observada maior frequência de cargas virais acima de 20.000 UI/ml entre os D4 comparados com A1 (43,1% vs 12,9% $p<0.001$), mesmo entre aqueles com HBeAg negativos (25,6% vs 6,5% $p=0.007$). Outro elemento de grande importância é que altas cargas virais também apresentam maiores taxas de transmissão do vírus^{3,45,46}.

Diferentemente do aqui observado, a maioria dos estudos tem associado ao genótipo D a soroconversão mais precoce do HBeAg quando comparado com o genótipo A^{18,25,47}. De fato, um estudo realizado no Sul do Brasil, em região onde a maioria é composta por descendentes europeus, que avaliou a frequência do HBeAg entre indivíduos com genótipos A e D, identificou uma menor frequência de HBeAg entre os portadores do genótipo D (59.5% vs 28.6% respectivamente)⁴⁸.

É importante observar que a maioria dos estudos que comparam os genótipos A e D envolveram populações onde predominam os subgenótipos D1, D2 e D3^{18,19,47,49}. É possível que a ausência do subgenótipo D4 possa ter tido influência nesses resultados. Concordando com esta suposição, um estudo multicêntrico africano desenvolvido por Tanaka et al.¹⁹, comparando o subgenótipo A1 com o genótipo D (não houve descrição de subgenótipo) observou maior frequência do HBeAg nesses últimos, sugerindo que no continente africano, os portadores do genótipo D (e aqui poderia ter influência o subgenótipo D4) podem apresentar soroconversão mais tardia do HBeAg.

Em suma, o estudo atual demonstrou que os portadores do VHB do subgenótipo D4 têm uma maior frequência de HBeAg e maiores taxas de VHB-DNA mesmo entre os HBeAg negativos, quando comparados com portadores de A1, sugerindo uma possível ocorrência de soroconversão tardia do HBeAg e manutenção de cargas virais mais elevadas em portadores do subgenótipo D4, o que poderia favorecer um maior risco de evolução para doença mais grave e também maior taxa de transmissão do vírus.

Este é o estudo com o maior número de portadores do subgenótipo D4 já descrito, em comparação com sugenótipo A1. Infelizmente, não puderam ser avaliadas as apresentações clínicas dos portadores e assim não foi possível verificar se estas maiores taxas de replicação viral estavam relacionadas com pior prognóstico. Estudos de acompanhamento a longo prazo são necessários para definir a real influência do sugnenótipo D4 na historia natural da infecção pelo VHB.

Conflito de interesses

Não houve conflito de interesses (econômicos, pessoais, científicos, assistenciais, educacionais, religiosos e sociais) interferindo nos resultados da pesquisa.

Fontes de financiamento

Este projeto foi contemplado nos seguintes programas: Programa Pesquisa para o SUS: Gestão Compartilhada em Saúde – FAPEMA/MS/CNPQPPSUS, Edital N° 016/2013 – PPSUS, Ministério da Saúde Edital para Seleção de Subprojetos de Pesquisa em DST HIV/Aids e Hepatites Virais - Processo licitatório n ° 01/2013 projeto BRA/K57.

Como bolsista de iniciação científica do PIBIC/FAPEMA/UFMA, foi possível desenvolver a presente pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Kong L-N; Qin B; Ma Q; Li L; Yao Y. Relationship between hepatitis B virus genotype B and C and response to interferon therapy in HBeAg positive chronic hepatitis B patients: A meta-analysis, positive chronic journal of gastroenterology and *Hepatology*. 2014;29:1387–1395.
2. Besharat S; Poustchi H; Mohamadkhani A; Katoonizadeh A; Moradi A; Roshandel G; et al. Association of Mutations in the Basal Core Promoter and Pre-core Regions of the Hepatitis B Viral Genome and Longitudinal Changes in HBV Level in HBeAg Negative Individuals: Results From a Cohort Study in Northern Iran. *Hepat Mon*. 2015;15(2): e23875.gomes.
3. Ott Jj; Stevens Ga; Wiersma St. The risk of perinatal hepatitis B virus transmission: hepatitis B e antigen (HBeAg) prevalence estimates for all world regions. *BMC Infectious Diseases*. 2012;12:131.
4. WHO. World Health Organization [Internet], Hepatitis B infection. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>>. Acesso em:10/mar/2017.
5. Liang TJ. Hepatitis B: The Virus and Disease. *Hepatology*. 2009;49(5).
6. Fattovich G; Bortolotti F; Donato F. Natural history of chronic hepatitis B: special emphasis on disease progression and prognostic factors. *Journal of hepatology*. 2008;48.2: 335-352.
7. Gish E; Robert G; et al. Chronic hepatitis B: virology, natural history, current management and a glimpse at future opportunities. *Antiviral research*. 2015;121:47-58.
8. Kamijo N; Matsumoto A; Umemura T; et al. Mutations of pre-core and basal core promoter before and after hepatitis B e antigen seroconversion. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2015;21(2):541-548.doi:10.3748/wjg.v21.i2.541.
9. Trépo C; Chan HL; Lok A. Hepatitis B virus infection. *The Lancet*. 2014;384(9959). 2053-2063.
10. Iloeje UH; Yang H; Chen CJ. Natural history of chronic hepatitis B: what exactly has Reveal revealed?. *Liver International*. 2012;32(9):1333-1341.
11. Zhang ZH; Wu CC; Chen XW; Li X; Li J; Lu MJ. Genetic variation of hepatitis B virus and its significance for pathogenesis. *World Journal of Gastroenterology*. 2016;22(1):126-144. doi:10.3748/wjg.v22.i1.126.
12. Kramvis A; Kew MC. Epidemiology of hepatitis B virus in Africa, its genotypes and clinical associations of genotypes. *Hepatol Res*. 2007;37.
13. Kurbanov F; Tanaka Y; Mizokami M. Geographical and genetic diversity of the human hepatitis B virus. *Hepatol Res*. 2010;40:14-30.

14. Norder H; Courouce AM; Coursaget P; Eche VJ; Lee SD; Mushahwar IK; et al. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. *Intervirology*. 2004;47(6): 289–309.
15. Andernach IE; Nolte C; Pape JW; Muller CP. Slave trade and hepatitis B virus genotypes and subgenotypes in Haiti and Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2009;15,1222–1228.
16. Alvarado-Mora MV; Botelho L; Gomes-Gouvêa MS; de Souza VF Nascimento MC. Detection of hepatitis B virus subgenotype A1 in a Quilombo community from Maranhão, Brazil. *Virol J.* 2011;8(1):415-7.
17. Mello FCA; et al. Hepatitis B virus genotypes circulating in Brazil: molecular characterization of genotype F isolates. *BioMed Central Microbiology*. 2007;7 (103): 1-9.
18. Chu CJ; Anna SF. Clinical significance of hepatitis B virus genotypes. *Hepatology*. 2002;35(5):1274-1276.
19. Tanaka Y; Hasegawa I; Kato T; Orito E; Hirashima N; Acharya SK; et al. A case–control study for differences among hepatitis B virus infections of genotypes A (subtypes Aa and Ae) and D. *Hepatology*. 2004;40:747–755. doi: 10.1002/hep.20365.
20. Schaefer BE; Collazzi AC. Generalized tests for eight GRB luminosity relations. *The Astrophysical Journal Letters*. 2007;656 (2).
21. Ding X; Mizokami M; Yao G; Xu B; Orito E; Ueda R; Nakanishi M. Hepatitis B virus genotype distribution among chronic hepatitis B virus carriers in Shanghai, China. *Intervirology*. 2001;44:43-47.
22. Kao JH; Chen PJ; Lai MY; Chen DS. Hepatitis B virus genotypes and spontaneous hepatitis B e antigen seroconversion in Taiwanese hepatitis B carriers. *J Med Virol*. 2004;72:363-369.
23. Ni YH; Chang MH; Wang KJ; Hsu HY; Chen HL; Kao JH; Yeh SH; Jeng YM; Tsai KS; Chen DS. Clinical relevance of hepatitis B virus genotype in children with chronic infection and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2004;127:1733-1738.
24. Ming-Whei YU; et al. Hepatitis B virus genotype and DNA level and hepatocellular carcinoma: a prospective study in men. *Journal of the National Cancer Institute*. 2005;97(4):265-272.
25. Sánchez-Tapias; José M. et al. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology*. 2002;123(6): 1848-1856.
26. Chu, Chi—Jen et al. Hepatitis B virus genotypes in the United States: results of a nationwide study. *Gastroenterology*. 2003;125(2): 444-451.

27. Oommen PT; Wirth S; Wintermeyer P; Gerner P. Relationship between viral load and genotypes of hepatitis B virus in children with chronic hepatitis B. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2006;43: 342-347.
28. Alcaide R; et al. Distribution of Hepatitis B virus genotypes and viral load levels in Brazilian chronically infected patients in São Paulo city. *Revista do Instituto de Medicina Tropical.* 2009;51(5):269-3.
29. Becker CE; Mattos AA; Bogo MR; Branco F; Sitnik R; Kretzmann NA: Genotyping of hepatitis B virus in a cohort of patients evaluated in a hospital of Porto Alegre, south of Brazil. *Arq Gastroenterol.* 2010;47:13-17.
30. Barros LMF; Gouvêa MSG; Kramvis A; Coorêa MCJM; Santos A; Souza LAB. High prevalence of hepatitis B virus subgenotypes A1 and D4 in Maranhão state, Northeast Brazil. *Infection, Genetics and Evolution.* 2014;24(1): 68–7.
31. Gomes-Gouvea MS; Soares MC; Bensabath G; de Carvalho-Mello IM; Brito EM; Souza OS; et al. Hepatitis B virus and hepatitis delta virus genotypes in outbreaks of fulminant hepatitis (Labrea black fever) in the western Brazilian Amazon region. *The Journal of general virology.* 2009;90, 2638-2643.
32. Santos AO; et al. Characterization of Hepatitis B virus (HBV) genotypes in patients from Rondônia, Brazil. *Virology Journal.* 2010;7:315: p. 2-7.
33. Valente CM; Ferreira ASP; Costa LMC; et al. Prevalência de marcadores sorológicos do vírus da hepatite B (HBV) nos municípios de urbano Santos, Axixá, Humberto de Campos, Morros e Icatu: resultados parciais de um estudo de base populacional. *Cad. Pes.* 2014;21(Esp.).
34. Sitnik R; Paes A; Manguiera CP; Pinho JR. A real-time quantitative assay for hepatitis B DNA virus (HBV) developed to detect all HBV genotypes. *Rev Inst Med Trop.* 2010; 52:119-124.
35. Gomes-Gouvea MS; Ferreira AC; Teixeira R; Andrade JR; Ferreira AS; Barros LM; et al. HBV carrying drugresistance mutations in chronically infected treatment-naive patients. *Antiviral therapy.* 2015; 20: 387-395.
36. Carrilho FJ; Moraes CR; Pinho JR; Mello IM; et al. Hepatitis B virus infection in haemodialysis centres from Santa Catarina state, southern Brazil. Predictive risk factors for infection and molecular epidemiology. *BMC Public Health.* 2004; 4:13.
37. Ozaras R; Inanc Balkan I; Yemisen M; Tabak F: Epidemiology of HBV subgenotypes D. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2015; 39:28-37.
38. Hubschen JM; Mugabo J; Peltier CA; Karasi JC; Sausy A; Kirpach P; et al. Exceptional genetic variability of hepatitis B virus indicates that Rwanda is east of an emerging African genotype E/A1 divide. *J. Med. Virol.* 2009; 81, 435–440.

39. Silva DBDD. The Atlantic Slave Trade to Maranhão, 1680–1846: Volume, Routes and Organisation. *Slavery Abolit.* 2008; 29, 477–501.
40. Yang HI; Lu SN; Liaw YF; You SL; Sun CA; Wang LY; et al. Taiwan Community-Based Cancer Screening Project Group. Hepatitis B e antigen and the risk of hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med.* 2002; 347:168–174.
41. Chu CM; Hung SJ; Lin J; Tai DI; Liaw YF. Natural history of hepatitis B e antigen to antibody seroconversion in patients with normal serum aminotransferase levels. *Am J Med.* 2004; 116:829–834.
42. Chen CJ; et al. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *Jama.* 2006; 295(1): 65-73.
43. Seto WK; Wong DK; Fung J; et al. High hepatitis B surface antigen levels predict insignificant fibrosis in hepatitis B e antigen positive chronic hepatitis B. *PLoS One.* 2012; 7:e43087.
44. Viana R; Wang R; Yu MC; Welschinger R; Chen C-Y; Kew MC. Hepatitis B viral loads in southern African blacks with hepatocellular carcinoma. *Journal of Medical Virology.* 2009;81(9):1525–1530.
45. Yin J; Xie J; Liu S; Zhang H; Han L; Lu W; et al. Association between the various mutations in viral core promoter region to different stages of hepatitis B, ranging of asymptomatic carrier state to hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol.* 2011;106:81–92.
46. Shepard, C W. et al. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. *Epidemiologic reviews.* 2006; 28(1):112-125.
47. Kumar A; Kumar SI; Pandey R; Naik S; Aggarwal R. Hepatitis B virus genotype A is more often associated with severe liver disease in northern India than is genotype D. *Indian J Gastroenterol.* 2005;24:19–22.
48. Tonetto PA; Gonçalves NS; Fais VC; Vigani AG et al.: Hepatitis B virus: Molecular genotypes and HBeAg serological status among HBV-infected patients in the southeast of Brazil. *BMC Infect Dis* 2009;9:149.
49. Zalewska M; Domagała M; Simon K; Gładysz A. Hepatitis B virus genotypes and the response to lamivudine therapy. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej.* 2005;114(6): 1190-1199.

APÊNDICES

APÊNDICE A. INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS.

ESTUDO DAS HEPATITES B, C E D NOS MUNICÍPIOS DE URBANO SANTOS, HUMBERTO DE CAMPOS E DA REGIÃO DO BAIXO MUNIM, MARANHÃO, BRASIL.

Ficha n.º _____ Data do preenchimento ___/___/___

Município _____ Zona _____ N.º setor censitário _____

I. IDENTIFICAÇÃO		
Nome:		
Apelido:		
2. Data de nascimento ___/___/___ Idade:		Idade:
3. Sexo: (1) Masculino (2) Feminino		Sexo:
4. Grau de instrução (0) Analfabeto (1) Ensino Fundamental Incompleto (2) Ensino Fundamental Completo (3) Ensino Médio Incompleto (4) Ensino Médio Completo	(6) Ensino Superior Incompleto (7) Ensino Superior Completo (8) Não se aplica (9) Não quer responder	Grau de instrução:
5. Local de nascimento:		Lnascimento:
6. Residência atual:		Resdatual:
Mora há quanto tempo:		Moratempos;
Ponto de referência:		
7. Última procedência:		Utimaproa;
8. Outros locais onde morou/trabalhou:		Loctrabalhou:
9. Há quanto tempo morou/trabalhou		Tempotrabalhou:
10. Cor (impressão do entrevistador (1) Preta (2) Branca (3) Marrom 4) Vermelha (5) Amarela (6) Outra:		Cor:
11. Religião (0) Nenhuma (1) Católico (2) Evangélica (3) Outra:		Religião:
12. Estado civil (1) Solteiro (2) Casado (4) Divorciado (5) Viúvo (3) Separado judicialmente (6) União estável/mora junto		Estado civil:
II – OCUPAÇÃO		
13. Atual:		Atualocupação:
14. Pgressa:		Pgressocupação:
III - RENDA FAMILIAR		
15. Renda familiar em salários mínimos: menos de 1 salário mínimo; 1 a 3 salários mínimos; 4 a 6 salários mínimos; (0) 7 a 11 salários mínimos; mais de 11 salários mínimos		Rendafam:
IV - IMUNIZAÇÃO		
16. Cartão de vacina: (1) Sim (2) Não (3) Não sabe		Cartvacina:
17. Vacinação para hepatite B (1) Sim (2) Não (3) Não sabe Quantas doses? 1 dose 2 doses 3 doses		VacinaHB: VacHBdose:
18. Fez anti-Hbs (Teste para Hepatite pós-vacina)? (1) Sim. Se sim, há quanto tempo? (). (2) Não		AntiHbs: tempAntiHBS:
19. Doador* (1) Sim. Se sim, nº doações por ano: (). (2) Não (3) Não se aplica		Doador: Anodoador:
20. Última aceita: ___/___/___		Ultimaaceita:
21. Transfusão sanguínea (1) Sim (2) Não		Transfussangue:
22. Se sim, data da última transfusão:		Datatransfussangue:
23. Local da última transfusão:		Localultimasangue:
VI – DROGAS		
24. Álcool: (1) Sim (2) Não (3) Não se aplica		Alcool:
Tempo de Consumo (anos): _____ Frequência: diariamente (2) semanalmente (3) esporadicamente		Alcooltemp: Alcoolfreq:

Quantidade (fechar em número exato/copos): _____ Tipo de bebida: _____ Abstinência há meses): _____	Alcoolquant: Alcooltipo: Alcoolabst:
25. Drogas Ilícitas (1) Usa (2) Já usou (3) Nunca usou (4) Não respondeu (8) não se aplica	Drogailic:
26. Via: (1) Inalatória (2) Endovenosa	Dorgavia:
27. Seringa própria: (1) Sim (2) Não	Drogaseringaprop:
28. Tipo de droga:	Drogatipo:
VII – ATIVIDADE SEXUAL	
29. Vida sexual:(0) Nunca teve (1) Ativa (2) Inativa (9) Não quer responder (3) Não se aplica	Vidasex:
30. Prática sexual (pregressa e atual) (1) Homem/Mulher (2) Homem/Homem (3) Mulher/Mulher (4) Mulher e Homem (bissexual)	Pratsex:
31. Relação sexual estável: 1) 1 parceiro (2) Mais de 01 parceiro (9) Não quer responder	Sexestavel:
32. Numero de parceiros (+ 3 parceiros em 6 meses): (1) Sim (2) Não (9) Não quis responder	Sexparceirnumero:
33. Preservativo: (1) Sempre (2) Às vezes (3) Nunca (9) Não quer responder	Sexpreserv:
Em caso positivo, usa preservativo para : (1) Proteção contra DST (2) Contraceptivo (3) Não sabe	Sexpreservpara:
VIII-PACIENTE SUBMETIDO A:	
Endoscopia: (1) Sim (2) Não Qts vezes: Local:	Endoscopia: Endoscopiavezes: Endoscopiaocal:
Cirurgia: (1) Sim (2) Não Qual _____ Há quanto tempo (anos): _____	Cirurgia: Cirurgiaqual: Cirurgiatemp:
Tratamento Odontológico: (1) extração (2) extração + canal (3) Canal 4) Nunca fez (5) Outro: _____ Há quanto tempo fez o tratamento (anos): _____ Foi com odontólogo (1) Sim Qnd?: _____ Local _____ Foi com protético (1) Sim Qnd?: _____ Local _____	Tratodonto: Tratodontotemp: Odontologo: Odontologoqnd: Odontologoloc: Protetico: Proteticoqnd: Proteticoloc:
Tatuagem (1) Sim. Qnd?: _____ Local _____ (2) Não	Tatuagem: Tatuagemqnd: Tatuagemloc:
Piercing (1) Sim. Qnd?: _____ Local _____ (2) Não	Piercing Piercingqnd: Piercingloc:
Acupuntura (1) Sim. Qnd?: _____ Local _____ (2) Não	Acump: Acumpqnd: Acumploc:
Injeções com seringa de vidro e agulha de metal no passado antes 1993? (1) Sim (2) Não (3) não lembra	Seringvidro:
IX-PERFURO-CORTANTES (Materiais usados)	
Alicate: (1) No salão (4) Salão-individual (2) Salão-compartilhada (5) Casa-individual (3) Casa-compartilhada. (6) Outros materiais: Barbeadores (1)No salão (3) Casa-individual (2) Casa-compartilhada Navalha (1) No salão (3) Casa-individual (2) Casa-compartilhada Pinça depilatória (1)No salão (2) Casa-individual (3) Casa-compartilhada	Alicate: Barb: Navalha: Pinça:

X- EXPOSIÇÃO A MATERIAL BIOLÓGICO		
Lesão de pele (ferimento, perfuração) em acidente, no trabalho, etc. (1)Sim (2)Não (3) Não lembra Qdo Qts vezes?		Lesão: Lesãoqnd: Lesãovezes:
XI-ANTECEDENTES PESSOAIS		
HIV (1)Sim (2)Não (3) Não sabe DST'S (1)Sim (2)Não (3) Não sabe Icterícia (1)Sim (2)Não (3) Não sabe	IRC (1)Sim (2)Não (3) Não sabe Hepatite B (1)Sim (2)Não (3) Não sabe Hepatite C (1)Sim (2)Não (3) Não sabe Outros:	Hiv: Dst: Icter: Irc: HpB: HpC: Outroantecp:
XII – ANTECEDENTES FAMILIARES		
Contato com portadores de Hepatite B-C (1)Sim (2)Não Quem era o portador (1) pai (4) mãe (2) Filhos (5) irmãos (3) esposo(a)/companheiro(a). (6) não domiciliar O portador apresentou (1) Icterícia (2) IRC-Diálise (3) Outros_____		ContatoHpBC: PortHpBC: Portapresent: Outroantfam:
XIII – ADULTO/ADOLESCENTE (SE SEXO FEMININO)		
Gestante: (1)Sim (2)NãoSe sim, mês de gestação: Realiza pré-natal? (1)Sim (2)Não Nutriz: (1)Sim (2)Não GESTA: _____ PARA: _____ ABORTO: _____ Quando ocorreu o último parto? _____ Onde?Tipo de parto? (1) Vaginal (2) cesárea		Gest: Gestmes Prenatal Nutriz: Gesta: Para: Aborto: Ultimopart: Ondeparto: Tipoparto:
XIV – DE QUAL RAÇA VOCÊ SE CONSIDERA?		
(1) Negra (2) Branca (3) Indígena (4) Mestiça (5) Outra. Qual? _____ Possui parentesco estrangeira conhecida? 1)Sim (2)Não De que origem você se considera? (1) Européia (2) Africana (3) Ameríndia (4) outra		Raça: Outraraça: Origem:

APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

As hepatites virais são doenças que afetam o fígado e que possuem grande importância na saúde pública. Estas doenças na maioria das vezes não têm sintomas e quando apresentam podem ser fatais. Por esta razão convidamos o Senhor (a), a participar da pesquisa **"Estudo das Hepatites B, C e D nos municípios de Urbano Santos, Humberto de Campos e da Região do Baixo Munim, Maranhão, Brasil,"** a ser realizada, nos municípios de Urbano Santos, Arixá, Morros, Icatu e Humberto de Campos, coordenada pela Professora Doutora Adalgisa de Sousa Paiva Ferreira, residente à rua, Mitra, Ed. Maison Lafite Ap 1101, Renascença II, São Luis – MA. Telefone: (98) 3227-39.08; Fax -(98)3227 0131; e-mail adalgisa@terra.com.br. Este projeto tem como objetivo verificar o número de pessoas contaminadas com os vírus das Hepatites B (HBV), C (HCV) e D (HDV) na população dos municípios já citados. Também serão feitos exames de sangue para mostrar se há uma maior facilidade ou dificuldade para o aparecimento e desenvolvimentos dessas hepatites, de onde ela vem, (da África, Europa ou América) e se algum desses vírus tem alguma relação com as raças (branca, negra, indígena). Serão coletadas amostras de 15 mL de sangue. A coleta de sangue poderá causar um leve desconforto local, ou mesmo sensibilização e escurecimento do local de coleta, porém se o senhor (a) pressionar com algodão à parte puncionada, mantendo o braço estendido, sem dobrá-lo, a possibilidade de ficar roxo ou dolorido é muito pequena.

O material utilizado para coleta de sangue será descartado em recipientes apropriados para materiais perfuro-cortante e todos os tubos de sangue serão mantidos em caixas térmicas com gelo. Todas as amostras de sangue serão utilizadas exclusivamente para este projeto. Ao término desta pesquisa o restante do material será descartado.

Em caso de dúvidas e/ou questionamentos relacionados com a ética da pesquisa, entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital da Universidade Federal do Maranhão-HUUFMA, situado na Rua Barão de Itapary, 227, Centro, CEP 65020-070, São Luis-MA, telefone: (98) 2109 1250, email:

cep@huufma.br. Quaisquer outras dúvidas a respeito da pesquisa, entrar em contato com a Prof. Dra. Adalgisa de Sousa Paiva Ferreira pelo telefone (98) 2109 1294.

Para realizar esta pesquisa, contamos com sua colaboração no sentido de responder as perguntas do formulário. Informamos que a pesquisa não lhe trará nenhum prejuízo, não afetará em nada se você tiver fazendo algum tratamento. Não haverá nenhum gasto com sua participação como também não receberá nenhum pagamento. Os exames serão totalmente gratuitos. Será garantido sigilo sobre as informações pessoais, tais como nome e RG. Sua participação não é obrigatória, mas é importante e, a qualquer momento poderá desistir de participar e retirar seu consentimento, como também poderá se recusar a responder quaisquer das questões que lhes causar constrangimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com os pesquisadores ou com a instituição.

Caso o exame seja positivo para algum dos vírus das hepatites, entraremos em contato para devida orientação. O resultado será de fundamental importância para melhorar o atendimento à população acometida da Hepatite B, C e D como também será usado para fins científicos e será publicado para uso da comunidade acadêmico-científica. Se concordar em participar, favor assinar as duas vias desse documento no final página sendo uma sua e outra do pesquisador. Agradecemos pela sua participação e nos colocamos à sua disposição para quaisquer esclarecimentos.

NOME E ASSINATURA DO SUJEITO OU RESPONSÁVEL (menor de 18 anos):

São Luís (MA) ____/____/____

(Assinatura)

(Nome por extenso)

ANEXOS

ANEXO A. PARECER CONSUBSTANCIADO CEP.

	Universidade Federal do Maranhão Hospital Universitário Diretoria Adjunta de Ensino, Pesquisa e Extensão Comitê de Ética em Pesquisa
PARECER CONSUBSTANCIADO Tese de Doutorado em Biotecnologia	Nº. do Parecer: 487/2007 Nº do Protocolo: 33104-1065/2007 Data de Entrada no CEP: 18/07/2007 Data da Assembléia: 17/08/2007

I - Identificação:

Título do projeto: Genotipagem do vírus da hepatite B em São Luís-Ma.		
Identificação do Pesquisador Responsável: Adalgisa de Souza Paiva Ferreira		
Identificação da Equipe executora: Lena Maria Barros Fonseca e Adalgisa de Souza Paiva Ferreira		
Instituição onde será realizado: Núcleo de Fígado do Hospital Universitário-UFMA		
Area temática: III	Multicêntrico: NÃO	Cooperação estrangeira: NÃO

II – Objetivos:

O presente projeto tem como objetivo principal caracterizar os genótipos do vírus da Hepatite B de portadores crônicos atendidos no núcleo de Fígado do Hospital Universitário-UFMA.

III- Sumário do projeto:

O protocolo de pesquisa é um projeto de tese de doutorado, estando estruturado da seguinte forma: resumo do projeto, justificativa do projeto, objetivos, metodologia e estratégias de ação, considerações éticas, agência financiadora, resultados esperados, avaliação crítica e risco em relação ao objetivo final.

No projeto, é apresentada uma exposição conceitual de Hepatite B, como também uma justificativa para o estudo do tema.

Conforme descrito na metodologia, a população em estudo será constituída por todos os indivíduos atendidos no núcleo de Fígado do Hospital Universitário-UFMA, no período da pesquisa. Posteriormente, será calculado o tamanho da amostra, assumindo um erro amostral de 5% e prevalência de infecção crônica de 1%. Não é apresentada a análise estatística dos dados.

No item FINANCIAMENTO E EXECUÇÃO consta que todas as despesas serão subsidiadas pela UFMA, por meio do Laboratório de Estudo Genômico e de histocompatibilidade Hospital Universitário-UFMA.

IV- Comentários frente à resolução 196/96 CNS e complementares:

Levando-se em consideração o que preconiza a resolução 196/96 do CNS, pode-se dizer que o projeto possui relevância científica, que visa assegurar benefícios para a melhoria das condições de saúde da população alvo (III.3, n.o, Lei 8080/90); conta com os recursos humanos necessários, bem como há competência do pesquisador com o projeto proposto (III.3, h).

No cronograma, não é especificado o mês que a coleta de dados será iniciada. Também não foi especificada a equipe executora do projeto. Falta o currículo Lattes da co-orientadora.

No termo de consentimento Livre e Esclarecido, observa-se alguns termos técnicos, não foram especificados os benefícios diretos da participação da pesquisa e a forma de seguro que cobrirá os danos previstos, o endereço do CEP-HUUFMA. É necessário assegurar explicitamente o retorno dos benefícios para os sujeitos envolvidos, conforme preconiza a resolução 196/96-III.3.m.n, seja na forma de assistência, seja na posse dos resultados dos exames, etc, bem como, que os resultados da pesquisa serão usados unicamente para fins científicos (Res 196/96-IV.3.f).



V - Pendências:

As pendências foram supridas, tendo importância social e atendendo aos princípios da ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos.

VI - Recomendações:

Não há recomendações a serem feitas para esse protocolo.

VII - Parecer Consubstanciado do CEP:

Diante do exposto, o protocolo 33104-1065/07, referente a tese de doutorado sob o título influência da Genotipagem do vírus da hepatite B em São Luis-Ma. é considerado: **APROVADO**

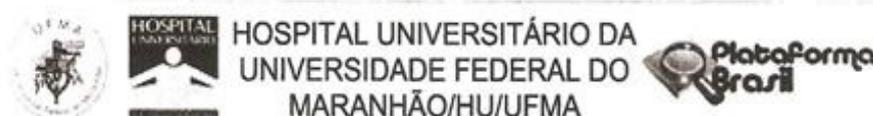
Relatórios parciais (um por ano) devem ser apresentados ao CEP-HUUFMA, sendo o primeiro para 09/10/2008, ou se houver algum evento adverso, emenda ou alteração no protocolo. O relatório final deve ser entregue, acompanhado de cópia do trabalho final gravado em CD RO

São Luís, MA, 09 de outubro de 2007.


Wildoberto Batista Gurgel
Filósofo

Coordenador do CEP-HUUFMA
Ethica homini habitat est

ANEXO B. PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo das Hepatites B, C e D nos Municípios de Urbanos Santos, Humberto de Campos, e da Região do Baixo Munim, Maranhão, Brasil.

Pesquisador: Adalgisa de Souza Paiva Ferreira

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

Versão: 1

CAAE: 20935413.5.0000.5086

Instituição Proponente: Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão/HU/UFMA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 448.731

Data da Relatoria: 01/11/2013

Apresentação do Projeto:

A hepatite viral é uma doença provocada por diferentes agentes etiológicos que apresentam particularidades importantes em suas características epidemiológicas, clínicas e laboratoriais. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 350 milhões e 170 milhões de pessoas estejam infectadas com os vírus das hepatites B (HBV) e C (HCV), respectivamente. A infecção pelo vírus da hepatite D (HDV) tem distribuição geográfica heterogênea, estimando-se cerca de 18 milhões de infectados pelo HDV entre os 350 milhões de portadores crônicos do HBV. Estudo transversal com 4000 participantes para conhecer a prevalência de hepatites virais e caracterizar os genótipos e subgenótipos desses vírus nos municípios de Urbano Santos, Humberto de Campos e de municípios da região do Baixo Munim (Axixá, Morros e Icatú)-MA. Serão submetidos à coleta de 15 ml de sangue periférico para realização dos seguintes marcadores sorológicos: HBsAg, anti-HBc e anti-HBs, anti-HDV e anti-HCV que serão realizados no Laboratório Central do Estado do Maranhão (LACEN), através da técnica do ensaio imunoenzimático (ELISA) sendo os testes de biologia molecular no CEPEC (Com a orientação do Laboratório de Gastroenterologia e Hepatologia Tropical da Faculdade de Medicina da USP LGHT-FM/USP). O DNA e RNA viral serão extraídos de soro ou plasma. Os dados serão analisados utilizando o programa EPI-INFO (2000) do CDC de

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

Fax: (98)2109-1223

E-mail: cep@huufma.br



HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO/HU/UFMA



Continuação do Parecer: 448.731

Protocolo com temática relevante com proposta de diagnóstico precoce e conhecimento da prevalência das hepatites na região estudada trazendo impacto social de grande relevância. Estudo aprovado anterior à plataforma Brasil e inserido com emenda solicitando inclusão de novos participantes, prorrogação de execução e substituição da palavra "prevalência para Estudo" do título do estudo, sendo justificado que a alteração não reflete na metodologia. A inclusão de novos pesquisadores e prorrogação do tempo esta associada ao número da amostra (4.000 participantes.)

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo cumpre com as exigências em relação aos "Termos de Apresentação Obrigatória": Folha de rosto, Projeto de pesquisa, Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) orçamento e currículo do(s) pesquisador(es). Apresenta justificativa para solicitação de emenda. Atende, portanto às exigências da Resolução CNS/MS nº 466/12.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Protocolo aprovado antes da plataforma Brasil com inserção de emenda com solicitações referente à prorrogação do tempo de coleta, inclusão de novos pesquisadores e modificações no título original. Documentos apresentados para justificativa da solicitação foram analisados sendo a emenda considerada aprovada.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

PROTOCOLO APROVADO por atender aos requisitos fundamentais da Resolução CNS/MS nº 466/12). Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser inseridas à plataforma encaminhada ao CEP-HUUFMA de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Relatórios parcial e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente após a coleta de dados e ao término do estudo.

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227
Bairro: CENTRO CEP: 65.020-070
UF: MA Município: SAO LUIS
Telefone: (98)2109-1250 Fax: (98)2109-1223 E-mail: cep@huufma.br

ANEXO C: NORMAS DE SUBMISSÃO



ISSN 0037-8682 *versão impressa*
ISSN 1678-9849 *versão on-line*

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- Escopo e política
- Política de avaliação
- Tipos de manuscrito
- Preparação do manuscrito
- Formatação do manuscrito
- Workflow

Escopo

A Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical é um periódico multidisciplinar, com acesso aberto, que publica pesquisas originais e estudos clínicos sobre Medicina Tropical (incluindo Epidemiologia, Patologia, Imunologia, etc.) e doenças infecciosas. É um periódico oficial da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Os artigos de revisão são a convite do Editor, mas também publica artigos originais, comunicações breves, relatos de caso, editoriais, cartas ao editor, imagens em doenças infecciosas e parasitárias, relatórios técnicos e números especiais (suplementos). A Revista possui um sistema de revisão por pares, é publicada em inglês e sua periodicidade é bimestral e o conteúdo é de acesso livre para os leitores e nenhuma taxa é cobrada dos autores.

Considerando que a partir de 2016, a Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical apenas recebeu suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), não tendo recebido fomento de nenhum outro órgão. O suporte financeiro foi essencial para garantir a qualidade, a melhoria do fator de impacto, número de citações, a geração do XML e revisão/edição do inglês em todos os artigos aceitos, que foram pagos pela própria revista.

A partir de 2017, a Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical estabeleceu que, quando necessário, solicitará gentilmente aos autores que paguem pelo serviço profissional de revisão e edição do inglês realizado por uma empresa especializada, na versão final de seus manuscritos aceitos para publicação.

Política de avaliação

Submissões à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical indicam que não foram publicadas anteriormente (exceto resumo) e que não estão sendo consideradas para publicação em outro periódico.

Os manuscritos submetidos com vistas à publicação em nosso periódico, são avaliados inicialmente pelos profissionais da secretaria, quanto à adequação às normas. Em seguida, se estiverem dentro das Normas para Publicação, serão encaminhados, no mínimo, para dois revisores para avaliação e emissão de parecer fundamentado através do sistema de revisão por pares. Os editores, com base no parecer dos revisores, irão decidir quanto à aceitação ou não do manuscrito. Se houver divergência de opinião entre os revisores, o manuscrito será enviado a um terceiro revisor para validar a decisão editorial final de acordo com o fluxograma da

Revista, disponível no seguinte endereço eletrônico: <http://www.scielo.br/revistas/rsbmt/iinstruc.htm#005>

Os manuscritos devem ser escritos em Inglês e submetidos apenas eletronicamente através do endereço: <http://mc04.manuscriptcentral.com/rsbmt-scielo>

A baixa qualidade do inglês é a maior causa de atraso na publicação. Recomendamos fortemente aos autores, com inglês como língua estrangeira, que seus manuscritos sejam preferencialmente traduzidos e editados por um serviço profissional de inglês ou verificados por um cientista com inglês como primeira língua, e uma cópia do certificado deve ser enviada para a Revista.

O contato com a Secretaria da Revista pode ser estabelecido no endereço abaixo:

Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical

Av. Getúlio Gurarritá s/n, Caixa Postal: 118, CEP: 38001-970 Uberaba, Minas Gerais, Brasil.
Tel: 55 34 3318-5287; Fax: 55 34 3318-5279. e-mail: rsbmt@rsbmt.ufm.edu.br; <http://www.scielo.br/rsbmt>

Tipos de manuscrito

A Revista convida à publicação Artigos Originais, Artigos de Revisão e Minirrevisões, Editoriais, Comunicações Breves, Relatos de Casos, Relatórios Técnicos, Imagens em Doenças Infecciosas, Cartas e Números Especiais.

Artigos Originais: devem relatar pesquisas originais que não tenham sido publicadas ou consideradas para publicação em outros periódicos. O limite de palavras é de 3.500 (excluindo resumo, título e referências). O manuscrito deve conter resumo estruturado com até 250 palavras, com os tópicos Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões. O Manuscrito deve ser organizado incluindo os seguintes tópicos: Título, Título Corrente, Resumo Estruturado, Palavras-Chaves (máximo de cinco), Texto do Manuscrito (Introdução, Métodos, Resultados, Discussão), Agradecimentos, Conflito de Interesses, Suporte Financeiro, Lista de Referências e Título das Figuras/Legendas. Um total de cinco ilustrações (tabelas e figuras) é permitido.

Artigos de Revisão: devem ser uma análise crítica de avanços recentes e não apenas revisão da literatura, geralmente a convite do editor. Artigos de Revisão têm o limite de 3.500 palavras (excluindo resumo, título e referências). Devem ter resumo com até 250 palavras (não estruturado). Cinco ilustrações são permitidas (tabelas e figuras). São publicadas também minirrevisões. Minirrevisões têm no máximo 3.000 palavras (excluindo resumo, título e referências). Devem ter resumo (não estruturado) com até 200 palavras, três ilustrações (tabelas e figuras) e máximo de 3.000 palavras. O Manuscrito deve ser organizado incluindo os seguintes tópicos: Título, Título Corrente, Resumo não estruturado, Palavras-Chaves (máximo de cinco), Texto do Manuscrito, Agradecimentos, Conflito de Interesses, Suporte Financeiro, Lista de Referências e Título das Figuras/Legendas

Editoriais: usualmente, escritos a convite, considerando os tópicos da área de enfoque da revista, não excedendo a 1.500 palavras, sem resumo e palavras-chaves e no máximo uma figura ou tabela e dez referências.

Comunicações Breves: devem ser relatos sobre novos resultados interessantes dentro da área de abrangência da revista. As comunicações breves devem ter no máximo 2.000 palavras (excluindo resumo, título e referências); Devem conter resumo estruturado com no máximo 100 palavras (com os tópicos Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões) e com até 15 referências. Um máximo de três ilustrações (tabelas e figuras) é permitido. Até três palavras-chaves devem ser fornecidos. O corpo do manuscrito não devem conter subdivisões ou subtópicos. Agradecimentos, Conflito de Interesses, Suporte Financeiro devem ser incluídos.

Relatos de Casos: devem ser relatos breves com extensão máxima de 1.500 palavras (excluindo título, resumo e referências), com máximo de três ilustrações (tabelas e figuras), até 12 referências, resumo não estruturado com no máximo 100 palavras e três palavras-chaves. O Manuscrito deve ser organizado incluindo os seguintes tópicos: Título, Título Corrente, Resumo, Palavras-Chaves, Texto do Manuscrito (Introdução, Relato de Caso, Discussão), Lista de Referências e Título das Figuras/Legendas. Agradecimentos, Conflito de Interesses, Suporte Financeiro devem ser incluídos.

Relatórios Técnicos: devem ser precisos e relatar os resultados e recomendações de uma reunião de *experts*. Será considerado, se formatado como um editorial.

Imagens em Doenças Infecciosas: até três figuras com a melhor qualidade possível. Até três autores e até três referências são permitidos. O tamanho máximo é de 250 palavras (excluindo título e referências) com ênfase na descrição da figura. Os temas devem envolver alguma lição clínica, contendo título e a descrição das figuras.

Cartas: leitores são encorajados a escrever sobre qualquer tópico relacionado a doenças infecciosas e medicina tropical de acordo com o escopo da Revista. Não devem exceder 1.200 palavras, sem resumo e palavras-chaves, com apenas uma inserção (figura ou tabela) e pode tratar de material anteriormente publicado na revista, com até 12 referências.

Números Especiais: Propostas de números especiais devem ser feitas ao o Editor e/ou Editor Convidado. A proposta será analisada levando em consideração o tema, organização do programa ou produção de acordo com escopo da revista

Preparação do manuscrito

Autores são aconselhados a ler atentamente estas instruções e segui-las para garantir que o processo de revisão e publicação de seu manuscrito seja tão eficiente e rápido quanto possível. Os editores reservam-se o direito de devolver manuscritos que não estejam em conformidade com estas instruções.

Sistema de Submissão *on-line*: Todos os manuscritos a serem considerados para publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical devem ser submetidos por via eletrônica através do sistema de submissão *on-line* no endereço: <http://mc04.manuscriptcentral.com/rsbmt-scielo>. O autor deve escolher dentro do item “Tipos de Manuscrito” uma categoria para o manuscrito: Artigos Originais, Editoriais, Artigos de Revisão, Comunicações Breves, Relatos de Casos, Relatórios Técnicos, Imagens em Doenças Infecciosas, Cartas, Réplica à Carta ou Outros (quando não se encaixar em nenhuma das categorias listadas). A responsabilidade pelo conteúdo do manuscrito é inteiramente do autor e seus co-autores.

Carta de Apresentação: a) deve conter uma declaração, assegurando de que se trata de pesquisa original e que, ainda, não foi publicada, nem está sendo considerada por outro periódico científico. Devem constar, também, que os dados/resultados do manuscrito não são plágio. b) deve ser assinada por todos os autores e, na impossibilidade restrita, o autor principal e o último autor podem assinar pelos outros co-autores, mediante procuração. c) Os autores devem incluir na *Cover Letter* uma declaração de ciência de que o manuscrito, após submetido, não poderá ter a ordem, nem o número de autores alterados, sem justificativa e/ou informação à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. d) Devem declarar que concordam, caso o manuscrito seja aceito para publicação, transferir todos os direitos autorais para a Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.

Contribuição dos autores: Os autores devem incluir, em documento separado, uma declaração de responsabilidade especificando a contribuição, de cada um, no estudo.

Edição da Pré-Submissão: todos os manuscritos submetidos à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical devem ser em inglês. É altamente recomendável que os autores utilizem os serviços de uma empresa profissional de edição e/ou tradução. A revisão/edição da língua inglesa não garante que o manuscrito será aceito para publicação.

Formatação do manuscrito: O manuscrito deve ser preparado usando *software* padrão de processamento de textos e deve ser impresso (fonte *Times New Roman* tamanho 12) com espaço duplo em todo o texto, título/legendas para as figuras, e referências, margens com pelos menos 3cm. O manuscrito deve ser dividido nas seguintes seções: Cartão de Apresentação (endereçada ao Editor-Chefe), Página de Título, Título, Resumo, palavras-chaves, Texto do Manuscrito, Agradecimentos, Declaração de Conflito de Interesses, Suporte Financeiro, Lista de Referências, Título das Figuras/Legendas. A Carta de Apresentação, Página de Título, Agradecimentos e Suporte Financeiro devem ser incluídos em documentos separados (estes dois últimos podem ser incluídos junto com a Página de Título). As outras seções devem seguir sem quebra de página. Abreviações devem ser usadas com moderação.

Página de Título: deve incluir o nome dos autores na ordem direta e sem abreviações, afiliações institucionais (Departamento, Instituição, Cidade, Estado e País de cada autor). O endereço completo do autor para correspondência deve ser especificado, incluindo telefone, fax e e-mail. Na página de título também podem ser incluídos agradecimentos e suporte financeiro. A quantidade de autores por manuscrito deve ser limitada ao número real de autores que realmente contribuíram com o manuscrito, exceto para estudos multicêntricos nacionais e internacionais, que devem limitar-se a vinte autores. Quando exceder a vinte autores, o restante será publicado em notas de rodapé.

Indicação de potenciais revisores: Os autores são convidados a fornecer os nomes e informações de contato (e-mail e telefone) por três potenciais revisores imparciais. Favor informar revisores de instituições diferentes dos autores.

Título: deve ser conciso, claro e o mais informativo possível, não deve conter abreviações e não deve exceder a 200 caracteres, incluindo espaços.

Título Corrente: com no máximo 40 caracteres.

Resumo Estruturado: deve condensar os resultados obtidos e as principais conclusões de tal forma que um leitor, não familiarizado com o assunto tratado no texto, consiga entender as

implicações do artigo. O resumo não deve exceder 250 palavras (100 palavras no caso de comunicações breves) e abreviações devem ser evitadas. Deve ser subdividido em: Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões.

Palavras-chaves: 3 a 6 palavras devem ser listados em Inglês, imediatamente abaixo do resumo estruturado.

Introdução: deve ser curta e destacar os propósitos para o qual o estudo foi realizado. Apenas quando necessário citar estudos anteriores de relevância.

Métodos: devem ser suficientemente detalhados para que os leitores e revisores possam compreender precisamente o que foi feito e permitir que seja repetido por outros. Técnicas-padrões precisam apenas ser citadas.

Ética: em caso de experimentos em seres humanos, indicar se os procedimentos realizados estão em acordo com os padrões éticos do comitê de experimentação humana responsável (institucional, regional ou nacional) e com a Declaração de Helsinki de 1964, revisada em 1975, 1983, 1989, 1996 e 2000. Quando do relato de experimentos, em animais, indicar se seguiu um guia do conselho nacional de pesquisa, ou qualquer lei sobre o cuidado e uso de animais em laboratório foram seguidas e o número de aprovação deve ser enviado à Revista. No caso de pesquisa em seres humanos, os autores devem incluir na seção métodos no subtítulo Considerações Éticas uma declaração de que o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Institucional.

Ensaio Clínico: No caso de Ensaio Clínico, o manuscrito deve ser acompanhado pelo número e órgão de registro do ensaio clínico (Plataforma REBEC). Estes requisitos estão de acordo com a BIREME/OPAS/OMS e o Comitê Internacional dos Editores de Revistas Médicas (<http://www.icmje.org>) e do Workshop ICTPR.

Resultados: devem ser um relato conciso e impessoal da nova informação. Evitar repetir no texto os dados apresentados em tabelas e ilustrações.

Discussão: deve relacionar-se diretamente com o estudo que está sendo relatado. Não incluir uma revisão geral sobre o assunto, evitando que se torne excessivamente longa.

Agradecimentos: devem ser curtos, concisos e restritos aqueles realmente necessários, e, no caso de órgãos de fomento não usar siglas.

Conflito de Interesse: todos os autores devem revelar qualquer tipo de conflito de interesse existente durante o desenvolvimento do estudo.

Suporte Financeiro: informar todos os tipos de fomento recebidos de agências de fomento ou demais órgãos ou instituições financiadoras da pesquisa.

Referências: devem ser numeradas consecutivamente, na medida em que aparecem no texto. Listar todos os autores quando houver até seis. Para sete ou mais, listar os seis primeiros, seguido por “et al”. Digitar a lista de referências com espaçamento duplo em folha separada e no final do manuscrito. Referências de comunicações pessoais, dados não publicados ou manuscritos “em preparação” ou “submetidos para publicação” não devem constar da lista de referência. Se essenciais, podem ser incorporados em local apropriado no texto, entre

parênteses da seguinte forma: (AB Figueiredo: Comunicação Pessoal, 1980); (CD Dias, EF Oliveira: dados não publicados). Citações no texto devem ser feitas pelo respectivo número das referências, acima da palavra correspondente, em ordem numérica crescente, separados por vírgula ou por hífen quando houver uma sequência sem intervalo. Ex.: Mundo^{1,2}; Vida^{30,42,44-50}. As referências no fim do manuscrito devem estar de acordo com o sistema de requisitos uniformes utilizado para manuscritos enviados para periódicos biomédicos (Consulte: <http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine>). Os títulos dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no *Index Medicus* (Consulte: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>).

A responsabilidade pelas citações bibliográficas contidas no texto e na lista de referências recai exclusivamente sobre os autores.

Alguns exemplos de referências:

1. **Citação de Artigos em Geral:** Sobrenome seguido das iniciais dos seis primeiros autores. Para sete ou mais autores, liste os seis primeiros, seguidos de "et al."), título completo do artigo (no idioma original), título abreviado do periódico (pode ser encontrado em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>), ano de publicação, volume (número), páginas inicial e final abreviada.

Exemplo 1: Petitti DB, Crooks VC, Buckwalter JG, Chiu V. Blood pressure levels before dementia. *Arch Neurol*. 2005;62(1):112-6.

Exemplo 2: Freitas EC, Oliveira MF, Vasconcelos ASOB, Filho JDS, Viana CEM, Gomes KCMS, et al. Analysis of the seroprevalence of and factors associated with Chagas disease in an endemic area in northeastern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2016;50(1):115-21.

2. **Capítulo de livro:** Sobrenome seguido das iniciais dos autores do capítulo, título completo do capítulo, editores, título do livro, Edição, local de publicação: editor, ano de publicação, páginas inicial e final do capítulo abreviada.

Exemplo: Blaxter PS, Farnsworth TP. Social health and class inequalities. In: Carter C, Peel JR, editors. *Equalities and inequalities in health*. 2nd ed. London: Academic Press; 1976. p. 165-78.

3. **Livro:** Sobrenome seguido das iniciais dos autores do livro, título do livro, edição, local de publicação: editor, ano de publicação e número de páginas do livro.

Exemplo: Carlson BM. *Human embryology and developmental biology*. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2009. 541 p.

4. **Sites:** Nome do autor/organização. Título da página [Internet]. Local de publicação: Nome do editor; Data ou ano de publicação [atualizado ano mês dia; Citado ano mês dia]. Disponível em: endereço.

Exemplo: Diabetes Australia. *Diabetes globally* [Internet]. Canberra ACT: Diabetes Australia; 2012 [updated 2012 June 15; cited 2012 Nov 5]. Available from: <http://www.diabetesaustralia.com.au/en/Understanding-Diabetes/DiabetesGlobally/>

5. **Dissertação/Tese:** A Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical não aceitará a citação de dissertação/mestrado, teses de doutorado ou similar.

Ilustrações: devem ser submetidas, em arquivos separados, nomeados apenas com o número das figuras (exemplo: Figura 1; Figura 2). Todas as figuras devem ter numeração arábica, citadas no texto, pela primeira vez, em ordem numérica crescente.

Título e Legendas: devem ser digitados com espaçamento duplo no final do manuscrito.

Dimensões: As dimensões das figuras não devem ultrapassar o limite de 18cm de largura por 23cm de altura. Veja abaixo a correta configuração para cada formato de figura:

- **Imagens/Fotografias:** devem ser obrigatoriamente submetidas em alta resolução no formato *TIFF*. Certifique-se que a mesma foi capturada na resolução mínima de 600 DPI, preferencialmente entre 900-1200dpi, preparadas utilizando programa de Editoração de Imagens (*Adobe Photoshop, Corel Photo Paint, etc*).
- **Gráficos:** Devem ser criados usando software estatístico e devem ser salvos/exportados com a extensão original (*.xls, .xlsx, .wmf, .eps ou .pdf*).
- **Mapas:** devem ser vetorizadas (desenhados) profissionalmente utilizando os *softwares Corel Draw ou Illustrator* em alta resolução.

Tabelas: devem ser digitadas com espaçamento simples, com título curto e descritivo (acima da tabela) e submetidas em arquivos separados. Legendas para cada tabela devem aparecer abaixo da mesma. O significado de todas as siglas e símbolos utilizados na tabela devem constar no rodapé da tabela. Todas as tabelas devem ter numeração arábica, citadas no texto, em ordem numérica crescente. Tabelas não devem ter linhas verticais, e linhas horizontais devem ser limitadas ao mínimo. Tabelas devem ter no máximo 18cm de largura por 23cm de altura, fonte *Times New Roman*, tamanho 9.

Processo de Envio: os artigos submetidos à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical deverão utilizar apenas a via eletrônica. Todos os manuscritos deverão ser enviados via internet para <http://mc04.manuscriptcentral.com/rsbmt-scielo>, seguindo as instruções no topo de cada tela. O processo de revisão pelos pares também será totalmente pela via eletrônica.

Sobre Reenvio e Revisões: a revista diferencia entre: a) manuscritos que foram rejeitados e b) manuscritos que serão re-avaliados após a realização das correções que foram solicitadas aos autores.

Reenvio: caso o autor receba uma carta informando que seu trabalho foi rejeitado e queira que os editores reconsiderem tal decisão, o autor poderá re-enviá-lo. Neste caso será gerado um novo número para o manuscrito.

Revisão: caso seja necessário refazer seu manuscrito com base nas recomendações e sugestões dos revisores, ao devolvê-lo, para uma segunda análise, por favor, encaminhe o manuscrito revisado e informe o mesmo número do manuscrito.

Após a Aceitação: Uma vez aceito para publicação, o processo de publicação inclui os passos abaixo:

1. Formulário de concessão de direitos autorais, fornecido pela secretaria da revista, deve retornar para a revista assinado pelos autores.
2. Provas: serão enviadas ao autor responsável, mencionado no endereço para correspondência, no formato PDF, para que o texto seja cuidadosamente conferido. Nesta etapa do processo de edição, não serão permitidas mudanças na estrutura do manuscrito. Após os autores receberem as provas, deverão devolvê-las assim que possível.
3. Os artigos aceitos comporão os números impressos obedecendo ao cronograma em que foram submetidos, revisados e aceitos.
4. Todos os artigos aceitos que ainda não tenham sido impressos estarão disponíveis online enquanto aguardam publicação na versão impressa (*ahead of print*).

Custos de Publicação: Não haverá custos de publicação.

A tradução de todo manuscrito deve ser realizada antes da submissão do mesmo. A contratação e o pagamento dos serviços de tradução são de responsabilidade dos autores. Custos de publicação de imagens coloridas são de responsabilidade dos autores.

Workflow

Workflow do processo de submissão da Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical

Todos os manuscritos a serem considerados para publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical devem ser submetidos por via eletrônica através do sistema de submissão *online* no endereço <http://mc04.manuscriptcentral.com/rsbmt-scielo>.

Política de Revisão do Periódico (*workflow*):

1. Todos os manuscritos submetidos para publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical são inicialmente avaliados pela Secretaria quanto à adequação do texto às normas do periódico.
2. Após esta etapa, os manuscritos adequados às Normas Para Publicação da Revista serão avaliados pelo Editor ou Editores Associados quanto ao escopo e a política editorial do periódico. A Secretaria envia o manuscrito para o Editor-Chefe.
3. O Editor-Chefe designa um Editor Associado ou designa revisores.
4. O manuscrito será enviado a pelo menos dois revisores num sistema duplo-cego para avaliação e emissão de um relatório fundamentado (*peer review*), que será usado pelos Editores para decidir se o manuscrito será aceito ou não. O manuscrito também é enviado para Revisores de Métodos Quantitativos para análise. No caso de conflito de pareceres dos revisores, o manuscrito será enviado a um terceiro parecerista para validar uma decisão final.
5. Comentários dos Revisores (*Free Form Review*) serão encaminhados ao autor correspondente (autor principal para correspondência editorial) para responder aos questionamentos feitos.
6. Os autores enviam suas respostas aos questionamentos e reenviam a versão revisada do manuscrito. A versão revisada será enviada aos revisores que emitirão um relatório final fundamentado.
7. Os apontamentos dos Revisores e as respostas dos autores serão analisados pelo Editor-Chefe, Editores Associados ou Editores de Seção.

8. O Editor-Chefe emite uma decisão final.
9. A decisão editorial final (aceitação ou rejeição) é enviada aos autores.
10. Após esta etapa, inicia-se o processo de edição. O manuscrito aceito é enviado à edição quanto à qualidade linguística do inglês.
11. A revisão de inglês é enviada aos autores para análise e declaração de aceitação da revisão.
12. Após esta etapa, inicia-se o processo de diagramação, com contato com o autor correspondente no que diz respeito às figuras, tabelas, fotografias, mapas, ilustrações e formatação em geral.
13. Após esta etapa, é requerido aos autores declarar formalmente qualquer conflito de interesse, suporte financeiro e cessão de direitos autorais.
14. Provas são enviadas ao autor correspondente para cuidadosa correção e acuidade tipográfica.
15. A versão final de cada manuscrito é selecionada para compor o próximo número e será enviada ao *Ahead of Print* na plataforma SciELO.

A versão impressa é publicada a cada dois meses e será disponibilizada em acesso aberto em <http://www.scielo.br/rsbmt>.