

Ana Mota^{I,II}

Fátima Guedes^{III}

Jorge Areias^{IV,V}

Luciana Pinho^{II,IV}

Margarida Fonseca
Cardoso^{IV,VI,VII}

Perfil epidemiológico e genotípico da infecção pelo vírus da hepatite B no Norte de Portugal*

Epidemiological and genotypic profile of hepatitis B virus infection in Northern Portugal

RESUMO

OBJECTIVO: Descrever o perfil epidemiológico e genotípico da infecção crônica pelo vírus da hepatite B na Região Norte de Portugal.

MÉTODOS: Foram incluídos 358 indivíduos oriundos das consultas de especialidade que apresentavam resultados positivos para o antígeno da hepatite B durante pelo menos seis meses em dois hospitais do Norte de Portugal em 2008 e 2009. Os dados foram obtidos a partir dos processos clínicos, determinações laboratoriais feitas quando da genotipagem do vírus, ecografia e/ou ultra-sonografia e biópsia hepática. As características demográficas, marcadores víricos, carga viral e genótipos, e severidade da doença hepática foram avaliadas e comparadas entre sexos.

RESULTADOS: Os genótipos A e D predominaram. A transmissão intrafamiliar ocorreu predominantemente nas mulheres. Um terço das mulheres apresentava ingestão alcoólica superior a 20 g/dia, aumentando para 58,9% nos homens. A ausência do AgHBe foi semelhante nos dois sexos ($p = 0,662$). Os parâmetros bioquímicos em geral apresentaram-se com valores mais altos nos homens, assim como nos estágios necro-inflamatório e de esteatose hepática ($p = 0,003$).

CONCLUSÕES: As diferenças relativas às vias de transmissão da infecção pelo vírus da hepatite B entre homens e mulheres podem ser consequência de comportamentos de risco associadas ao género. A ingestão excessiva de álcool é predominante nos indivíduos do sexo masculino, assim como maior severidade da doença hepática em relação às mulheres.

DESCRITORES: Hepatite B, epidemiologia. Vírus da Hepatite B, isolamento & purificação. Fatores de Risco. Epidemiologia Descritiva.

^I Programa de Doutoramento em Ciências Biomédicas. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS). Universidade do Porto. Porto, Portugal

^{II} Serviço de Hematologia Clínica. Centro Hospitalar do Porto (CHP). Hospital de Santo António (HSA). Porto, Portugal

^{III} Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade Fernando Pessoa. Porto, Portugal.

^{IV} ICBAS. Universidade do Porto. Porto, Portugal

^V Serviço de Gastrenterologia. CHP-HSA. Porto, Portugal

^{VI} Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental. Porto, Portugal

^{VII} Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto. Porto, Portugal

* Artigo redigido no idioma português de Portugal

Correspondência | Correspondence:

Margarida Fonseca Cardoso
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar
Universidade do Porto
Largo Abel Salazar, 2
4099-003 Porto, Portugal
E-mail: mcard@icbas.up.pt

Recebido: 9/7/2009
Aprovado: 2/5/2010

Artigo disponível em português e inglês em:
www.scielo.br/rsp

ABSTRACT

OBJECTIVE: To describe the epidemiological and genotypic profile of chronic hepatitis B infection in Northern Portugal.

METHODS: This survey comprised 358 subjects with positive serology for hepatitis B antigen for at least six months, recruited from specialist appointments in two hospitals in Northern Portugal between 2008 and 2009. Data were obtained from patient files, laboratory tests performed at the time of viral genotyping, echograms and/or ultrasonogram results, and liver biopsies. Demographic characteristics, viral markers, viral load and genotype, and severity of liver disease were evaluated and compared between sexes.

RESULTS: Genotypes A and D were predominant in both sexes. Intrafamilial transmission occurred mostly among female patients. One-third of females and 58,9% of males showed alcohol intake above 20 g/day. Absence of AgHBe was similar in both sexes ($p = 0.662$). Elevated biochemical parameters and presence of necroinflammatory activity and steatosis in liver biopsies were more frequent among male patients ($p=0.003$).

CONCLUSIONS: Differences in terms of route of HBV infection between men and women may be a consequence of gender-associated risk behaviors. Excessive alcohol intake is more frequent among males than females, as is more severe liver disease.

DESCRIPTORS: Hepatitis B, epidemiology. Hepatitis B virus, isolation & purification. Risk Factors. Epidemiology, Descriptive.

INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus da hepatite B (VHB) é um problema de saúde pública em Portugal, apesar de sua prevalência de infecção ser relativamente baixa: aproximadamente de 1%.^{12,20} Por outro lado, um levantamento sorológico nacional em 2004 apontava 0,36% de indivíduos infectados cronicamente pelo VHB. Os estudos epidemiológicos sugerem a existência de cerca de 100 mil a 120 mil portadores crônicos do antígeno de superfície do vírus da hepatite B (AgHB).^{12,20}

Em Portugal, as hepatites víricas são a segunda maior causa de doença hepática.⁴ A mortalidade por cirrose hepática apresenta aproximadamente 2.500 casos por ano. Segundo estatísticas dos centros hospitalares, de 15% a 20% dos doentes com cirrose hepática estão infectados pelo VHB.⁶

O isolamento do VHB permitiu classificá-lo em nove subtipos de acordo com os determinantes antigénicos do AgHBs. Estudos recentes sugerem que os vários genótipos do VHB podem influir de forma diferenciada na gravidade de doenças hepáticas, como a cirrose, o carcinoma hepatocelular e na resposta ao tratamento.²¹ Não há, no entanto, conhecimento exacto de que determinado genótipo do VHB esteja associado ou não ao maior risco de desenvolvimento da doença hepática mais grave.

Estudos epidemiológicos sugerem que certos genótipos são predominantes em algumas partes do mundo.^{1,5} Verschuere et al²³ afirmam que, na Europa, os genótipos predominantes são do tipo A e D, assim como em Portugal, em particular no Norte do país.^{14,15} Nos países de baixa endemicidade e nas faixas etárias não abrangidas pelos programas de vacinação obrigatórios, a via de transmissão sexual é mais freqüente nos indivíduos do sexo masculino, enquanto no feminino, a transmissão intrafamiliar parece ser a predominante.^{14,22} A vacinação é obrigatória para todos os recém-nascidos em Portugal desde 2000.

O conhecimento das características dos indivíduos infectados poderá auxiliar na definição e na implementação de medidas relativas à redução do impacto negativo da infecção pelo VHB no doente e na redução do número de novos casos. O presente estudo teve por objetivo descrever o perfil epidemiológico e genotípico da infecção crônica pelo VHB.

MÉTODOS

Os indivíduos incluídos no estudo foram recrutados em consultas de gastroenterologia do Hospital Santo António e na consulta geral do Hospital Joaquim Urbano nos anos 2008 e 2009. O critério de inclusão foi a presença

do antigénio de superfície do VHB (AgHBs) durante pelo menos seis meses, num total de 358 indivíduos com infecção crónica pelo VHB.

A pesquisa do respectivo genótipo foi realizada por biologia molecular. A avaliação histológica, requerida pelos clínicos, foi efetuada em 292 indivíduos.

Dados relativos ao sexo, à idade, à forma de transmissão da infecção pelo VHB, aos estilos de vida e aos hábitos de ingestão alcoólica, foram colhidos pelos clínicos responsáveis, utilizando-se uma grelha previamente definida.

As formas de transmissão foram descritas como sexual, vertical e intrafamiliar. Esta é assim considerada quando a transmissão ocorre na família, não necessariamente por contacto sexual, e quando não há evidências de outras formas de transmissão.

Os hábitos de ingestão alcoólica foram categorizados em: menos do que 20 g/dia e mais do que 20 g/dia. A opção por esta classificação teve por base os dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) e de outros artigos relevantes nesta área do conhecimento.^{7,13}

Foi feita pesquisa de AgHBs e respectivo anticorpo, anti-HBs; do antígeno HBe negativo (AgHBe) e seu anticorpo, o anti-HBe; e do anti-HBc nas amostras. Foi utilizado o aparelho Vitros ECI, que usa técnicas de quimioluminescência (Ortho-Clinical Diagnostics, Amersham, Buckinghamshire, Reino Unido).

O teste VERSANT[®]HBV DNA 3.0 Assay (bDNA) (Bayer, Nova Iorque, EUA) é um procedimento para a quantificação directa do ADN do VHB por meio da amplificação do sinal emitido pelo ácido nucléico. Este ensaio está padronizado em cópias, que variam de 2 mil a 100 milhões de cópias/ml. Valores menores que 2 mil cópias/ml são considerados “não detecção do vírus”.

Os genótipos foram identificados pelo teste TRUGENE[®] HBV genotyping kit, em conjunto com o Open Gene[®] DNA Sequencing System (Bayer, Nova Iorque, EUA), que permitem obter o seqüenciamento bidireccional do antigénio de superfície e dos domínios B e E da transcriptase reversa do VHB. O seqüenciamento do ADN do VHB é comparado a uma “biblioteca” de genótipos e mutantes conhecidos, e um relatório final relativo ao genótipo que se pretende conhecer é elaborado.

Os vários testes laboratoriais que detectam as alterações da função hepática não são capazes de definir sua causa. Neste estudo, foram avaliados os seguintes parâmetros: alanina aminotransferase (ALT) (valores de referência: de 10 a 36 U/L a 37°C); aspartato aminotransferase (AST) (de 10 a 30 U/L a 37°C); gama glutamil transferase (γ -GT) (de 10 a 66 U/L a 37°C); fosfatase alcalina (FA) (de 45 a 122 U/L a 37°C); alfa-fetoproteína (AFP) (inferior a 10,9 ng/ml). Valores elevados em um ou mais parâmetros analíticos são sinónimos de inflamação ou

doença hepática. Os parâmetros foram avaliados utilizando método enzimático cinético em aparelho Cobas Integra 800 (Roche Mannheim, Alemanha).

O tempo de protrombina (TP) foi determinado no aparelho ACL TOP (Instrumentation Laboratory Company, Lexington, EUA).

Os indivíduos foram submetidos à ecografia e/ou ultrasonografia para avaliação da doença hepática.

No grupo de indivíduos em que a avaliação pela biópsia hepática foi aplicada, os resultados foram classificados como necro-inflamatório, fibrose e esteatose.

A severidade da doença hepática foi avaliada em conformidade com a classificação de Child modificada por Pugh et al.¹⁷ Esta classificação prevê a presença de três graus de severidade da doença hepática, de A a C, em que o grau C corresponde à mortalidade em cinco anos de 88%, o grau B, de 38% e o grau A, de 29%.

Foi realizada adaptação desta escala, para caracterizar de forma mais rigorosa os indivíduos em estudo: (1) grau C, (2) grau B, (3) “outros”, que incluem os indivíduos não só classificados como A, mas também outros sem doença hepática conhecida.

Os dados foram analisados pelo programa SPSS para Windows 16.0. Análise descritiva foi utilizada para a caracterização da amostra. As variáveis qualitativas foram descritas como percentagens e as quantitativas como médias ou médias geométricas, de acordo com a sua distribuição. O número total diferiu entre as variáveis analisadas, pois os processos que continham informação por preencher (*missings*) foram considerados. Todos os testes estatísticos foram bilaterais. O nível de significância adoptado foi de 0,05.

A comparação de proporções foi efetuada pelo teste de qui-quadrado de Pearson, com correcção para a continuidade sempre que os pressupostos eram verificados ou por meio do teste exacto de Fisher. A comparação das variáveis quantitativas foi feita pelo teste *t* para amostras independentes após a transformação da variável, se preciso, para verificarem-se os pressupostos necessários.

O estudo foi aprovado pelo Gabinete Coordenador de Investigação e pela Comissão de Ética da Saúde do Hospital de Santo António em julho de 2007. Foi obtido consentimento por escrito de todos os indivíduos.

RESULTADOS

Dos 358 indivíduos com infecção crónica pelo VHB, 43,3% (n = 155) eram do sexo feminino (Tabela 1). A quase totalidade (93,6%) era natural de Portugal, seguida dos indivíduos originários de África (Tabela 2). Em ambos os sexos, predominam os genótipos D (61,9% no sexo feminino; 58,6% no masculino) e A (26,5% no

Tabela 1. Características dos indivíduos estudados com infecção crónica pelo VHB por sexo. Portugal, 2008-2009.^a

Variável	Sexo feminino (n = 155)		Sexo masculino (n = 203)		Valor p
	n	%	n	%	
Genótipos					
A	41	26,5	70	34,5	0,173 ^b
C	1	0,6	1	0,5	
D	96	61,9	119	58,6	
E	7	4,5	7	3,4	
F	10	6,5	5	2,5	
D e F	0	0,0	1	0,5	
Média de idades (DP)	43,61	(14,3)	43,8	(15,0)	0,918
Local de nascimento					
Portugal	147	94,8	188	92,6	0,661
Estrangeiro	8	5,2	15	7,4	
Vias de transmissão da infecção					
Vertical	38	24,5	45	22,2	0,001
Sexual	24	15,5	32	15,8	
Intrafamiliar	56	36,1	42	20,7	
Outras ^c	37	23,9	84	41,4	
Ingestão alcoólica					
< 20 g/dia	86	66,7	72	41,1	<0,001
> 20 g/dia	43	33,3	103	58,9	
Marcadores víricos					
AgHBe negativo	110	71,0	153	75,4	0,662
Carga viral média geométrica (IC95%)	760.172,0	(403.325,8; 1.432.884,4)	590.072,1	(348.676,6; 998.690,3)	0,541
Parâmetros bioquímicos elevados					
Alanina amino transferase	48	41,7	121	59,6	<0,001
Aspartato amino transferase	48	41,7	100	49,2	<0,001
Fosfatase alcalina	7	4,5	22	10,8	0,038
Gama glutamil transferase	15	5,1	37	18,2	0,032
Alfa feto proteína	8	16,7	12	5,3	0,720
Biópsia hepática					
Necro-inflamatório	20	20,8	42	31,1	0,003
Fibrose	60	62,5	54	40,0	
Esteatose	16	16,7	39	28,9	
Classificação de Child-Pugh adaptada					
Nível 1 grau C	1	0,8	4	2,3	0,060
Nível 2 grau B	4	3,3	16	9,4	
Nível 3 (Outros) ^d	116	95,9	151	88,3	

^a Os somatórios podem não corresponder ao total de indivíduos devido a *missings*.

^b Só foram avaliados os genótipos mais importantes, A e D.

^c Outras formas de transmissão incluem, pelo menos um contacto com drogas intravenosas, transfusão, exposição ocupacional, exposição iatrogénica (por exemplo: endoscopia, colonoscopia, história de cirurgia, acupunctura ou hemodiálise ou desconhecido).

^d Inclui os indivíduos, não só classificados como grau A de Child-Pugh, mas também outros sem doença hepática conhecida.

sexo feminino; 34,5% no masculino). A presença dos genótipos C, E, F foi identificada em ambos os sexos, embora com pouca expressão e a dupla infecção pelos genótipos D e F foi observada apenas entre homens.

A média de idades entre homens e mulheres foi semelhante (média: 44; desvio-padrão – DP: 15 anos). Na avaliação das eventuais vias de transmissão, verificou-se que a transmissão sexual ocorreu em percentagens muito

Tabela 2: Genótipo e local de nascimento, para o sexo feminino (F) e masculino (M). Portugal, 2008-2009.

Genótipo	Português (N = 335)		Não Português (N = 23)		Origem
	n F / M	% F / M	n F / M	% F / M	
A	39 / 65	25,1 / 32,0	2 / 5	1,3 / 2,5	Europa e África
C	0 / 0	0,0 / 0,0	1 / 1	0,65 / 0,5	China
D	94 / 117	60,6 / 57,6	2 / 2	1,3 / 1,0	Angola, Moldávia, Ucrânia
E	4 / 0	2,6 / 0,0	3 / 7	1,9 / 3,4	África
F	10 / 5	6,5 / 2,5	0 / 0	0,0 / 0,0	
D e F	0 / 1	0,0 / 0,5	0 / 0	0,0 / 0,0	
Total	147 / 188	94,8 / 92,6	8 / 15	5,2 / 7,4	

próximas nos dois sexos (cerca de 16%). A transmissão intrafamiliar predominou no sexo feminino, com percentagem mais elevada, 36,1% (n = 56) face ao sexo masculino 20,7% (n = 42) (p < 0,001).

Homens e mulheres diferiram significativamente quanto aos hábitos de ingestão alcoólica (p < 0,001). Cerca de um terço das mulheres (33,3%) apresentou uma ingestão alcoólica superior a 20 g/dia e esta proporção aumentou nos homens (58,9%).

O AgHBe esteve ausente em 73,5% dos indivíduos.

A proporção de indivíduos com valores elevados dos parâmetros bioquímicos avaliados, apresentou-se significativamente mais alta nos doentes do sexo masculino relativamente aos do sexo feminino (p < 0,038) exceptuando-se a avaliação dos valores da alfa feto proteína.

Na avaliação dos resultados da biópsia hepática, prevaleceram os estágios “necro-inflamatório” e “esteatose” entre os homens. As mulheres apresentam proporção mais elevada de “fibrose” (p = 0,003).

Houve mais indivíduos do sexo masculino no grau C e B, segundo adaptação da classificação de Child-Pugh. Embora com significância marginal (p = 0,060), os indivíduos do sexo masculino apresentaram maior severidade da doença hepática.

DISCUSSÃO

Tal como noutros estudos Europeus,^{2,10} os genótipos A e D predominaram, em ambos os sexos. Esta distribuição genotípica não parece depender do sexo (p = 0,173) e corresponde ao chamado “padrão Mediterrâneo”.^{2,8,19}

A quase totalidade dos sujeitos é natural de Portugal (93,6%), seguida de indivíduos predominantemente do sexo masculino de países de expressão Portuguesa, como Angola, Moçambique, São Tomé e Príncipe e Guiné-Bissau, antigas colónias portuguesas na África. A imigração proveniente da Ásia parece introduzir na população portuguesa o genótipo C, sendo os únicos dois casos observados relativos a indivíduos oriundos da China.

Estudo Italiano avaliou o perfil da infecção pelo VHB numa população de imigrantes (< seis meses) e obteve resultados semelhantes: predominância de indivíduos do sexo masculino, oriundos majoritariamente da África, seguidos por indivíduos dos países do Leste Europeu e Asiáticos e com distribuição genotípica semelhante à encontrada na presente amostra. Os fluxos migratórios parecem introduzir novos perfis genotípicos, e eventualmente alteram a taxa de incidência na população autóctone.¹⁶ Face a estes resultados, como forma preventiva, sugere-se a triagem do AgHBs quando da entrada destes imigrantes em Portugal. Caso apresentem resultados negativos deverá ser realizada a respectiva vacinação e em caso de infecção pelo VHB estar já instalada, deve ser instituído o programa terapêutico adequado.¹⁸

A via de infecção parece diferir entre homens e mulheres estudados. A transmissão intrafamiliar foi a mais registada no sexo feminino (36,1%), enquanto a sexual apresentou valores semelhantes em ambos os sexos. Esta forma de transmissão é a mais frequente nos países com baixa endemicidade, como a maioria dos países Europeus, dados confirmados em estudo Holandês.²²

A ingestão excessiva de álcool é predominante nos indivíduos do sexo masculino: 58,9% (p < 0,001). Em outros trabalhos, principalmente na Holanda, constatou-se que o sexo masculino apresentava taxas de alcoolismo mais elevadas do que as do sexo feminino (9,5% e 3,6% respectivamente).³ Em estudo Australiano de base populacional, observaram-se taxas mais elevadas de ingestão de álcool no sexo masculino (3,2%) do que no feminino (1,3%).¹¹ A taxa de absorção em mulheres, em relação aos homens para a mesma quantidade de álcool ingerido é de 30% a 50%, o que resulta em alcoolemia mais elevada entre mulheres.

Neste estudo observou-se elevada prevalência de indivíduos com ausência de AgHBe, à semelhança de um trabalho desenvolvido na França.²⁴ Estes achados sustentam a provável ausência de antigénio e sugerem eventual mutação na zona do pré-core ou core promotor.

Os indivíduos do sexo masculino apresentam valores mais elevados nos estádios necro-inflamatório e de esteatose hepática na biópsia (p = 0,003). A esteatose

pode estar associada aos hábitos de ingestão alcoólica, igualmente mais elevados entre homens.

Uma das limitações do estudo resulta do procedimento utilizado para obter a amostra estudada. No entanto, esta amostra deve apresentar aproximação satisfatória da situação da infecção pelo VHB no Norte de Portugal. Os hospitais estudados correspondem a um hospital central e de referência na região norte na área da Gastreenterologia, e um hospital voltado para o tratamento das doenças infecciosas, portanto assistem a maior parte dos doentes com infecção pelo VHB do Norte de Portugal. A amostra desta investigação é relativa a todos os indivíduos que recorreram às consultas de especialidade destas instituições, nos anos 2008 e 2009. É possível a existência de um viés relativo à não inclusão dos indivíduos que não foram à consulta. Contudo, não existe qualquer indicação para os considerar diferentes quanto aos dados analisados. Além disso, o peso relativo desses indivíduos na amostra foi reduzido, pois, por norma, os doentes com infecção pelo VHB eram avaliados semestralmente, e seguidos por dois anos, mesmo na ausência a uma ou mais consultas.

Outro viés relaciona-se com a presença de imigrantes em Portugal, com eventual infecção pelo VHB e oriundos de zonas de endemicidade elevada, cuja não avaliação poderia ter alterado o perfil epidemiológico da infecção pelo VHB. Nestas circunstâncias, o estatuto serológico para a infecção pelo VHB não seria conhecido, resultando num fenómeno de subnotificação, outro viés a considerar no estudo. Entretanto, este fenómeno parece ter impacto diminuto, na medida em que o actual Sistema Nacional de Saúde Português proporciona a universalidade e quase gratuidade dos cuidados médicos, mesmo à população imigrante. Por outro lado, de acordo com o Ministério da Administração Interna, a imigração é reduzida na região analisada, inferior aos 4% registados para a população Portuguesa.

Não parece haver relação directa entre o regime alimentar e a doença hepática, contudo, o excesso de ingestão alcoólica é um factor de risco conhecido no

desenvolvimento da cirrose. Isto é particularmente importante nestes doentes, pois além de apresentarem infecção pelo VHB, mostram níveis elevados de consumo de álcool. Este é um hábito ainda muito comum em Portugal, com a existência de aproximadamente um milhão e 700 mil alcoólicos ou bebedores excessivos.^a

De acordo com o estudo publicado em 2009,⁹ a doença hepática ocupa em Portugal o quinto lugar no conjunto das dez principais patologias, de potenciais anos de vida perdidos aos 70 anos. Por todas estas razões, seria importante implementar em Portugal, um estudo nacional sobre a prevalência da infecção pelo VHB e sua caracterização detalhada, nomeadamente a determinação do genótipo do VHB. Com base nestes dados e no seguimento dos doentes infectados, seria possível desenvolver estudos de investigação que permitissem conhecimento mais aprofundado da patologia e da resposta do indivíduo ao tratamento. Seria possível, assim, investigar a associação entre os diferentes genótipos e a evolução mais severa da doença hepática e reduzir-se-ia consideravelmente o impacto negativo da infecção pelo VHB em Portugal.

Em termos de Saúde Pública, o acompanhamento clínico dos indivíduos com infecção crónica pelo VHB deve ser uma das preocupações máximas da tutela. Desde 2000, a vacinação para o VHB é obrigatória em todos os recém-nascidos. No entanto, é necessário implementar medidas continuadas de educação para a saúde, baseadas na prevenção, particularmente nas faixas etárias que não foram abrangidas pela vacinação, como os adultos sexualmente activos. Os indivíduos com infecção crónica pelo VHB devem receber informações pormenorizadas, que permitam a mudança de estilos de vida, sobretudo atitudes preventivas de transmissão da infecção pelo VHB, em nível intrafamiliar e nas práticas de sexo seguro. É também fundamental a triagem dos imigrantes, de modo a efetivar as sugestões acima referidas, evitando e prevenindo a propagação da infecção pelo VHB. Com estas medidas, espera-se uma baixa significativa da infecção pelo VHB nas gerações futuras.

^a World Health Organization. Global Status Report on Alcohol 2004. Geneva; 2004[cited 2010 Apr 1] Available from: www.who.int/entity/substance_abuse/publications/global_status_report_2004_overview.pdf

REFERÊNCIAS

- Bae SH, Yoon SK, Jang JW, Kim CW, Nam SW, Choi JY, et al. Hepatitis B virus genotype C prevails among chronic carriers of the virus in Korea. *J Korean Med Sci*. 2005;20(5):816-20. DOI:10.3346/jkms.2005.20.5.816
- Basaras M, Arrese E, Blanco S, Sota M, de las Heras B, Cisterna R. Characterization of hepatitis B virus genotypes in chronically infected patients. *Rev Esp Quimioter*. 2007;20(4):442-5.
- Bijl RV, Ravelli A, van Zessen G. Prevalence of psychiatric disorder in the general population: results of The Netherlands Mental Health Survey and Incidence Study (NEMESIS). *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*. 1998;33(12):587-95. DOI:10.1007/s001270050098
- Carvalho A. Hepatites virais: actualidades e perspectivas. *Coimbra Med*. 2005;1:45-60.
- Chu CJ, Lok AS. Clinical significance of hepatitis B virus genotypes. *Hepatology*. 2002;35(5):1274-6. DOI:10.1097/00042737-200409000-00010
- Cortez-Pinto H, Marques-Vidal P, Monteiro E. Liver disease-related admissions in Portugal: clinical and demographic pattern. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2004;16(9):873-7. DOI:10.1097/00042737-200409000-00010
- Dawson DA. Alcohol consumption, alcohol dependence, and all-cause mortality. *Alcohol Clin Exp Res*. 2000;24(1):72-81. DOI:10.1111/j.1530-0277.2000.tb04556.x
- Echevarría JM, León P. Hepatitis B virus genotypes identified by a Line Probe Assay (LiPA) among chronic carriers from Spain. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004;22(8):452-4. DOI:10.1157/13066851
- Giria J. O peso da doença hepática em Portugal. *Rev Gest Hosp*. 2009;42:30-2.
- Halfon P, Bourlière M, Pol S, Benhamou Y, Ouzan D, Rotily M, et al. Multicentre study of hepatitis B virus genotypes in France: correlation with liver fibrosis and hepatitis B e antigen status. *J Viral Hepat*. 2006;13(5):329-35. DOI:10.1111/j.1365-2893.2005.00692.x
- Hall W, Teesson M, Lynskey M, Degenhardt L. The 12-month prevalence of substance use and ICD-10 substance use disorders in Australian adults: findings from the National Survey of Mental Health and Well-Being. *Addiction*. 1999;94(10):1541-50. DOI:10.1046/j.1360-0443.1999.9410154110.x
- Lecour H, Ribeiro AT, Amaral I, Rodrigues MA. Prevalence of viral hepatitis markers in the population of Portugal. *Bull World Health Organ*. 1984;62(5):743-7.
- Morgan TR, Mandayam S, Jamal MM. Alcohol and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2004;127(5 Suppl 1):87-96. DOI:10.1053/j.gastro.2004.09.020
- Mota A, Guedes F, Areias J, Pinho L, Cardoso MF. Epidemiological study of genotypes of hepatitis B virus in northern Portugal. *J Med Virol*. 2009;81(7):1170-6. DOI:10.1002/jmv.21526
- Mota A, Guedes F, Areias J, Pinho L, Cardoso MF. Alcohol consumption among patients with hepatitis B infection in northern Portugal considering gender and hepatitis B virus genotype differences. *Alcohol*. 2010;44(2):149-56. DOI:10.1016/j.alcohol.2009.11.003
- Palumbo E, Scotto G, Faleo G, Cibelli DC, Angarano G. Prevalence of HBV genotypes in South American immigrants affected by HBV-related chronic active hepatitis. *Braz J Infect Dis*. 2007;11(3):311-3. DOI:10.1590/S1413-86702007000300002
- Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg*. 1973;60(8):646-9. DOI:10.1002/bjs.1800600817
- Romea Lecumberri S, Durán Pla E, Cabezas Otón J, Bada Ainsa JL. Situación inmunológica de la hepatitis B en inmigrantes. Estrategias de vacunación. *Med Clin (Barc)*. 1997;109(17):656-60.
- Sánchez-Tapias JM, Costa J, Mas A, Bruguera M, Rodés J. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology*. 2002;123(6):1848-56. DOI:10.1053/gast.2002.37041
- Santos A, Carvalho A, Tomaz J, Rodrigues V, Coxinho L, Bento D, et al. Prevalência dos marcadores de infecção pelo vírus da hepatite B na população adulta do distrito de Coimbra. *Acta Med Port*. 2000;13(4):167-71.
- Sunbul M, Leblebicioglu H. Distribution of hepatitis B virus genotypes in patients with chronic hepatitis B in Turkey. *World J Gastroenterol*. 2005;11(13):1976-80.
- Toy M, Veldhuijzen IK, Mostert MC, de Man RA, Richardus JH. Transmission routes of hepatitis B virus infection in chronic hepatitis B patients in The Netherlands. *J Med Virol*. 2008;80(3):399-404. DOI:10.1002/jmv.21098
- Verschuere V, Yap PS, Fevery J. Is HBV genotyping of clinical relevance? *Acta Gastroenterol Belg*. 2005;68(2):233-6.
- Zarski JP, Marcellin P, Leroy V, Trepo C, Samuel D, Ganne-Carrie N, et al. Characteristics of patients with chronic hepatitis B in France: predominant frequency of HBe antigen negative cases. *J Hepatol*. 2006;45(3):355-60. DOI:10.1016/j.jhep.2006.03.007