

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clinical, demographic and epidemiologic characteristics of hepatitis B virus-infected patients

Catarina Afonso Domingues

M

2022



Clinical, demographic, and epidemiologic characteristics of hepatitis B virus-infected patients

Dissertação de candidatura ao grau de Mestre em Medicina, submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar - Universidade do Porto

Catarina Afonso Domingues

Aluna do 6º ano profissionalizante de Mestrado Integrado em Medicina

Afiliação: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto

Endereço eletrónico: up201606164@icbas.edu.up.pt

Orientador: Isabel Maria Teixeira de Carvalho Pedroto

Professora Catedrática convidada do Instituto de ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

Afiliação: Assistente Graduada Sénior de Gastreenterologia do Centro Hospitalar Universitário do Porto

Endereço eletrónico: ipedroto@gmail.com

Coorientador: Luís Araújo Azevedo Maia

Afiliação: Assistente Hospitalar de Gastreenterologia do Centro Hospitalar Universitário do Porto

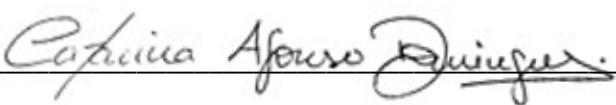
Endereço eletrónico: luismaia.gastro@gmail.com

Porto, junho de 2022

Clinical, demographic, and epidemiologic characteristics of hepatitis B virus-infected patients

Dissertação de candidatura ao grau de Mestre em Medicina, submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar - Universidade do Porto

Assinatura do Estudante



Assinatura do Orientador

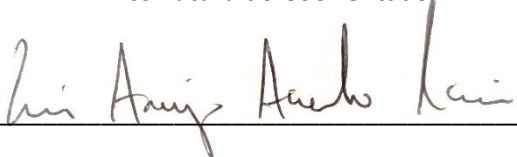
Assinado por: **Isabel Maria Teixeira de Carvalho
Pedroto**

Num. de Identificação: 03964313

Data: 2022.06.01 23:36:30+01'00'



Assinatura do Coorientador



Porto, junho de 2022

Dedicatória

Ao avô Adelino, que me ensinou o verdadeiro significado de trabalho e perseverança e sem o qual não estaria aqui hoje.

“Guarda um cantinho da tua nuvem

Para um dia eu lá morar.”

Agradecimentos

À Professora Dra. Isabel Pedroto, por me ter incentivado a entrar neste estudo, apesar de alguma relutância inicial e que me fez ver o mundo da Hepatologia com outros olhos.

Um agradecimento especial ao Dr. Luís Maia, pela orientação e apoio incansáveis, assim como pelas múltiplas “aulas” de estatística, que foram sem dúvida uma mais-valia.

À Dra. Sara Archer, pela grande ajuda durante o processo e pelos conselhos.

Ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, que me acolheu nestes últimos 6 anos e ao Centro Hospitalar Universitário do Porto.

Por último, não menos importante, um agradecimento muito grande aos amigos que tive a sorte de conhecer em Biomédicas, pela motivação, pelo apoio e por me ajudaram a aprender a Medicina que se aprende fora da sala de aula. A humanidade, a empatia, a compreensão e o respeito pelo outro. Aos meus pais e avó, pela presença constante em todas as vertentes do meu percurso académico e por me incentivarem sempre a querer fazer melhor.

Resumo

Introdução: A hepatite B crónica é a infeção vírica mais frequente a nível mundial. Tem uma evolução variável consoante as características populacionais e virológicas. O seu conhecimento constitui um marco importante no seguimento, tratamento e prognóstico destes doentes.

Objetivos: Avaliação da coorte de infetados com o VHB seguidos em consulta de Hepatologia no CHUPorto. Análise posterior dividindo a coorte em portadores inativos (PI) com critérios completos (ALT normal, ADN <2000UI/ml), PI com ADN 2000-20000 UI/ml e doentes com hepatite crónica AgHBe negativo sob tratamento para comparar comorbilidades e *outcome*.

Métodos: Coorte retrospectiva de doentes com consulta entre 1990-2022 por hepatite B crónica num hospital central. Colheita de dados demográficos e clínicos. Foram excluídos indivíduos com menos de 1 ano seguimento e aqueles em que não foi possível obter os dados relevantes. A análise estatística foi realizada em IBM SPSS Statistics 27.

Resultados: 635 doentes, 59.5% homens, com média de idade 56.85 ± 13.5 anos, média de seguimento 12.39 ± 8 anos. Genótipo testado em 251 doentes (A 29.5%, B 0.8%, C 1.6%, D 58.2%, E 4.4%, F 5.6%). 70 doentes AgHBe + (11%), destes 65.7% com seroconversão. A seroconversão AgHBs foi de 7.4%. Biopsados 175 doentes: METAVIR F0-F1 93.7%, F2-F4 6.2%. Elastografia hepática em 279 doentes (F0-F1 74.9%, F2 12.9%, F3 3.9%, F4 8.2%). Comorbilidades: 11% diabetes, 16.5% HTA, 14.3% dislipidemia e 5.5% DRC. 4.7% submetidos a transplante renal e 1.7% a transplante hepático, tendo, nestes, havido reativação VHB em 20%. Cirrose em 10.2%, 16.5% com consumo abusivo de álcool. CHC encontrado em 1.9%, 66.7% eram cirróticos. Coinfecção VHC e VHD de 5.5% e 0.3%, respetivamente. Faleceram 21% dos doentes, durante o seguimento, 3.3% por causas relacionadas à doença hepática.

56.2% são PI, com média de idades de 56.16 ± 13.4 anos, com média de follow-up de 10.14 ± 8 anos, durante a quais 4.1% desenvolveram cirrose. Mortalidade relacionada com a doença hepática de 0.9%. 14,5% com consumo excessivo de álcool; 12,4% de diabetes, 15,9% HTA e 18,2% de dislipidemia. Fatores de risco para cirrose: diabetes (OR 4.8, $p=0,002$), HTA (OR 7.3, $p=0,000$), dislipidemia (OR 4.46, $p=0.004$), álcool (OR 4.91, $p=0,002$), ALT>ULN ou CV>2000 UI/ml (OR 5.32, $p=0,005$). Em análise multivariada, ajustada para a idade e o tempo de seguimento, nenhum deles constituiu um preditor independente. O *cut-off* de 2000 IU/ml para a CV não previu o desenvolvimento de cirrose em nenhum grupo de doentes. No total de doentes, 93 doentes estão atualmente sob terapêutica antiviral de novo (59.5% tenofovir, 33.6% entecavir).

Discussão: Características demográficas e genotípicas de acordo ao esperado. Baixa prevalência AgHBe + por possível mutação pré-core. CHC quase exclusivo de cirróticos e doentes do sexo masculino. Coinfecção com VHC e VHD potencia piores *outcomes*. Nos PI, há menor incidência de *outcome* graves. CV com *cut-off* de 2000 UI/ml não previu evolução para cirrose, mas as comorbilidades sim. Os tratamentos atuais refletem uma mudança de paradigma sobre o conhecimento da eficácia, segurança e desenvolvimento de resistências. O tratamento com antivíricos tem efeito positivo nos *outcomes* clínicos. A seroconversão do AgHBe constitui um *endpoint* importante do tratamento, tendo sido observada em 65.7% dos doentes.

Conclusões: Na coorte, os doentes crónicos AgHBe negativos com CV < 2000 UI/ml têm bom prognóstico. Nos PI, as comorbilidades, e não a CV, são preditores de cirrose, ao contrário do valor de CV, podendo ser mais relevante controlar adequadamente as comorbilidades.

Palavras-chave: Hepatite B Crónica; Infeção crónica AgHBe-negativa; Hepatite crónica AgHBe-negativa; Perda de AgHBs; Reativação do HBV

Abstract

Introduction: Chronic hepatitis B is the most frequent viral infection worldwide. It has a variable evolution depending on the population and virological characteristics. Their knowledge is an important milestone in the follow-up, treatment and prognosis of these patients.

Objectives: Evaluation of the HBV infected cohort followed in a Hepatology consultation in the CHUPorto. Posterior analysis dividing into inactive carriers (IC) with complete criteria (normal ALT, DNA <2000 IU/ml), IC with DNA 2000-20000 IU/ml and patients with chronic HBeAg negative hepatitis under treatment, to compare the sample in comorbidities and outcomes.

Methods: Retrospective cohort of patients consulted between 1990-2022 for chronic hepatitis B in a central hospital. Collection of demographic and clinical data. Patients with less than 1 year of follow-up and those in which relevant data could not be obtained were excluded. analysis was performed in IBM SPSS Statistics 27.

Results: 635 patients, 59.5% men, with a mean age of 56.85 ± 13.5 years, mean follow-up 12.39 ± 8 years. Genotype tested in 251 patients (A 29.5%, B 0.8%, C 1.6%, D 58.2%, D 4.4%, And 5.6%). 70 Patients HBeAg + (11%), of these 65.7% with seroconversion. Seroconversion HBsAg on 7.4%. 175 patients were biopsed: METAVIR F0-F1 93.7%, F2-F4 6.2%. FibroScan in 279 patients (F0-F1 74.9%, F2 12.9%, F3 3.9%, F4 8.2%). Comorbidities: 11% diabetes, 16.5% hypertension, 14.3% dyslipidemia and 5.5% CKD. 4.7% underwent kidney transplantation and 1.7% hepatic transplant, with HBV reactivation in 20%, in the transplant group. Cirrhosis at 10.2%, 16.5% with alcohol consumption. HCC found in 1.9%, 66.7% were cirrhotic. HCV and HDV co-infection of 5.5% and 0.3%, respectively. 21% of patients died during follow-up, 3.3% due to causes related to liver disease.

56.2% are IC, with a mean age of 56.16 ± 13.4 years, with a follow-up average of 10.14 ± 8 years, during which 4.1% developed cirrhosis. Liver disease-related mortality of 0.9%. 14.5% with excessive alcohol consumption; 12.4% with diabetes, 15.9% arterial hypertension and 18.2% dyslipidemia. Risk factors for cirrhosis: diabetes (OR 4.8, $p=0.002$), hypertension (OR 7.3, $p=0.000$), dyslipidemia (OR 4.46, $p=0.004$), alcohol (OR 4.91, $p=0.002$), ALT>ULN or VL>2000 IU/ml (OR 5.32, $p=0.005$). On multivariate analysis including age and follow-up time, none was an independent predictor. The cut-off of 2000 IU/ml for VL did not predict the development of cirrhosis in any group of patients. 93 patients from the total cohort are undergoing treatment for the first time (59.5% tenofovir, 33.6% entecavir).

Discussion: Demographic and genotypic characteristics according to expected. Low Prevalence HBeAg + by possible pre-core mutation and vaccination. Cirrhosis more prevalent in genotype A. NASH is a key factor of propensity to fibrosis. HCC almost exclusive of cirrhotic and male patients. Co-infection with HCV and VHD potentiates worse outcomes. In IP, there is a lower incidence of severe outcome. VL with cut-off of 2000 IU/ml did not predict evolution to cirrhosis, but comorbidities did. Current treatments reflect a paradigm shift on knowledge of efficacy, safety, and development of resistance. Treatment with antivirals has a positive effect on clinical outcomes. Seroconversion of HBeAg is an important endpoint of treatment and has been observed in 65.7% of patients.

Conclusion: In the cohort, chronic HBeAg-negative patients with VL < 2000 IU/ml have good prognostic. In IP, comorbidities and not VL are predictors of cirrhosis. The control of comorbidities is more relevant than the treatment of HBV, in these patients.

Keywords: Chronic Hepatitis B; HBeAg-negative chronic infection; HBeAg-negative chronic hepatitis; HBsAg loss; HBV reactivation

Lista de abreviaturas

ADN - Ácido desoxirribonucleico

AgHBc - Antígeno “core” do vírus da hepatite B

AgHBe - Antígeno “externo” do vírus da hepatite B

AgHBs - Antígeno de superfície do vírus da hepatite B

ALT - Alanina Aminotransferase

ALTi - Alanina Aminotransferase inicial

Anti-HBc - Anticorpo contra antígeno “core” do vírus da hepatite B

Anti-HBe - Anticorpo contra antígeno “externo” do vírus da hepatite B

Anti-HBs - Anticorpo contra antígeno de superfície do vírus da hepatite B

CHC - Carcinoma Hepatocelular

CV - Carga Viral

IgM - Imunoglobulina M

NASH – *Non-Alcoholic SteatoHepatitis* (Esteatohepatite não alcoólica)

OR - Odds Ratio

PegIFN α - Peg Interferão α

PI – Portadores Inativos

UI/ml - Unidades internacionais/mililitro

U/L – Unidades/Litro

ULN - Upper Limite Normal

VHB - Vírus da Hepatite B

Índice

Resumo	i
Abstract	ii
Lista de abreviaturas	iii
Lista de tabelas	v
Lista de Figuras	vi
Introdução	1
Métodos	5
Resultados	6
Discussão	10
Conclusão	14
Apêndice	15
Bibliografia	20

Lista de tabelas

Tabela I - Caraterísticas e *outcomes* dos portadores inativos versus doentes com infeção crónica VHB (n = 635)18

Tabela II - Modalidades de tratamento segundo a faixa etária (n = 633)19

Lista de Figuras

Figura 1 – Prevalência Global de infeção por VHB.....	15
Figura 2 – História Natural da Infeção Crónica pelo VHB.....	15
Figura 3 – Fases da Infeção Crónica por VHB com base na interação vírus-hospedeiro.....	16
Figura 4 – Distribuição Genotípica dos Doentes com Hepatite B.....	16
Figura 5 – Resultados FibroScan dos Doentes com Hepatite B Crónica.....	17
Figura 6 - Distribuição Temporal do Tratamento da Hepatite B Crónica com Antivirais.....	17

Introdução

A infecção pelo vírus da Hepatite B (VHB) é a infecção vírica crónica mais frequente a nível mundial. É estimado que cerca de 2 mil milhões de pessoas foram infetadas e mais de 350 milhões de pessoas sejam portadoras crónicas do vírus.¹

O VHB faz parte da família dos Hepadnaviridae (vírus ADN hepatotrópicos). Estes têm uma forte preferência pela infecção das células hepáticas, mas pequenas quantidades do seu ADN podem ser encontradas nos rins, pâncreas e células mononucleares.²

Cerca de 30% da população mundial tem evidência serológica de infecção por VHB.¹ Este é transmitido através da exposição ao sangue infetado ou outros fluidos corporais, particularmente sêmen e secreções vaginais.³ A transmissão ocorre de três modos: em áreas endémicas, o VHB é transmitido na sua maioria por infecção perinatal de mães infetadas a recém-nascidos (transmissão vertical); em áreas moderadamente endémicas a transmissão sexual é predominante, sendo o risco de transmissão maior em pessoas com um número elevado de parceiros sexuais, homens que têm sexo com homens e naqueles com história de outras infeções sexualmente transmissíveis; e, por último, a fonte de infecção incorpora as transfusões de sangue, a diálise ou o uso de seringas contaminadas maioritariamente nos utilizadores de drogas injetáveis.¹

Em termos de epidemiologia, a hepatite B pode ser descrita pela prevalência do antígeno de superfície (AgHBs), podendo ser classificada em alta prevalência ($\geq 8\%$ AgHBs), intermédia ($2\% - 7\%$ AgHBs) e baixa ($< 2\%$ AgHBs).³ A nível mundial estima-se que 45% da população viva numa zona de alta prevalência, sendo predominante na África Subsariana e regiões da Ásia-Pacífico, onde a maioria das infeções ocorre na infância, com alto risco de evolução para a cronicidade.³ Os países de baixa prevalência incluem a Austrália, a Europa do Norte e ocidental, o Japão, a América do Norte e alguns países da América do Sul, sendo que a maioria das infeções incidentes ocorre na adolescência e na vida adulta (Figura 1).³

No entanto, a epidemiologia da infecção por VHB está a sofrer alterações a nível mundial devido ao impacto dos programas universais de vacinação e da migração entre populações de alta e baixa prevalência.³ Com a migração populacional, a prevalência e incidência de VHB estão a aumentar em vários países europeus de baixa incidência (Itália, Alemanha, por exemplo), devido às maiores taxas de prevalência de AgHBs em migrantes e refugiados de fora da Europa.⁴

Contudo, a prevalência em zonas altamente endémicas tem vindo a diminuir devido a melhorias socioeconómicas, à implementação de programas de vacinação universais e de tratamentos antivirais eficazes.⁴ O potencial impacto da vacinação infantil contra o VHB é obviamente maior em populações de alta prevalência, onde podemos ver não só uma queda

abrupta da prevalência do AgHBs, como também reduções significativas na incidência de hepatocarcinoma.³ No entanto, mesmo com programas universais de vacinação, tem sido impossível prevenir substancialmente casos agudos de infecção VHB, principalmente em populações de alto risco.⁴

Após a infecção aguda, a clínica torna-se aparente após um período de incubação de 45 a 180 dias. A eliminação vírica começa várias semanas antes do aparecimento da doença e é amplamente mediada por citocinas antivíricas. Após o declínio de ADN vírico, uma resposta imunitária citolítica culmina na apoptose de hepatócitos e necrose hepatocitária, dando origem à hepatite clínica. O principal mecanismo de necroinflamação advém principalmente das células T CD8+ (citotóxicas), que reconhecem hepatócitos infectados e recrutam células inflamatórias, seguida de uma cascata de dano imunológico.⁵

A infecção crónica por VHB é um processo dinâmico que reflete a interação entre a replicação do VHB e a resposta imune do hospedeiro, sendo que nem todos os doentes com infecção crónica pelo VHB têm hepatite crónica. Na história natural da infecção crónica conseguimos, então, evidenciar cinco fases não necessariamente sequenciais ⁶, tendo em conta a presença de AgHBe, níveis de ADN VHB, ALT e eventualmente a presença ou ausência de inflamação hepática (Figura 2).⁴

Na fase 1, infecção crónica AgHBe positivo, anteriormente designada por “fase imunotolerante”, observada preferencialmente nos casos de transmissão vertical, o AgHBe é positivo, a ALT está dentro da normalidade, os níveis de ADN do VHB são elevados e a inflamação ou fibrose hepática é mínima. ⁶ Estes doentes são altamente contagiosos, devido aos elevados níveis de ADN VHB.⁴ Na fase 2, hepatite B crónica AgHBe positivo, podemos observar níveis elevados de ALT e de ADN do VHB, com inflamação hepática ativa, podendo ou não ter fibrose.⁴ O resultado desta fase é variável, podendo apresentar-se de duas maneiras: 10-20% permanece na fase imunoativa após a seroconversão para anti-HBe e outros transitam para a fase inativa, onde podem experienciar episódios de reativação.⁶ A fase 3, infecção crónica AgHBe negativo, é caracterizada pela presença de anticorpos séricos para AgHBe (anti-HBe) indetetáveis ou baixos⁴, com níveis normais de ALT e níveis de ADN do VHB baixos, por vezes com melhoria da inflamação e da fibrose hepática ao longo do tempo.⁶ Este estado, historicamente categorizado de portador inativo pode persistir indefinidamente e o prognóstico é geralmente bom.⁷ A fase 4, hepatite B crónica AgHBe negativo, é caracterizada por falta de AgHBe sérico, normalmente com anti-HBe detetável e persistente, nível moderado a alto de ADN do VHB, bem como valores de ALT persistentemente elevados, acompanhados de necroinflamação e fibrose. ⁴ Para além da necroinflamação, vários estudos indicam que o nível de ADN VHB é também um preditor para o desenvolvimento de cirrose e/ou carcinoma hepatocelular (CHC). ⁸

Na última fase, a fase 5, também chamada de fase AgHBs negativa ou “infecção oculta por VHB”, podemos observar a ausência de AgHBs, com anticorpos positivos ao AgHBc (anti-HBc), com ou sem anticorpos detetáveis para AgHBs (anti-HBs), valores normais de ALT e, normalmente, ADN do VHB indetetável (Figura 3).⁴

Os doentes AgHBe-negativos com níveis persistentemente normais de ALT, mas com níveis elevados de ADN VHB > 2000 UI/ml não se enquadram nos critérios para infecção crónica AgHBe negativa ou hepatite crónica AgHBe negativa. Não é claro se os doentes deste subgrupo estão em risco de doença hepática avançada e/ou carcinoma hepatocelular e beneficiariam de terapia antiviral. De facto, o valor preditivo de níveis elevados de ADN do VHB (> 2000 UI/ml) sobre o resultado da doença no estabelecimento de níveis ALT persistentemente normais está limitado a coortes de doentes asiáticos.⁸

A perda de AgHBs antes do início do desenvolvimento de cirrose está associada a um risco de cirrose, descompensação e hepatocarcinoma diminuído. No entanto, se a cirrose já estiver estabelecida previamente, o risco permanece, sendo necessária a permanente vigilância.⁹

O diagnóstico de hepatite B aguda é feito a partir da avaliação de sintomas, com deteção do AgHBs, aumento das transaminases e alterações dos fatores de coagulação, tendo este último parâmetro valor prognóstico. Usualmente, conseguimos detetar IgM anti-HBc e o ADN do VHB está presente. O diagnóstico de infecção crónica é baseado na persistência do AgHBs por mais de 6 meses. Estes doentes são usualmente diagnosticados por parâmetros laboratoriais e não pela clínica que apresentam.¹⁰

O principal objetivo do tratamento de doentes com infecção crónica por VHB é melhorar a sobrevivência e a qualidade de vida, através da prevenção da progressão da doença e consequente desenvolvimento de hepatocarcinoma, a longo prazo. Adicionalmente, os objetivos da terapia antiviral são a prevenção da transmissão mãe-filho, da reativação da doença e a prevenção e tratamento das manifestações extra-hepáticas associadas ao VHB.⁴

Atualmente existem duas opções principais de tratamento para doentes com hepatite B crónica: tratamento com análogos dos núcleos(t)ídeos ou com PegIFN α . Muitos programas de investigação estão em curso para o desenvolvimento de novos tratamentos, cujo conceito se centraliza na eliminação do AgHBs numa proporção significativa de doentes, de maneira a que seja possível interromper os tratamentos sem risco de recidiva virológica ou de progressão hepática e diminuir ainda mais o risco de hepatocarcinoma – cura funcional. Estas novas opções podem ser categorizadas em antivirais de ação direta (inibidores de entrada do VHB, fármacos que visam a destruição ou silenciamento do cccDNA, etc.) e agentes imunoterapêuticos (para restaurar a capacidade imunitária de resposta ao VHB).⁴

Os indivíduos com infecção crónica pelo VHB têm um risco aumentado de progressão cirrogénica, insuficiência hepática e hepatocarcinoma. Recentemente foi estimado que cerca de 53% dos casos de hepatocarcinoma a nível mundial estão relacionados com a infecção por VHB, sendo por isso importante a identificação atempada destes doentes com maior risco de progressão.¹¹

Este estudo tem como objetivo primário, a avaliação da coorte de infetados com o VHB seguidos na consulta de Hepatologia do serviço de Gastroenterologia do CHUPorto, dividindo posteriormente os doentes em 3 grupos: infecção crónica AgHBe negativo (antigos portadores inativos) com critérios completos (ALT normal, ADN <2000 UI/mL), infecção crónica AgHBe negativo (antigos portadores inativos) com ADN 2000-20000 UI/mL e hepatite crónica AgHBe negativo sob tratamento. Seguidamente, será feita a comparação dos resultados nos três grupos relativamente à mortalidade, presença de cirrose, incidência de hepatocarcinoma e grau fibrose por elastografia transitória, bem como a avaliação de cofatores para doença hepática e possíveis decisores da terapêutica.

Os objetivos secundários são a caracterização epidemiológica e clínica da amostra, bem como a identificação de fatores de prognóstico que possam influenciar as decisões e o seguimento destes doentes.

Métodos

Estudo de investigação de coorte retrospectiva.

Foram incluídos todos os indivíduos com mais de 18 anos diagnosticados com hepatite B crónica com seguimento clínico na consulta de Hepatologia do CHU Porto de 1990-2022.

A lista de doentes foi facultada pelo Serviço de Gastroenterologia. Os dados foram recolhidos através de consulta do processo clínico eletrónico (PCE) de cada doente e, quando necessário do processo físico em papel, com os seguintes parâmetros: caracterização demográfica, dados clínicos e laboratoriais ao longo do tempo, tratamento e principais desfechos clínicos.

Foram excluídos indivíduos com menos de 1 ano seguimento e aqueles em que não foi possível obter os dados relevantes.

As variáveis em estudo foram por sexo, idade, presença de comorbilidades como diabetes mellitus (DM), hipertensão arterial (HTA), dislipidemia, hepatite B, C e D, presença de AgHBs, anti-HBc, anti-HBe, carga viral, parâmetros bioquímicos como bilirrubina total, transaminases (AST/ALT), albumina sérica, contagem de plaquetas e INR, presença de cirrose, valor de elastografia (kPa), anos de seguimento, perda de AgHBs, seroconversão AgHBs para anti-HBs, reativação, incidência de hepatocarcinoma, mortalidade e motivo de morte e os tratamentos passados e correntes.

O estudo foi aprovado pela comissão de ética local [Ref.^a:2021.304(250-DEFI/258-CE)].

A análise estatística foi realizada em IBM SPSS Statistics 27.

Resultados

Foram incluídos 635 doentes.

Destes doentes, 59.5% eram homens e 40.5% eram mulheres, com uma média de *follow-up* de 12.39 ± 8 anos. As idades dos indivíduos no final do seguimento variavam entre os 23 e os 88 anos, sendo a média cerca de 56.85 ± 13.5 anos. Já a idade média na 1ª consulta é de 43.51 ± 15.7 anos.

Foram testados os genótipos em 251 doentes, sendo o mais prevalente o genótipo D, com 58.2% dos doentes incluídos e, seguidamente, o genótipo A, com 29.50%. A distribuição genotípica foi semelhante quando analisada de acordo com o género. O genótipo B, C, E e F foram observados em ambos os géneros, no entanto, com baixa expressão (Figura 4).

À apresentação, 70 doentes apresentavam positividade para o AgHBe (11%), tendo 46 destes sofrido seroconversão HBe (65.7%) e 18 negativaram, sem seroconversão (25.7%). Quanto ao AgHBs, houve seroconversão em 47 doentes (7.4%), tendo apenas negativado em 14 doentes (2.2%). A média do tempo até à perda do AgHBs foi 8,56 anos. Verificou-se que na coorte de doentes que teve perda de AgHBs, 69% tinham uma CV inicial < 2000 UI/ml e 88% eram AgHBe negativos no início do estudo, onde 84% já tinha sofrido seroconversão para Anti-HBe.

Foram sujeitos a biópsia hepática com análise histológica 175 doentes, sendo que 93.7% correspondiam às classificações F0-F1 e 6.2% às classificações F2-F4 do METAVIR, respetivamente. Já na elastografia hepática transitória (*FibroScan*) foram submetidos um conjunto maior de doentes, contando com 279 indivíduos. Destes, 74.9% pertenciam à classificação F0-F1, 12.9% pertenciam a F2, 3.9% a F3 e 8.2% a F4 (Figura 5).

Quanto às comorbilidades que apresentavam, 11% tinha diabetes mellitus, 16.5% hipertensão arterial, 14.3% dislipidemia e 5.5% tinha doença renal crónica, dos quais 1.6% estava a fazer hemodiálise. Trinta doentes (4.7%) foram submetidos a transplante renal e onze (1.7%) foram submetidos a transplante hepático ortotópico. Dos doentes alvo de transplante renal, seis tiveram reativação do VHB (20%), cinco devido a imunossupressão e um por suspensão do tratamento. Já no grupo alvo de transplante hepático ortotópico, três doentes sofreram reativação do vírus (27.3%), todos devido a imunossupressão. No total, a reativação do VHB deu-se em 96 doentes (15.12%), sendo que neste grupo alargado, o motivo principal foi a suspensão do tratamento (70.83%), em detrimento de imunossupressão (29.17%).

A evolução para cirrose ocorreu em 10.2% dos doentes da amostra (8.3/1000

pessoas-ano). Do total de doentes, 16.5% apresentava um consumo excessivo de álcool, sendo que a maioria destes doentes era do sexo masculino (75.2%). Como fatores de risco para cirrose, podemos identificar a presença de diabetes (OR 3.9, $p=0.000$), hipertensão arterial (OR 2.4, $p=0.003$), coinfeção VHC (OR 7.2, $p=0.000$), coinfeção VHD (OR 28.9, $p=0.000$) e álcool (OR 3.5, $p=0.000$). Identifica-se, também, um maior risco de desenvolvimento de cirrose no sexo masculino (OR 2.5, $P=0.003$). Em análise multivariada, ajustada para a idade e o tempo de seguimento, a coinfeção VHC e VHD constituíram preditores independentes.

Foi identificado hepatocarcinoma em doze doentes (1.9%), 1.5/1000 pessoas-ano, sendo que 8 destes (66.7%) eram cirróticos e quatro não cirróticos (33.3%). Dos doze doentes identificados, onze eram do sexo masculino (91.67%), tendo falecido sete durante o presente estudo (58.3%). A média de idades de aparecimento de hepatocarcinoma foi de 65.9 anos e a média do tempo de seguimento até ao seu surgimento foi de 6.7 anos.

Foram identificadas coinfeções com VHC ou VHD em 35 doentes (5.5%) e 2 doentes (0.3%), respetivamente. Seis doentes estavam infetados com os 3 vírus - VHB, VHC e VHD (0.9%).

Durante o período em estudo, faleceram 133 doentes (21% do total, 16.9/1000 pessoas-ano), sendo que em apenas 21 (3.3%) se deveram a causas relacionadas com a doença hepática. Ao analisar os fatores de risco de mortalidade global, apenas o consumo de álcool é significativo (OR=2.1, $p=0.003$). No entanto, em análise multivariada, ajustada para a idade e o tempo de seguimento, não constituiu um preditor independente.

Portadores Inativos

Dos 635 doentes incluídos no estudo, 357 doentes eram portadores inativos (56.2%). Destes, 53.5% eram homens com idade média atual de 56.16 ± 13.4 anos, com média de *follow-up* de 10.14 ± 8 anos, durante o qual 4.1% desenvolveram cirrose. Em termos de comorbilidades, 14.5% dos doentes tinham consumo excessivo de álcool, 12.4% tinham diabetes, 15.9% hipertensão arterial, 18.2% de dislipidemia e 4.8% tinham coinfeção VHC. Na coorte de portadores inativos, 74.2% tinham uma CV inicial < 2000 UI/ml, enquanto nos doentes com hepatite crónica VHB apenas 46.4% tinham uma CV inicial < 2000 UI/ml, sendo maioritariamente 2000 UI/ml ou mais (53.6%). Também em relação aos parâmetros hepáticos laboratoriais iniciais, nomeadamente a ALT, nos portadores inativos, 61.6% tinham uma $ALT_i \leq 25$ U/L, enquanto os doentes com hepatite crónica tinham maioritariamente uma $ALT_i > 25$ U/L (74.8%).

Na análise de fatores de risco para cirrose, foram excluídos os doentes coinfectados com VHC. Pudemos identificar como fatores de risco a presença de diabetes (OR 4.8, $p=0.002$), hipertensão arterial (OR 7.3, $p=0.000$), dislipidemia (OR 4.46, $p=0.004$), álcool (OR 4.91, $p=0.002$) e ALT > ULN ou CV > 2000 IU/ml (OR 5.32, $p=0.005$). Em análise multivariada, ajustada para a idade e o tempo de seguimento, nenhum deles constituiu um preditor independente. Quando analisados separadamente, o consumo de álcool (OR 18.31, $p=0.031$) previu a evolução cirrótica em doentes com ALT < ULN e CV < 2000 IU/ml, enquanto nos restantes doentes foi a presença de diabetes (OR 4.4, $p=0.028$) e de hipertensão arterial (OR 5.4, $p=0.012$). O limite de 2000 IU/ml para a CV não previu o desenvolvimento de cirrose em nenhum grupo de doentes. Um portador inativo apresenta um risco de 28.4% de evoluir para cirrose, comparativamente aos doentes com hepatite B crónica. A mortalidade relacionada com a doença hepática foi de 0.9% (Tabela I).

Tratamento

Quanto à terapêutica implementada, 382 doentes (60.35%) nunca foram submetidos a tratamento médico no decorrer da sua doença, sendo que 69 doentes (10.90%) apenas fizeram tratamento prévio e não estão presentemente a fazê-lo (à data da última consulta), 93 doentes (14.70%) estão atualmente sob terapêutica antiviral de novo e 89 doentes (14.06%) estão a fazer tratamento atualmente, tendo já sido sujeitos a tratamentos prévios (Figura 6).

No grupo de doentes que fez tratamento prévio, podemos aferir que os antivirais mais utilizados são o adefovir (55.2%) e a lamivudina (52.6%), havendo ainda a utilização de PegIFN α por 30.6% dos doentes, tenofovir por 27.6% e entecavir por 12.9%. Sendo que houve doentes a usufruírem de terapêutica com mais do que um fármaco, as percentagens de usuários das diferentes terapêuticas, ultrapassa os 100%.

No grupo de doentes que está a fazer tratamento ativo, na última consulta, o agente com maior percentagem de utilização é o tenofovir com 59.5%, seguido do entecavir (33.6%), sendo as restantes opções de terapêutica, mais vestigiais, com 5.5% para a utilização de lamivudina e 3.2% para a utilização de adefovir.

Em relação à idade, tanto o tratamento prévio, como o tratamento atual, é mais prevalente nos doentes mais jovens, dos 20 aos 39 anos. As proporções quanto ao tipo de fármaco, mantêm-se em todas as faixas etárias, nas duas modalidades (Tabela II).

Da coorte de portadores inativos, apenas 40 estão sob tratamento ativo (11.27%), tendo 12 feito tratamento prévio (3.4%). Dezasseis doentes encontram-se em tratamento, tendo já feito

tratamento prévio (4.5%) e os restantes 287 doentes, nunca fizeram tratamento ao longo do seguimento (80.8%).

Discussão

No presente estudo verificámos que as características demográficas desta coorte estão de acordo com as reportadas na literatura para a região mediterrânica, havendo uma maior prevalência de indivíduos cronicamente infetados com VHB no sexo masculino, como é expectável.

A idade média dos indivíduos na 1ª consulta, aquando do diagnóstico, é cerca de 43.51 anos, sendo por isso, relativamente tardia. Isto sugere-nos que a maioria das infeções crónicas em Portugal decorrem de um contacto com o vírus sem sintomatologia em detrimento de uma evolução para cronicidade a partir de hepatite B aguda sintomática. Outra justificação prende-se com o facto de a população jovem estar maioritariamente vacinada; ou que a via de transmissão principal não é a vertical, mas sim a percutânea/sexual.

Em relação à distribuição genotípica, verificamos uma predominância de genótipo D, seguido do genótipo A, sendo esta semelhante quando comparados os dois géneros. Este dado vai de encontro a vários estudos conduzidos a nível europeu¹², assim como de alguns conduzidos em Portugal, especialmente na região Norte¹³, correspondendo ao chamado “padrão mediterrâneo”.¹⁴ Há questões pendentes quanto à relevância clínica desta distinção, no entanto, acredita-se que na Europa o genótipo A tem uma maior taxa de eliminação de AgHBe e um melhor *outcome*, assim como na Ásia, o genótipo B está associado a uma maior depuração de AgHBe e a uma menor ocorrência de evolução para cirrose e CHC.¹⁵

Ao avaliarmos a presença de AgHBe, evidenciamos que o coorte analisado tem baixa prevalência de indivíduos positivos para este antígeno. Este achado levanta a possibilidade de mutações na região *pré-core* ou *core promotor*¹⁴ ou a evolução com vários anos, com perda de AgHBe. A perda de AgHBs, também ocorreu num número reduzido de doentes, tendo 6% sofrido seroconversão, sendo que na sua maioria eram indivíduos com uma CV inicial < 2000 UI/ml e AgHBe negativos.

Foram submetidos a biópsia e elastografia hepática transitória (*FibroScan*) 71.4% dos doentes. Podemos verificar que a maior parte deles se encontram no estadio F0-F1, sendo maioritariamente portadores inativos (43.7% dos PI). Já os doentes com score F3-F4 são maioritariamente doentes com inflamação crónica (5.7% destes doentes).

A evolução para cirrose ocorreu em 10.2% dos doentes da amostra (8.3/1000 pessoas-ano), pertencendo aos genótipos A, maioritariamente, seguido do genótipo D. Alguns estudos, encontraram relação entre o genótipo C e a evolução para cirrose¹⁶, no entanto, neste estudo essa realidade não se revela. Isto pode dever-se ao facto de apenas 17 doentes cirróticos terem sido

testados quanto ao genótipo, do total de 65, do genótipo ser menos frequente ou isto ser apenas verdade para populações asiáticas. Existem, ainda, outros estudos a contrariar esta hipótese, afirmando que não existem diferenças significativas entre genótipos nos doentes cirróticos, para concluir esta relação.¹⁷ Quanto à presença de NASH, o genótipo predominante é o D (63.6%), comparativamente aos doentes que não apresentam esta patologia. A NASH tem vindo a tornar-se noutra causa importante de cirrose e CHC, sendo que entre doentes com valores de ALT normais, a ocorrência de NASH está fortemente associada a fibrose significativa, independentemente do status AgHBe.¹⁸ Fatores metabólicos, como obesidade, diabetes e HTA, podem estar por trás desta conclusão ou então pode dever-se à capacidade do VHB de facilitar indiretamente o desenvolvimento de esteatose. No entanto, a interação entre o VHB e NASH, ainda não está bem compreendida.¹⁸

Foi identificado CHC em 1.9% dos doentes (1.5/1000 pessoas-ano), sendo prevalente maioritariamente em doentes cirróticos. Destes, 91.67% eram do sexo masculino, onde a idade média de aparecimento foi de 65.9, o que corrobora com os dados do Observatório Global do Cancro, entidade pertencente à OMS (Globocan 2020). No que toca aos *outcomes* hepáticos, como cirrose, NASH, CHC, valores mais elevados de fibrose e necroinflamação, o género mais afetado é o sexo masculino. Estas diferenças podem estar relacionadas com o facto de este grupo ter mais fatores de risco para progressão de doença, como é o caso dos hábitos de ingestão alcoólica, igualmente mais elevados nos homens.

A coinfeção VHB/VHC é um achado bastante frequente, particularmente em zonas endémicas, entre sujeitos com elevado risco de infeções parentéricas.¹⁹ As observações clínicas de vários estudos, sugerem que a interferência entre os dois vírus era mais frequentemente caracterizada por uma inibição da replicação do HBV exercida pelo HCV, o que podemos comprovar pelos valores muito baixos de ADN VHB, tendo em conta que 60% dos doentes co infetados apresentam uma carga viral indetetável e 40% apresenta < 2000 UI/ml. Desta forma, testar apenas AgHBs isoladamente, pode subestimar substancialmente a verdadeira prevalência da coinfeção VHB/VHC.²⁰⁻²² Autores como Zarski *et al.* defendem ainda, comparando os dois grupos de doentes histologicamente, que o grau de lesão hepática é mais severo nos doentes co infetados, comparativamente com os doentes com monoinfeção VHB, estando associada a uma maior prevalência de cirrose e descompensação hepática, assim como CHC²³, facto evidenciado no presente estudo.

No grupo dos portadores inativos, a maior parte possuía uma CV inicial < 2000 UI/ml e valores de ALT iniciais < 25 U/L, como expectável. Apresentam um risco de 28.4% de evoluir para

cirrose, comparativamente aos doentes com hepatite B crónica. Num estudo retrospectivo implementado a uma coorte de doentes com seroconversão HBe e níveis de ALT persistentemente normais, chegou-se à conclusão de que um *cut-off* de carga viral de 2000 UI/ml era preditor de cirrose e CHC.⁸ Quando analisamos os fatores de risco para desenvolvimento de cirrose, no presente estudo, podemos evidenciar que as comorbilidades, como diabetes, hipertensão arterial, dislipidemia e álcool, constituem preditores de cirrose. No entanto, o *cut-off* de 2000 IU/ml para a carga viral, não previu esta evolução. Isto pode-nos indicar que, nestes doentes, talvez seja mais relevante fazer um controlo apertado de comorbilidades, do que instituir tratamento ao VHB, algo que há muito é questionado.⁸

Quanto ao tratamento, podemos identificar uma mudança nos fármacos utilizados, comparando o tratamento prévio e o tratamento atual. A lamivudina e o adefovir, mais utilizados no tratamento prévio, passaram a ser substituídos, em termos de prevalência, pelo tenofovir e entecavir. Um dos motivos pode ser pelo facto de terem sido encontradas evidências de desenvolvimento de resistências nos doentes tratados com lamivudina e de que a monoterapia com adefovir, apesar de ter baixo risco de desenvolvimento de resistências, provou ser menos efetiva e ao mesmo tempo mais cara, comparativamente a outras estratégias competitivas de tratamento.²⁴

Adicionalmente, podemos constatar que nenhum doente se encontra atualmente sob tratamento com interferão peguilado. Anteriormente, alguns autores concluíram que a monoterapia com este fármaco deveria ser tida como 1ª linha na hepatite B crónica AgHBe positivo, tendo em conta que não induzia resistência, tinha uma elevada resposta neste grupo de doentes e a duração do tratamento era limitada salvando custos de uma terapêutica prolongada; no entanto, esta conclusão foi contestada.²⁵ Atualmente, considera-se que esta modalidade de tratamento possui uma alta variabilidade de resposta e o seu perfil de segurança desfavorável, tornando um número significativo de doentes inelegíveis ou pouco dispostos ao tratamento. Para além disso, o seu modo de administração através de injeções subcutâneas, prova-se menos propício à adesão terapêutica, em relação aos tratados com agentes orais, bem tolerados, de posologia fácil, que promovem uma melhora histológica e de supressão vírica igualmente boa, mesmo em doentes que não respondem a interferão.⁴

Quanto aos doentes AgHBe positivo, 77.1% estão atualmente em tratamento. Do total destes doentes, cerca de 65.7% seroconverteram, o que constitui um valor mais elevado do que esperado segundo a literatura.²⁵

É importante ressaltar que este estudo teve várias limitações. Em primeiro lugar, é um estudo retrospectivo, o que constitui um fator de enviesamento. No entanto, tendo em conta que os doentes eram sistematicamente acompanhados em consulta, de acordo com o que está protocolado e que o tempo de seguimento médio é de 12 anos, podemos pensar que estas condicionantes possam ter um peso relativo nos resultados.

Da amostra total de doentes inicialmente considerada foram excluídos vários doentes por ausência de dados. Também algumas das informações registadas de variáveis estudadas, como o caso da genotipagem, da histologia hepática, dos dados de elastografia hepática transitória (*FibroScan*) e dos motivos de reativação de VHB, compreendem um número inferior ao da amostra total, os três primeiros por terem indicações específicas à sua realização e o último por falta de informação nos processos, podendo limitar as conclusões relacionadas com estas variáveis.

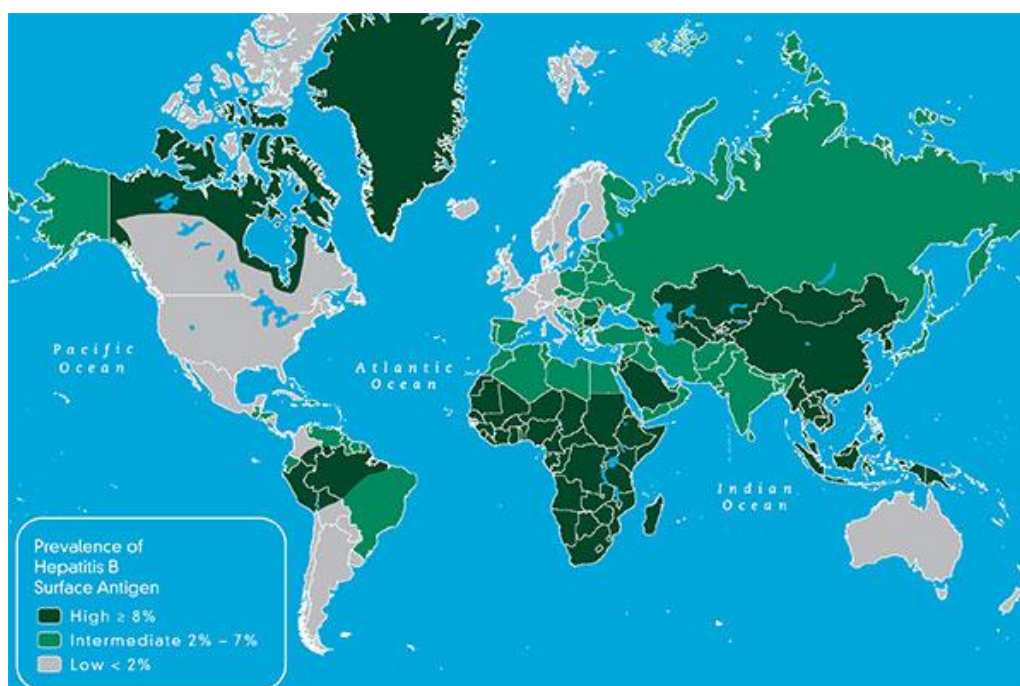
Outro viés a identificar, foi o facto de alguns dos doentes do estudo serem imigrantes em Portugal, originários de zonas endémicas e que não foram devidamente identificados. No entanto, estes doentes compreendem um número ínfimo de casos da amostra total, podendo as limitações às conclusões serem praticamente inexistentes. De ressaltar que em estudos prévios, onde essa distinção foi feita, este fenómeno não teve grande impacto nos resultados.¹⁴

Conclusão

Em conclusão, os doentes crónicos AgHBe negativos, com uma CV < 2000 UI/ml têm um prognóstico relativamente bom, possivelmente não necessitando de tratamento antiviral. Na coorte de portadores inativos, podemos verificar que as comorbilidades representam um preditor de cirrose, ao contrário do valor da CV, sendo mais relevante fazermos um controlo adequado das suas comorbilidades.

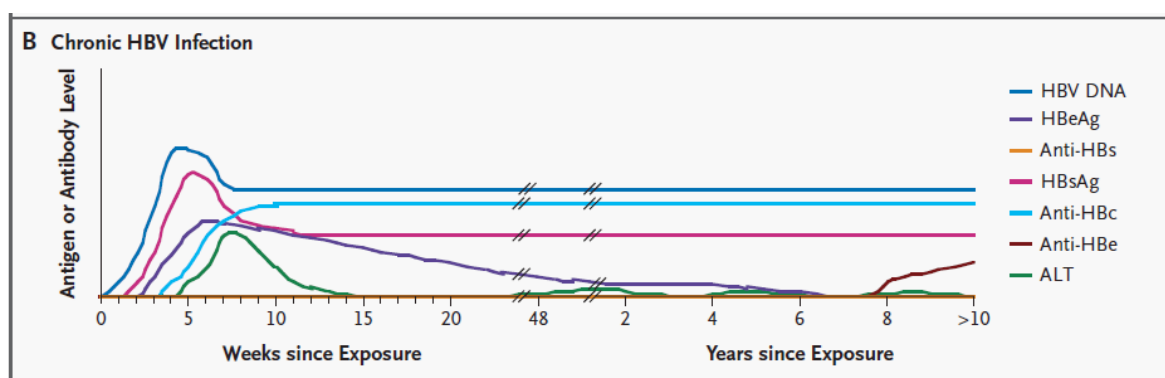
Apêndice

Figura 1 – Prevalência Global de Infecção por VHB



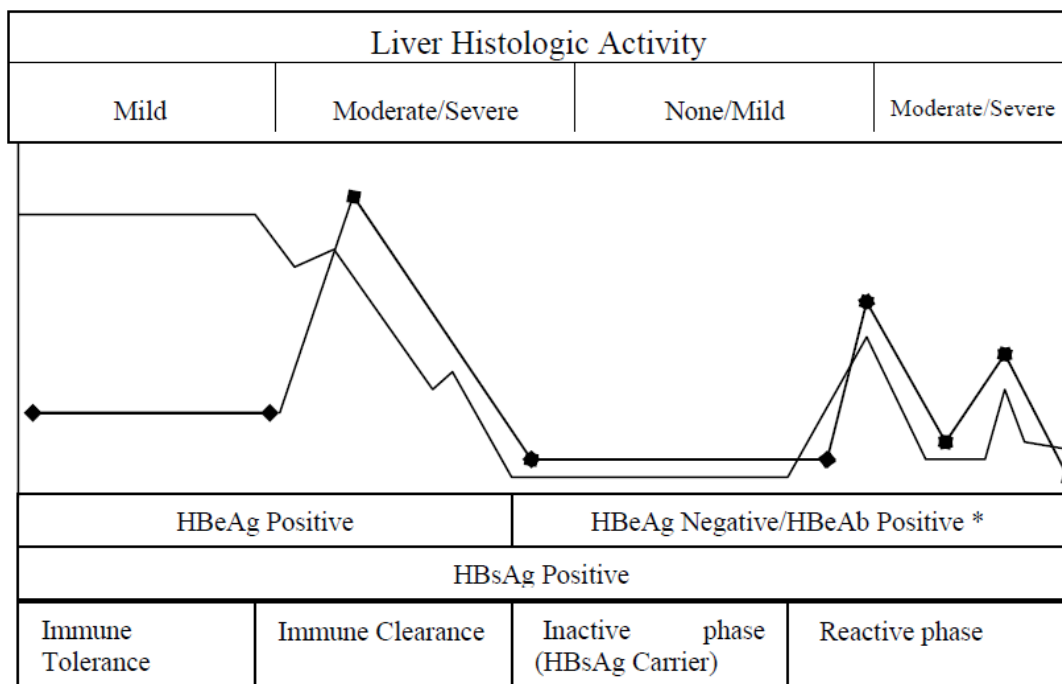
Adaptado de MacLachlan JH, Cowie BC. *Hepatitis B virus epidemiology. Cold Spring Harbor Perspectives in medicine.* 2015

Figura 2 – História Natural da Infecção Crônica pelo VHB²⁶



Adaptado de Ganem D, Prince AM. *Mechanisms of Disease Hepatitis B Virus Infection-Natural History and Clinical Consequences.* Vol 350.; 2004

Figura 3 – Fases da Infecção Crónica por VHB com base na interação vírus-hospedeiro



Adaptado de Pan CQ, Zhang JX. *Natural history and clinical consequences of hepatitis B virus infection. International Journal of Medical Sciences.* 2005

Figura 4 – Distribuição Genotípica dos Doentes com Hepatite B

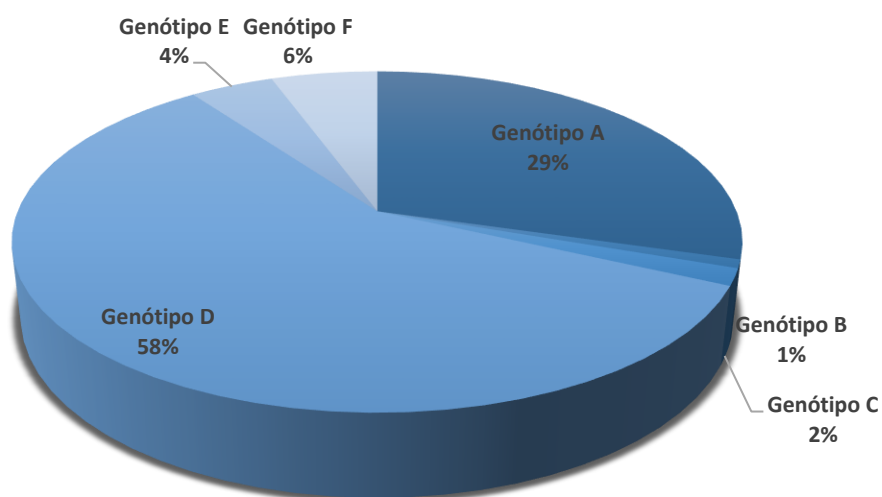


Figura 5 – Resultados FibroScan dos Doentes com Hepatite B Crónica

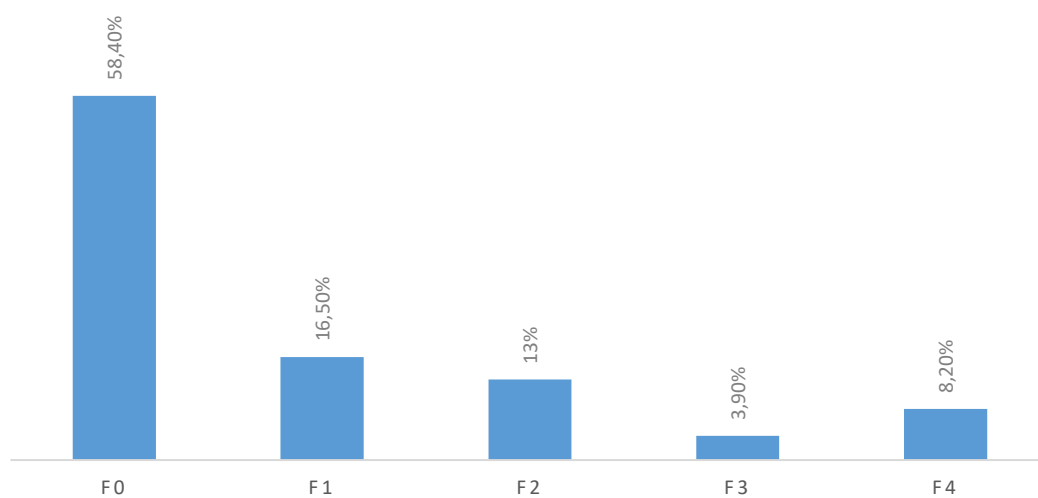


Figura 6 - Distribuição Temporal do Tratamento da Hepatite B Crónica com Antivirais

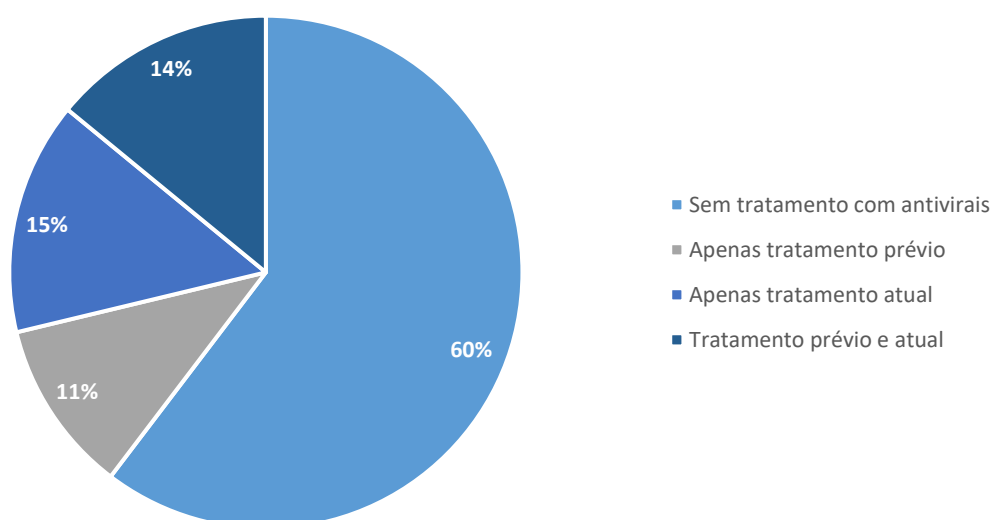


Tabela I - Características e *outcomes* dos portadores inativos versus doentes com infeção crónica VHB (n = 635)

Caraterísticas	Totalidade dos doentes em estudo (n = 635)	Doentes com hepatite crónica VHB (n = 278)	Portadores inativos (n=357)
Média de idades (anos) ± DP	56.85 ± 13.5	57.59 ± 13.7	56.16 ± 13.4
Média de <i>follow-up</i> (anos) ± DP	12.39 ± 8	15.29 ± 7.7	10.14 ± 8
Média de idade 1ª consulta (anos) ± DP	43.51 ± 15.7	40.23 ± 15.3	46.12 ± 15.5
Sexo Masculino (%)	59.5% (n=378)	66% (n=183)	53.5% (n=191)
CV inicial (%)	CVi < 2000 UI/ml: 62% CVi ≥ 2000 UI/ml: 38%	CVi < 2000 UI/ml: 46.4% CVi ≥ 2000 UI/ml: 53.6%	CVi < 2000 UI/ml: 74.2% CVi ≥ 2000 UI/ml: 25.8%
ALTi (%)	ALTi ≤ 25 U/L: 45.7% ALTi > 25 U/L: 54.3%	ALTi ≤ 25 U/L: 25.2% ALTi > 25 U/L: 74.8%	ALTi ≤ 25 U/L: 61.6% ALTi > 25 U/L: 38.4%
Diabetes (%)	11% (n=70)	10.1% (n=28)	12.4% (n=45)
HTA (%)	16.5% (n=105)	19.4% (n=54)	15.9% (n=57)
Dislipidemia (%)	14.3% (n=91)	11.9% (n=33)	18.2% (n=64)
Consumo de álcool (%)	16.5% (n=105)	18.7% (n=28)	14.5% (n=52)
NASH (%)	4.9% (n=31)	9% (n=25)	6.4% (n=23)
Cirrose (%)	10.2% (n=65)	16% (n=12)	4.1% (n=15)
CHC (%)	1.9% (n=12)	4.3% (n=12)	0% (n=0)
Mortalidade relacionada	3.3% (n=21)	6.5% (n=28)	0.9% (n=3)

Abreviações: HTA: Hipertensão arterial; NASH: *Non-Alcoholic SteatoHepatitis*; CHC: Carcinoma hepatocelular

Tabela II - Modalidades de tratamento segundo a faixa etária (n = 633)

	23-39 anos (n=80)	40-69 anos (n=429)	70-88 anos (n=124)		23-39 anos (n=80)	40-69 Anos (n=429)	70-88 Anos (n=124)
Tratamento prévio (n/%)	n = 24 (30%)	n = 99 (23%)	n = 35 (28%)	Tratamento atual (n/%)	n = 29 (36.3%)	n = 116 (27%)	n = 37 (29.6%)
Lamivudina (n/%)	n = 15 (18.8%)	n = 106 (24.7%)	n = 35 (28%)	Lamivudina (n/%)	n = 5 (6.3%)	n = 51 (11.9%)	n = 16 (12.8%)
Adefovir (n/%)	n = 15 (18.8%)	n = 81 (18.8%)	n = 28 (22.4%)	Adefovir (n/%)	n = 0 (0%)	n = 6 (1.4%)	n = 2 (1.6%)
Entecavir (n/%)	n = 9 (11.3%)	n = 56 (13%)	n = 13 (10.4%)	Entecavir (n/%)	n = 11 (13.8%)	n = 48 (11.2%)	n = 16 (12.8%)
Tenofovir (n/%)	n = 14 (17.5%)	n = 39 (9.1%)	n = 11 (8.8%)	Tenofovir (n/%)	n = 17 (21.3%)	n = 59 (13.7%)	n = 22 (17.6%)
IFN (n/%)	n = 11 (13.8%)	n = 36 (8.4%)	n = 8 (6.4%)				

Bibliografia

1. Trépo C, Chan HLY, Lok A. Hepatitis B virus infection. *The Lancet*. 2014;384(9959):2053-2063. doi:10.1016/S0140-6736(14)60220-8
2. Pan CQ, Zhang JX. Natural history and clinical consequences of hepatitis B virus infection. *International Journal of Medical Sciences*. 2005;2(1):36-40. doi:10.7150/ijms.2.36
3. MacLachlan JH, Cowie BC. Hepatitis B virus epidemiology. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2015;5(5). doi:10.1101/cshperspect.a021410
4. Idilman R. Management of special patient groups with hepatitis B virus infection: The EASL 2017 clinical practice guidelines. *Turkish Journal of Gastroenterology*. 2017;28(6):518-521. doi:10.5152/tjg.2017.171017
5. Fiel MI. Pathology of Chronic Hepatitis B and Chronic Hepatitis C. *Clinics in Liver Disease*. 2010;14(4):555-575. doi:10.1016/j.cld.2010.07.001
6. McMahon BJ. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology*. 2009;49(SUPPL. 5):45-55. doi:10.1002/hep.22898
7. De Moura MC, Marinho R. Natural history and clinical manifestations of chronic hepatitis B virus. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2008;26(SUPPL. 7):11-18. doi:10.1016/S0213-005X(08)76515-7
8. Koc M, Verbeek J, Koek GH, et al. A long-term study of liver-related events in Caucasian hepatitis B patients with normal ALT values and high viremia. *Acta Gastro-Enterologica Belgica*. 2022;85(1):56-61. doi:10.51821/85.1.9160
9. Terrault NA, Lok ASF, McMahon BJ, et al. Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance. *Hepatology*. 2018;67(4):1560-1599. doi:10.1002/hep.29800
10. Song JE, Kim DY. Diagnosis of hepatitis B. *Annals of Translational Medicine*. 2016;4(18). doi:10.21037/atm.2016.09.11
11. Shi YH, Shi CH. Molecular characteristics and stages of chronic hepatitis B virus infection. *World Journal of Gastroenterology*. 2009;15(25):3099-3105. doi:10.3748/wjg.15.3099
12. Lin CL, Kao JH. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: Recent advances. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*. 2011;26(SUPPL. 1):123-130. doi:10.1111/j.1440-1746.2010.06541.x
13. *A Expressão Genotípica Do Vírus DA Hepatite B Em Portugal e No Mundo.*; 2011. www.actamedicaportuguesa.com
14. Areias JI, Fonseca Cardoso MI, Fonseca Cardoso M. *Ana Mota I,II Fátima Guedes III Epidemiological and Genotypic Profile of Hepatitis B Virus Infection in Northern Portugal*. Vol 44.; 2010. www.scielo.br/rsp
15. Verschuere V, Yap PSH, Fevery J. Is HBV genotyping of clinical relevance? *Acta Gastroenterol Belg*. 68(2):233-236.
16. Sumi H, Yokosuka O, Seki N, et al. Influence of hepatitis B virus genotypes on the progression of chronic type B liver disease. *Hepatology*. 2003;37(1):19-26. doi:10.1053/jhep.2003.50036

17. Ansari N, Makvandi M, Samarbaf-Zadeh AR. Hepatitis B virus genotyping among patients with cirrhosis. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2015;8(3). doi:10.5812/jjm.14571
18. Huang Y, Gan Q, Lai R, et al. Application of Fatty Liver Inhibition of Progression Algorithm and Steatosis, Activity, and Fibrosis Score to Assess the Impact of Non-Alcoholic Fatty Liver on Untreated Chronic Hepatitis B Patients. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2022;11. doi:10.3389/fcimb.2021.733348
19. Chu CJ, Lee SD. Hepatitis B virus/hepatitis C virus coinfection: Epidemiology, clinical features, viral interactions and treatment. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*. 2008;23(4):512-520. doi:10.1111/j.1440-1746.2008.05384.x
20. Squadrito G, Elena Orlando M, Pollicino T, et al. *Virological Profiles in Patients With Chronic Hepatitis C and Overt or Occult HBV Infection.*; 2002.
21. Rene I, Acciola C, Eresa T, et al. *OCCULT HEPATITIS B VIRUS INFECTION IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C LIVER DISEASE A BSTRACT Background Hepatitis B Virus (HBV) Infections In.*; 1999.
22. Zhang YY, Goran Hansson, Lin B, Kuo S, Widell' And A, Nordenfelt' E. *Hepatitis B Virus DNA in Serum and Liver Is Commonly Found in Chinese Patients with Chronic Liver Disease Despite the Presence of Antibodies to HBsAg.*; 1993.
23. Zarski JP, Bohn B, Bastie A, et al. Characteristics of patients with dual infection by hepatitis B and C viruses. *Journal of Hepatology*. 1998;28:27-33.
24. Kanwal F, Gralnek IM, Martin P, Dulai GS, Farid M, Spiegel BMR. *Treatment Alternatives for Chronic Hepatitis B Virus Infection: A Cost-Effectiveness Analysis Background: Treatment Options for Chronic Hepatitis B Virus.*; 2005. www.annals.org
25. Longo D, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Jameson J, Loscalzo J. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 19th Edition. McGraw-hill; 2016.
26. Ganem D, Prince AM. *Mechanisms of Disease Hepatitis B Virus Infection-Natural History and Clinical Consequences*. Vol 350.; 2004. www.nejm.org