

# ASPECTOS MOLECULARES DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE B EM INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA EM GOIÂNIA – GOIÁS

Kamilla Nogueira Pimentel<sup>1</sup>, Marina Pedroso de Oliveira<sup>2</sup>, Pollyanne Sousa Lemes<sup>3</sup>,  
Regina Maria Bringel Martins<sup>4</sup>, Márcia Alves Dias de Matos<sup>5</sup>

Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP-UFG), CEP: 74605-050, Goiânia-  
Goiás- Brasil

Endereço Eletrônico: [nogueira.kamilla@gmail.com](mailto:nogueira.kamilla@gmail.com), [marciaalvesdias@yahoo.com.br](mailto:marciaalvesdias@yahoo.com.br)

Palavras-Chave: hepatite B, genótipos, infecção oculta

## 1. INTRODUÇÃO

A hepatite B é uma das infecções virais mais prevalentes em humanos, sendo, mundialmente, considerada um sério problema de saúde pública. Estima-se que um terço da população mundial já entrou em contato com o vírus e que aproximadamente 400 milhões destas estejam cronicamente infectadas. A forma crônica dessa doença é responsável por altos níveis de morbi-mortalidade, já que representa um risco elevado para o desenvolvimento de cirrose e carcinoma hepatocelular, além de constituir um potencial reservatório da infecção (Brasil 2008, Carey 2009, Kew 2010).

O HBV está classificado na família *Hepadnaviridae* e gênero *Orthohepadnavirus*. A partícula viral apresenta 40-42 nm de diâmetro, sendo constituída externamente pelo envelope viral e, internamente, pelo nucleocapsídeo icosaédrico. O genoma deste vírus é DNA circular de fita parcialmente dupla, com cerca de 3,2Kb (aproximadamente 3.200 pares de bases-pb), organizado em quatro unidades de leitura aberta (*Open Reading Frame* - ORF): Pré-S/S, Pré-C/C, P e X, que codificam as proteínas estruturais e não estruturais do vírus (ICTV 2009, Liang 2009, Doo & Ghany 2010).

Devido às divergências observadas no genoma do HBV, foi realizada uma classificação em genótipos, sendo atualmente denominados de A a H (Cao 2009). Além disso, nos últimos anos, outros dois têm sido propostos (I e J) (Huy et al 2008, Tatematsu et al

---

*Revisado pelo orientador.*

<sup>1</sup>Bolsista PIBIC-CNPq, IPTSP/UFG (Orientanda)

<sup>2</sup>Aluna de Pós-Graduação (IPSTP/UFG)

<sup>3</sup>Aluna de Pós-Graduação (IPSTP/UFG)

<sup>4</sup>Professora - IPTSP/UFG

<sup>5</sup>Professora - IPTSP/UFG (Orientadora)

2009). No Brasil, os genótipos A, D e F são os mais prevalentes (de Castro et al., 2001; Teles et al. 2002, Araujo et al., 2004; Sitnik et al. 2004, Oliveira et al. 2005, Motta-Castro et al 2005, Ferreira et al 2006, Mello 2007, Motta-Castro et al 2008, Matos et al 2009). A identificação de genótipos do HBV apresenta grande importância do ponto de vista epidemiológico e clínico, já que alguns autores sugerem que estes podem influenciar na progressão da doença hepática e interferir no tratamento da infecção (Mahtab et al 2008, Lin & Kao 2011).

O diagnóstico sorológico da infecção pelo HBV inclui a detecção dos marcadores específicos, com a detecção de antígenos HBs e HBe, e dos seus respectivos anticorpos (anti-HBs e anti-HBe), além do anti-HBc (IgM/Total). Resumidamente, o HBsAg indica infecção presente pelo HBV e a positividade ao seu anticorpo correspondente, o anti-HBs, sugere imunidade e recuperação. Já o anti-HBc é considerado marcador de exposição prévia a este vírus. Ainda, a detecção do HBeAg e anti-HBe, pode ser utilizada no acompanhamento da infecção, sendo sugestivos de elevada e baixa replicação viral, respectivamente (Fonseca 2007, Liang 2009).

Adicionalmente, o HBV DNA pode ser encontrado no soro de indivíduos com infecção aguda ou crônica, sendo associado à replicação viral. Assim, técnicas moleculares, como por exemplo, a reação da polimerase em cadeia (PCR), a análise quantitativa (carga viral) e seqüenciamento do genoma (parcial/completo), têm sido cada vez mais empregadas no diagnóstico da infecção pelo HBV (Fonseca 2007, Liaw & Chu 2009).

Em indivíduos cronicamente infectados pelo HBV, pode ser observada a ocorrência de perfil atípico, caracterizado pela detecção do HBV DNA no fígado e/ou soro, na ausência do marcador HBsAg. Este aspecto é conhecido como infecção oculta pelo HBV, que pode ser classificada em soropositiva (anti-HBc e/ou anti-HBs positivos) ou infecção oculta soronegativa (anti-HBc e anti-HBs negativos) (Raimondo et al 2008, Said 2011). A importância desse quadro atípico advém do significativo impacto em vários contextos clínicos: possibilidade de reativação da doença em um estado de imunossupressão, transmissão através de transfusões sanguíneas ou transplantes de órgãos, além de favorecer a progressão da fibrose hepática e carcinoma hepatocelular (Chemin et al. 2001, Conjeevaram & Lok 2001, Raimondo et al. 2003, 2007,2008, Said 2011).

O estudo da co-infecção HBV-HIV apresenta grande relevância, uma vez que há modificações no perfil clínico, com implicações na terapêutica e prognóstico da hepatite B. Alguns autores relataram que a co-infecção com o HIV diminui a persistência de anticorpos

anti-HBs (Vento et al. 1989, Horvath et al. 1994, Moss et al. 2003). Além disso, estudos sugerem que a infecção pelo HIV favorece episódios de reinfecção e reativação do HBV e ainda, o aparecimento de perfis sorológicos atípicos, sendo que muitos deles apresentam positividade somente para o marcador anti-HBc (Burnett et al. 2008, Machado et al. 2006, Mallet et al. 2011).

A prevalência da infecção oculta pelo HBV tem sido estudada em diferentes populações e os pesquisadores têm utilizado diferentes padrões laboratoriais. Por isso, os dados da prevalência desse tipo de infecção, no mundo, são bastante divergentes. Em estudos realizados em vários países, na população HIV-soropositiva, sob uso de terapia antiretroviral, a prevalência global da infecção oculta pelo HBV varia de 0 a 33% (Neau et al. 2005, Mphahlele et al. 2006, Torres-Baranda et al. 2006, Rai et al. 2007, Azadmanesh et al. 2008, Ramia et al. 2008, Ramenzani et al. 2010). Considerando ainda os estudos estrangeiros, que foram realizados nos pacientes HIV-soropositivos virgens de tratamento, a variação na prevalência dessa infecção é de 2,9 a 88,4% (Shire et al. 2004, Filippini et al. 2006, Firnhaber et al. 2009, Morsica et al. 2009, Stuart et al. 2009, Gupta & Singh 2010, N'dri-Yoman et al. 2010, Reuter et al. 2010). Em relação aos dados publicados do Brasil, os estudos já realizados, nesta população, investigaram indivíduos sob tratamento antiretroviral e verificaram índices variando de 5 a 20% nos Estados do Rio de Janeiro e São Paulo (Jardim et al. 2008, Araujo et al. 2008, Santos et al. 2003, Sucupira et al. 2006).

A co-infecção HBV-HIV ainda é pouco estudada no Brasil e, até o presente momento, informações sobre a caracterização de genótipos do HBV em indivíduos co-infectados no Brasil, permanecem escassas, sendo inexistentes os dados de infecção oculta pelo HBV em pacientes HIV soropositivos, virgens de tratamento, do nosso País. Assim, a presente pesquisa buscou investigar as características moleculares do HBV em indivíduos infectados pelo HIV, sem tratamento antiretroviral prévio, em Goiânia-Goiás.

## **2. OBJETIVOS**

- Identificar os genótipos do vírus da hepatite B em pacientes HBV-HIV co-infectados em Goiânia, Goiás;
- Determinar o índice de infecção oculta pelo HBV nos indivíduos com positividade isolada ao anti-HBc.

### 3. METODOLOGIA

**Delineamento do Estudo e população** - Estudo observacional, analítico, de corte transversal. A população da presente pesquisa foi selecionada a partir da população total do projeto que foi constituída de 505 indivíduos HIV soropositivos, virgens de tratamento antiretroviral. Estes pacientes foram encaminhados/atendidos no hospital de referência para doenças infecciosas em Goiânia-Goiás (Hospital de Doenças Tropicais Anuar - Auad), no período de um ano (abril 2009/abril 2010). Os indivíduos que concordaram em participar da investigação foram entrevistados sobre dados sócio-demográficos e fatores de risco associados à infecção pelo HBV. Em seguida, foram coletados 10 mL de sangue. As amostras foram separadas e estocadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até a realização dos ensaios.

**Testes sorológicos** – No período anterior a esta pesquisa, todas as amostras foram triadas para os marcadores sorológicos HBsAg, anti-HBc e anti-HBs pelo ensaio imunoenzimático (ELISA) utilizando-se reagentes comerciais. Após esta triagem, foram identificadas 29 amostras reagentes ao HBsAg e 26 com positividade isolada ao anti-HBc, as quais foram selecionadas para a análise molecular.

#### **Detecção do HBV-DNA**

- **Extração do HBV-DNA**- As amostras HBsAg reagentes e aquelas com positividade isolada ao anti-HBc foram submetidas à extração do DNA do HBV, realizada em duas etapas, conforme descrito por Niel et al. (1994). A primeira consistiu na adição de 250  $\mu\text{L}$  do soro em 80  $\mu\text{L}$  de solução de lise, sendo esta composta por solução A (Tris 200 mM, SDS 1% NaCl 700 mM, EDTA 20 mM e tRNA 0,1 mg/mL) e solução B (proteínase K 2 mg/mL dissolvida em solução de CaCl 0,36 mM; o pH final foi ajustado para 9,0 utilizando HCl). Os soros, juntamente com a solução de lise, foram incubados por 4 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ . O DNA viral foi extraído pelo uso de fenol/clorofórmio e após centrifugação, o sobrenadante foi coletado e transferido para tubos contendo etanol. Este produto foi mantido a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante a noite. A segunda etapa da reação consistiu na centrifugação do material e a formação de um precipitado. Em seguida, adicionou-se etanol a 70%, os tubos foram secos (aspirador à vácuo) e o material foi ressuspensão em 30  $\mu\text{L}$  de água *miliQ* autoclavada.

- **Reação em cadeia pela polimerase (PCR)** – Após a extração do DNA, o mesmo foi submetido a uma *semi-nested* PCR, para amplificação da região Pré-S/S do genoma do HBV, que foi realizada em duas etapas de acordo com Motta-Castro et al. (2005).

Para a primeira, denominada PCR-1, utilizou-se os *primers* PS1 e S2/S22 (Invitrogen) e para a segunda (PCR-2) foram empregados os *primers* PS1 e SR (Invitrogen).

- **Eletroforese em gel de agarose** – Ao gel de agarose preparado a 1% em tampão TBE (Tris-Borato EDTA), foi acrescentado brometo de etídeo em uma concentração final de 0,5 µg/mL. Os produtos obtidos durante a PCR-2 e o marcador de peso molecular (100pb – Invitrogen) foram misturados ao corante azul de bromofenol, aplicados ao gel e submetidos à eletroforese. Em seguida, as bandas foram visualizadas sob luz ultravioleta com auxílio de um transluminador.

**Genotipagem** - As amostras HBV-DNA positivas foram genotipadas por análise do polimorfismo do tamanho dos fragmentos de restrição (RFLP), conforme Araújo et al. (2004). Resumidamente, ao produto amplificado para a região Pré-S/S, foram adicionadas as enzimas (*Bam*HI, *Stu*I e *Eco*RI) o que permite a identificação dos genótipos A, D e F do HBV.

**Processamento e análise dos dados** - Os dados das entrevistas e os resultados dos testes moleculares foram digitados em microcomputador e, quando necessário, analisados no programa “Epiinfo 6”, desenvolvido pelo “Centers for Disease Control and Prevention”, Estados Unidos da América.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Detecção do HBV-DNA e genótipos em indivíduos infectados pelo HIV em Goiânia-Goiás

A Tabela 1 mostra os dados moleculares das 29 amostras HBsAg positivas. O HBV DNA foi detectado em 69% (20/29) das amostras HBsAg reagentes. Após a realização da genotipagem (RFLP), o genótipo A foi encontrado em 15 amostras (75%), sendo também encontrados os genótipos F(20%; 4/29) e D (5%; 1/29). Ainda, dentre estes indivíduos estudados, a idade variou de 26 a 67 anos e a maioria pertencia ao sexo masculino (68,9%).

**Tabela 1- Características moleculares das 29 amostras HBsAg positivas**

<b>Paciente</b>	<b>Sexo</b>	<b>Idade</b>	<b>HBV-DNA</b>	<b>Genótipo</b>
V-18	F*	34	-	-
V-19	M**	30	+	F
V-68	M	60	+	A
V-109	M	27	+	A
V-114	F	43	+	A
V-121	F	56	-	-
V-129	M	38	+	A
V-132	M	67	-	-
V-193	F	53	+	D
V-246	M	40	+	A
V-252	M	50	+	A
V-256	M	38	+	A
V-262	M	38	+	F
V-263	F	46	+	F
V-270	M	33	-	-
V-292	M	34	+	A
V-296	M	28	-	-
V-298	F	38	+	A
V-299	F	46	+	A
V-300	M	26	+	A
V-301	M	31	-	-
V-349	M	47	+	A
V-399	F	55	-	-
V-433	M	29	+	A
V-462	F	48	+	A
V-466	M	28	-	-
V-478	M	30	-	-
V-495	M	52	+	F
V-498	M	29	+	A

\*F= Feminino; \*\*M= Masculino

#### 4.2. Infecção oculta pelo HBV em indivíduos infectados pelo HIV

A figura 1 ilustra o índice de infecção oculta pelo vírus da hepatite B dentre as 26 amostras com positividade isolada ao anti-HBc. O HBV-DNA foi detectado em seis destas amostras, o que resultou numa taxa de 23,1% (IC 95%: 9,75-44,0) para infecção oculta pelo HBV na população estudada.

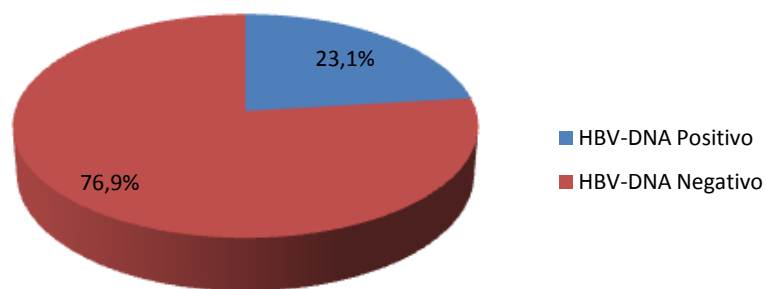


Figura 1- Índice de infecção oculta pelo HBV em 26 amostras com positividade isolada para anti-HBc

#### 5. DISCUSSÃO

O Brasil é um país constituído por uma população altamente miscigenada e apresenta variações nas prevalências para o HBV entre as diferentes regiões geográficas. Assim, a identificação dos genótipos circulantes tem grande relevância, pois contribui para o conhecimento da epidemiologia desta infecção em nosso País. Os genótipos A, D e F são os mais prevalentes no Brasil (de Castro et al., 2001; Teles et al. 2002, Araujo et al., 2004; Carrilho et al. 2004, Sitnik et al. 2004, Oliveira et al. 2005, Motta-Castro et al 2005, Ferreira et al 2006, Mello 2007, Motta-Castro et al 2008, Matos et al 2008, Matos et al 2009) e, acredita-se que a presença destes três genótipos seja um reflexo da formação da população brasileira. O genótipo A, provavelmente foi introduzido no País através do tráfico de escravos africanos (séculos XVI e XIX). A alta prevalência do genótipo D na Região Sul, pode ser relacionada ao fluxo de imigrantes europeus, provenientes da Itália e Alemanha (Início século XX). Além disso, o genótipo F, característico das populações ameríndias, seria originário da população

nativa do Brasil (Mello et al., 2007). No presente estudo, dentre as 20 amostras HBV-DNA positivas, houve predominância do genótipo A (75%), sendo também identificados os genótipos F(20%) e D (5%). Este resultado era esperado e confirma a circulação predominante destes genótipos na população brasileira, bem como em nossa Região.

O aperfeiçoamento das técnicas de biologia molecular tem contribuído para o esclarecimento de muitos aspectos das infecções virais, como por exemplo a demonstração da ocorrência de infecção oculta pelo vírus da hepatite B, situação onde o DNA deste vírus pode ser encontrado no tecido hepático e/ou no sangue de indivíduos HBsAg negativos (Raimondo et al. 2007, 2008, Said 2011). Alguns autores descrevem que a infecção oculta pelo HBV é mais freqüentemente observada em pacientes com perfil anti-HBc isolado (Chemin et al. 2001). No Brasil, em indivíduos HBV-HIV co-infectados, os índices de infecção oculta, considerando o estrato da população com reatividade isolada ao anti-HBc, descritos até o momento variam de 6,7% a 30% (Jardim et al. 2008, Araujo et al. 2008, Santos et al. 2003, Sucupira et al. 2006). Assim, a prevalência de infecção oculta pelo HBV encontrada na presente investigação (23,1%) está dentro da variação observada em pacientes brasileiros co-infectados. Ainda, este índice foi semelhante ao verificado por Gupta & Singh (2010) em pacientes HBV-HIV co-infectados e virgens de tratamento antiretroviral na Índia (24,5%).

Assim, estes achados sugerem que o monitoramento molecular pode ser utilizado para uma melhor triagem e acompanhamento clínico dos pacientes HBV-HIV co-infectados.

## 6. CONCLUSÕES

◆ Os genótipos A (75%), F (20%) e D (5%) do HBV foram detectados em indivíduos infectados pelo HIV em Goiânia-Goiás, confirmando a circulação e predominância destes em nossa Região;

◆ Observou-se um elevado índice de infecção oculta pelo HBV nos pacientes HIV soropositivos com reatividade isolada ao anti-HBc (23,1%), sendo este semelhante ao verificado em outros estudos envolvendo esta população.



## 7. REFERÊNCIAS

- Araujo NM, Mello FC, Yoshida CF, Niel C, Gomes AS 2004. High proportion of subgroup A' (genotype A) among Brazilian isolates of Hepatitis B virus. *Arch Virol* 149:1383-1395.
- Araujo NM, Branco-Vieira M, Silva AC, Pilotto JH, Grinsztejn B, de Almeida AJ, Trepo C, Gomes AS 2008. Occult hepatitis B virus infection in HIV-infected patients: Evaluation of biochemical, virological and molecular parameters. *Hepatol Res*. Dec;38(12):1194-203.
- Azadmanesh K, Mohraz M, Aghakhani A, Edalat R, Jam S, Eslamifar A, Banifazl M, Moradmand-Badie B, Ramezani A 2008. Occult hepatitis B virus infection in HIV-infected patients with isolated hepatitis B core antibody. *Intervirology* 51: 270-274.
- Brasil 2008. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Hepatites virais: O Brasil está atento. Brasília-DF 40p.
- Burnett RJ 2008. Hepatitis B virus and human immunodeficiency virus co-infection: impact on transmission and natural history of disease. *The South African J Epidemiol Infect* 23 (1): 19-23.
- Cao GW 2009. Clinical relevance and public health significance of hepatitis B virus genomic variations. *World J Gastroenterol* 15(46): 5761-5769.
- Carey WD 2009. The prevalence and natural history of hepatitis B in the 21<sup>st</sup> century. *Cleveland Clinic Journal of Medicine* 76(3): S2-S5.
- Carrilho FJ, Moraes CR, Pinho JR, Mello IM, Bertolini DA, Lemos MF, Moreira RC, Bassit LC, Cardoso A, Ribeiro-dos-Santos G, Da Silva LC 2004. Hepatitis B virus infection in Hemodialysis Centres from Santa Catarina State, Southern Brazil. Predictive risk factors for infection and molecular epidemiology. *BMC Public Health* 4:13.
- Chemin I, Jeantet D, Kay A, Trepo C 2001. Role of silent hepatitis B virus in chronic hepatitis B surface antigen (-) liver disease. *Antiviral Res* 52:117-123.
- Conjeevaram HS, Lok AS 2001. Occult hepatitis B infection: a hidden menace? *Hepatology* 34(1): 204-206.
- De Castro L, Niel C, Gomes AS 2001. Low frequency of mutations in the core promoter and precore regions of hepatitis B virus in anti-HBc positive Brazilian carriers. *BMC Microbiol* 1:1-10.
- Doo EC, Ghany MG.2010. Hepatitis B virology for clinicians. *Clin Liver Dis* 14 (3):397-408.

- Ferreira RC, Teles AS, Dias MA, Tavares VR, Silva SA, Gomes AS, Yoshida CF, Martins RM 2006. Hepatitis B virus infection profile in hemodialysis patients in Central Brazil: prevalence, risk factors, and genotypes. *Mem. Int. Oswaldo Cruz* 101 (6):689-92
- Filippini P, Coppola N, Pisapia R, Scolastico C, Marrocco C, Zaccariello A, Nacca C, Sagnelli C, De Stefano G, Ferraro T, De Stefano C, Sagnelli E 2006. Impact of occult hepatitis B virus infection in HIV patients naive for antiretroviral therapy. *AIDS* 20: 1253-1260.
- Firnhaber C, Viana R, Reyneke A, Schultze D, Malope B, Maskew M, Di Bisceglie A, MacPhail P, Sanne I, Kew M 2009. Occult hepatitis B virus infection in patients with isolated core antibody and HIV co-infection in an urban clinic in Johannesburg, South Africa. *Int J Infect Dis.* Jul;13(4):488-92.
- Fonseca JCF 2007. História Natural da hepatite B. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop* 40(6): 672-677.
- Gupta S, Singh S 2010. Occult hepatitis B virus infection in ART-naive HIV-infected patients seen at a tertiary care centre in north India. *BMC Infect Dis.* Mar 7;10:53.
- Horvath J, Raffanti SP 1994. Clinical aspects of the interactions between human immunodeficiency virus and the hepatotropic viruses. *Clin Infect Dis* 18(3):339-47.
- Huy TTT, Ngoc TT, Abe K 2008. New Complex Recombinant Genotype of Hepatitis B Virus Identified in Vietnam. *J Virol* 82(11):5657-5663.
- ICTV 2009. Hepatitis B virus. In: *ICTVdB - The Universal Virus Database*, version 4. Büchen-Osmond, C. (Ed), Columbia University, New York, USA Disponível em : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/>. Acesso em: 10 de abril de 2011.
- Jardim RN, Gonçalves NS, Pereira JS, Fais VC, Gonçalves Junior FL 2008. Occult hepatitis B virus infection in immunocompromised patients. *Braz J Infect Dis.* Aug;12(4):300-5.
- Kew MC 2010. Epidemiology of chronic hepatitis B virus infection, hepatocellular carcinoma, and hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma. *Pathologie Biologie* 58: 273-277.
- Liang TJ 2009. Hepatitis B: The virus and disease. *Hepatology* 49(5): S13-S21.
- Liaw YF, Chu CM 2009. Hepatitis B virus infection. *Lancet* 373:582-592.
- Lin CL, Kao JH 2011. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: Recent advances. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011 Suppl 1:123-30.
- Machado A, Dantas T, Dantas D, Paraná R 2006. Co-infecção HBV/HIV. *Gaz Med Bahia* 76 (1):S69-S72.
- Mallet V, Vallet-Pichard A, Pol S 2011. The impact of human immunodeficiency virus on viral hepatitis. *Liver Int.* 1:135-9.
- Mahtab MA, Rahman S, Khan M, Karim F 2008. Hepatitis B virus genotypes: an overview.

*Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 7(5):457-64.

- Matos MA, Martins RM, da Silva França DD, Pessoni GC, Ferreira RC, Brunini SM, Junqueira AL, Carneiro MA, Teles AS 2008. Epidemiology of hepatitis B virus infection in truck drivers in Brazil, South America. *Sex. Transm. Infect.* 84(5):386-9.
- Matos MAD, Reis NRS, Kozłowski AG, Teles SA, Motta-Castro ARC, Mello FCA, Gomes SA, Martins RMB 2009. Epidemiological study of hepatitis A,B and C in the largest Afro-Brazilian isolated community. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*,899-905.
- Mello FC, Souto FJ, Nabuco LC, Villela-Nogueira CA, Coelho HS, Franz HC, Saraiva JC, Virgolino HA, Motta-Castro AR, Melo MM, Martins RM, Gomes SA 2007. Hepatitis B virus genotypes circulating in Brazil: molecular characterization of genotype F isolates. *BMC Microbiol* 23 (7): 103.
- Morsica G, Ancarani F, Bagaglio S, Maracci M, Cicconi P, Cozzi Lepri A, Antonucci G, Bruno R, Santantonio T, Tacconi L, Baldelli F, Piscopo R, Santoro D, Lazzarin A, D'Arminio Monforte A 2009. Occult hepatitis B virus infection in a cohort of HIV-positive patients: correlation with hepatitis C virus coinfection, virological and immunological features. *Infection* 37: 445-449.
- Moss WJ, Clements CJ, Halsey NA 2003. Immunization of children at risk of infection with human immunodeficiency virus. *Bull World Health Organ* 81(1):61-70.
- Motta-Castro ARC, Martins RMB, Yoshida CFT, Teles SA, Paniago AM, Lima KMB, Gomes SA. 2005. Hepatitis B virus infection in isolated Afro-Brazilian Communities. *J Med Virol* 77:188-193
- Motta-Castro ARC, Martins RMB, Araújo NM, Niel C, Facholi GB, Lago BV, Mello FCA, Gomes AS 2008. Molecular epidemiology of hepatitis B virus in an isolated Afro-Brazilian community. *Arch Virol* 153:2197-2205.
- Mphahlele MJ, Lukhwareni A, Burnett RJ, Moropeng LM, Ngobeni JM 2006. High risk of occult hepatitis B virus infection in HIV-positive patients from South Africa. *Journal of Clinical Virology* 35: 14-20.
- N'Dri-Yoman T, Anglaret X, Messou E, Attia A, Polneau S, Toni T, Chenal H, Seyler C, Gabillard D, Wakasugi N, Eholié S, Danel C 2010. Occult HBV infection in untreated HIV-infected adults in Côte d'Ivoire. *Antivir Ther.* 15(7):1029-34.
- Neau D, Winnock M, Jouvencel AC, Faure M, Castera L, Legrand E, Lacoste E, Ragnaud JM, Dupon M, Fleury H, Lafon ME, Dabis F 2005. Occult hepatitis B virus infection in HIV-infected patients with isolate antibodies to hepatitis B core antigen: Aquitaine cohort, 2002-2003. *Clin Infect Dis* 40: 750-753.

- Niel C, Moraes MT, Gaspar AM, Yoshida CF, Gomes AS 1994. Genetic diversity of hepatitis B virus strains isolated in Rio de Janeiro, Brazil. *J Med Virol* 44:180-186.
- Oliveira MD 2005. Estudo soroepidemiológico da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) e avaliação da soroconversão à vacina Butang em adolescentes da periferia da região metropolitana de Goiânia-Goiás. Dissertação de mestrado-Faculdade de Enfermagem/ Universidade Federal de Goiás ( Fen/UFG) 107p.
- Rai RR, Mathur A, Mathur D, Udawat HP, Nepalia S, Nijhawan S, Mathur A 2007. Prevalence of occult hepatitis B & C in HIV patients infected through sexual transmission. *Trop Gastroenterol*. Jan-Mar;28(1):19-23.
- Raimondo G, Pollicino T, Squadrito G 2003. Clinical virology of hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 39(1): S26-S30.
- Raimondo G, Pollicino T, Cacciola I, Squadrito G 2007. Occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 46:160-170.
- Raimondo G, Allain JP, Brunetto MR, Buendia MA, Chen DS, Colombo M, Craxi A, Donato F, Ferrari C, Gaeta GB, Gerlich WH, Levrero M, Locarni S, Michalak T, Mondelli MU, Pawlotsky JM, Pollicino T, Prati D, Puoti M, Samuel D, Shouval D, Smedile A, Squadrito G, Trépo C, Villa E, Will H, Zanetti AR, Zoulim F 2008. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 49(4):652-7.
- Ramezani A, Banifazl M, Eslamifar A, Aghakhani A 2010. Serological pattern of anti-HBc alone infers occult hepatitis B virus infection in high-risk individuals in Iran. *J Infect Dev Ctries*. Oct 28;4(10):658-61.
- Ramia S, Mokhbat J, Ramlawi F, El-Zaatari M 2008. Occult hepatitis B virus infection in HIV-infected Lebanese patients with isolated antibodies to hepatitis B core antigen. *Int J STD AIDS*. Mar;19(3):197-9.
- Reuter S, Oette M, Wilhelm FC, Beggel B, Kaiser R, Balduin M, Schweitzer F, Verheyen J, Adams O, Lengauer T, Fätkenheuer G, Pfister H, Häussinger D 2010. Prevalence and characteristics of hepatitis B and C virus infections in treatment-naïve HIV-infected patients. *Med Microbiol Immunol*. Sep 19.
- Said ZNA 2011. An overview of occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 17(15):1927-1938.
- Santos EA, Yoshida CF, Rolla VC, Mendes JM, Vieira IF, Arabe J, Gomes SA 2003. Frequent occult hepatitis B virus infection in patients infected with human immunodeficiency

- virus type 1. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 22(2):92-98.
- Shire NJ, Rouster SD, Rajjicic N, Sherman KE 2004. Occult hepatitis B in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. Jul 1;36(3):869-75.
- Sitnik R, Pinho JR, Bertolini DA, Bernardini AP, Da Silva LC, Carrilho FJ. 2004. Hepatitis B virus genotypes and precore and core mutants in Brazilian patients. *J Clin Microbiol* 42(6) 2455-60.
- Stuart JWT, Velema M, Schuurman R, Boucher CAB, Hoepelman IM 2009. Occult hepatitis B in persons infected with HIV is associated with low CD4 counts and resolves during antiretroviral therapy. *Journal of Medical Virology* 81: 441-445.
- Sucupira MVF, Mello FCA, Santos EA, Niel C, Rolla VC, Arabe J, Gomes SA 2006. Patterns of hepatitis B virus infection in Brazilian human immunodeficiency virus infected patients: high prevalence of occult infection and low frequency of lamivudine resistant mutations. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 101(6): 655-660.
- Tatematsu T, Tanaka Y, Kurbanov F, Sugauchi F, Mano S, Maeshiro T, Nakayoshi T, Wakuta M, Miyakawa Y, Mizokami M 2009. 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 of Virology* 22 (4): 10538-10547.
- Teles SA, Martins RMB, Gomes SA, Gaspar AM, Araújo NM, Souza KP, Carneiro MA, Yoshida CFT 2002. Hepatitis B virus transmission in Brazilian hemodialysis units: serological and molecular follow-up. *J Med Virol* 68:41-49.
- Torres-Baranda R, Bastidas-Ramírez BE, Maldonado-González M, Sánchez-Orozco LV, Vázquez-Vals E, Rodríguez-Noriega E, Panduro A 2006. Occult hepatitis B in Mexican patients with HIV, an analysis using nested polymerase chain reaction. *Ann Hepatol*. Jan-Mar;5(1):34-40.
- Vento S, di Perri G, Luzzati R, Cruciani M, Garofano T, Mengoli C, Concia E, Bassetti D 1989. Clinical reactivation of hepatitis B in anti-HBs-positive patients with AIDS. *Lancet* 1(8633):332-323.