

SUBGENÓTIPO D3 DO VÍRUS DA HEPATITE B É FREQUENTE EM UMA AMOSTRAGEM ORIUNDA DO SUL DO BRASIL

SUBGENOTYPE D3 OF THE HEPATITIS B VIRUS IS COMMON IN A SAMPLE FROM SOUTHERN BRAZIL

Jonas Wolf^{1*} , Lucas Wolf² 

RESUMO

Introdução: A infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) é amplamente disseminada e é considerada um importante problema de saúde no mundo. O HBV é classificado em genótipos e subgenótipos. HBV genótipo D (HBV-D) foi detectado em todo o mundo com alta prevalência em algumas regiões específicas da Europa e América do Sul. No Brasil, esse genótipo é muito frequente na região Sul e sua introdução e disseminação têm sido associadas à imigração europeia. **Objetivo:** Determinar as frequências dos genótipos/subgenótipos do vírus da hepatite B (HBV) em uma amostragem de pacientes diagnosticados com hepatite B no Sul do Brasil. **Método:** Foram avaliados pacientes HBV positivos, de quatro cidades do Rio Grande do Sul. A detecção dos genótipos e subgenótipos do HBV foram realizadas pela amplificação do fragmento de 590 pb da região da transcriptase reversa e do HBsAg pela técnica de *nested* PCR. Após isso, os fragmentos foram sequenciados pelo método de Sanger e as sequências foram alinhadas com sequências de referências pelo método MAFFT e classificadas pelo método de Neighbor-Joining. **Resultados:** O genótipo D foi predominante (n = 44; 91,7%). O genótipo A foi detectado em quatro amostras (8,3%). Com relação aos subgenótipos foram observadas as seguintes frequências: D2 (n = 7; 14,6%), D3 (n = 37; 77,1%), A1 (n = 3; 6,2%) e A2 (n = 1; 2,1%). **Conclusão:** Os resultados encontrados podem ser explicados pela colonização europeia no Sul do Brasil, já que o genótipo D (principalmente o subgenótipo D3) é frequentemente detectado no Sul da Europa.

Palavras-chave: *Genótipo; Vírus da Hepatite B; PCR.*

ABSTRACT

Introduction: Hepatitis B virus (HBV) infection is widespread and is considered a major health problem worldwide. HBV is classified into genotypes and subgenotypes. HBV genotype D (HBV-D) has been detected all over the world with high prevalence in some specific regions of Europe and South America. In Brazil, this genotype is very common in the South region and its introduction and dissemination have been associated with European immigration. **Objective:** To determine the frequencies of hepatitis B virus (HBV) genotypes/subgenotypes in a sample of patients diagnosed with hepatitis B in southern Brazil. **Method:** HBV-positive patients from four cities in Rio Grande do Sul were evaluated. The detection of HBV genotypes and subgenotypes was performed by amplification of the 590 bp fragment of the reverse transcriptase region and HBsAg using the nested PCR technique. After that, the fragments were sequenced by the Sanger method and the sequences were aligned with reference sequences by the MAFFT method and classified by the Neighbor-Joining method. **Results:** Genotype D was predominant (n = 44; 91.7%). Genotype A was detected in four samples (8.3%). With regard to the subgenotypes, the following frequencies were observed: D2 (n = 7; 14.6%), D3 (n = 37; 77.1%), A1 (n = 3; 6.2%) and A2 (n = 1; 2.1%). **Conclusion:** The results found can be explained by the European colonization in Southern Brazil, since the D genotype (mainly the D3 subgenotype) is frequently detected in Southern Europe.

Keywords: *Genotype; Hepatitis B virus; PCR.*

Clin Biomed Res. 2025;45:1-6

1 Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

2 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

Autor correspondente:

Jonas Wolf, Hospital Moinhos de Vento, Gerência Médica, Rua Tiradentes, número 333, CEP: 90560-030, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Contato: jonas.wolf@hmv.org.br, telefone: +55 51 991433510.

INTRODUÇÃO

O vírus da hepatite B (HBV, do inglês *hepatitis B virus*), é o agente etiológico de uma doença infecciosa que constitui um grave problema de saúde pública mundial. Estima-se que 3,1% da população esteja cronicamente infectada e que ocorram mais de 600 mil óbitos anuais devido a complicações da hepatite B como cirrose/hepatocarcinoma. Os óbitos decorrentes de carcinoma hepatocelular e cirrose aumentaram em 33% entre 1990 e 2013 e houveram mais de 686.000 novos casos com estes desfechos apenas no ano de 2013¹.

A imunização contra o HBV tem sido empregada a mais de 20 anos no mundo todo^{2,3}. No Brasil, programas de vacinação foram iniciados na década de 1990, visando primeiramente a imunização de crianças com progressão gradual para o restante da população. Atualmente, a cobertura vacinal alcança em torno de 50% da população e sua efetividade é reportada em 60% dos vacinados^{4,5}.

Apesar destes programas, novas infecções continuam a ocorrer, sobretudo em populações de alto risco^{6,7}. Também é importante destacar que populações idosas apresentam maiores prevalências de hepatite crônica, pois pessoas dessa faixa etária foram infectadas anteriormente a disponibilização da vacina⁵.

O HBV pertence à família *Hepadnaviridae* e possui sua informação genômica composta por uma fita de DNA circular parcialmente duplicado⁸⁻¹⁰. Esse vírus é classificado em dez genótipos (A-J) e em subgenótipos, de acordo com a divergência genética completa do genoma de 8% e 4% - 7,5%, respectivamente. No Brasil os genótipos A, D e F são os mais frequentes, no entanto, diferentes perfis são identificados dependendo da região avaliada. O genótipo A é mais prevalente nas regiões Norte (71,6%), Nordeste (65,0%) e Sudoeste (66,7%), enquanto o genótipo D é mais prevalente no Sul (78,9%)^{11,12}. Com relação aos subgenótipos, são encontrados basicamente A1, A2, D1, D2, D3 e F1^{12,13}.

É importante a compreensão da epidemiologia molecular do HBV, determinando os genótipos e subgenótipos infectantes, visto que estes podem

interferir na eficácia do tratamento e na evolução clínica da hepatite B. Portanto, o objetivo deste estudo foi determinar as frequências dos genótipos/subgenótipos do HBV em uma amostragem de pacientes diagnosticados com hepatite B no Sul do Brasil.

MÉTODO

Foram avaliados pacientes HBV positivos, de quatro cidades do Rio Grande do Sul, sendo elas Canoas (n = 8; 17,0%), Bento Gonçalves (n = 21; 44,7%), Passo Fundo (n = 6, 12,8%) e Porto Alegre (n = 13; 27,6%). Sangue total foi colhido em tubos de coleta vacuettes e armazenado em caixas térmicas, com sua devida identificação. Todas as amostras foram submetidas à detecção de marcadores sorológicos do vírus da hepatite B (HBsAg, anti-HBc IgG e IgM) por imunocromatografia de fluxo lateral (Architect®, Abbott Diagnostics, Sligo, Ireland) seguindo as instruções do fabricante, e após foram armazenadas a -20°C.

A extração do DNA genômico das amostras foi realizada pelo método de adsorção em sílica, descrito por Boom et al. (1990)¹⁴. A detecção e quantificação do HBV foi realizada de acordo com Welzel et al. (2006)¹⁵. O fragmento gênico (590 pb) da região da transcriptase reversa (gene P) e do HBsAg (gene S) foi amplificado pela técnica de *nested* PCR. As reações foram realizadas na plataforma StepOne Plus™ (Applied Biosystems).

A primeira amplificação (1.225 pb) consistiu de 25 ciclos de 94°C por 15 segundos, 55°C por 30 segundos, 72°C por 120 segundos. O *nested* PCR (590 pb) consistiu de 35 ciclos de 94°C por 15 segundos, 60°C por 30 segundos, 72°C por 120 segundos. Os pares de *primers* que foram utilizados na primeira amplificação e na etapa de *nested* PCR estão apresentados na **tabela 1**. Os produtos dos ensaios de PCR das amostras positivas para o HBV foram purificados, quantificados por eletroforese em gel de agarose 2% e posteriormente sequenciados com o equipamento ABI 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Tabela 1: Sequências de *primers* que foram utilizados na detecção do HBV

<i>Primers</i>	Etapas	Sequências
GHBV-1F	1ª Amplificação	5' - CASTCATCCWCAGGCMATGCAGTGGGA - 3'
GHBV-2R	1ª Amplificação	5' - GGGTTGCGTCAGCAAACACTTGGC - 3'
GHBV-10F	<i>Nested</i>	5' - CATCCTGCTGCTATGCCTCATCTTC - 3'
GHBV-11R	<i>Nested</i>	5' - ATDCKTTGACADACTTTCCARTCAAT - 3'

Os dados dos sequenciamentos foram obtidos pelo *software* Data Collection v1.0.1 (Applied Biosystems) e as análises dos eletroferogramas foram realizadas

pelo *software* Sequencing Analysis v.5.3.1. (Applied Biosystems). Foi utilizado o *software* SeqMan (DNASTar, Madison, WI, USA) e BioEdit Sequence

Alignment Editor, versão 7.0.9.0 para as análises e edições das sequências obtidas. Os genótipos dos isolados de HBV foram primeiramente determinados pelo emprego do algoritmo BLAST comparando as sequências de nucleotídeos obtidas no presente estudo com sequências de referências do HBV, através dos parâmetros de similaridade, *query* e *E-value* (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Após, as análises filogenéticas foram realizadas pelas comparações entre as sequências de nucleotídeos obtidas neste estudo com sequências de genomas completos do HBV obtidas no NCBI GenBank, com o objetivo de representar outras regiões do Brasil e do mundo com relação a diversidade genotípica e subgenotípica do HBV. As sequências de nucleotídeos (genes *S* e *P*) e aminoácidos (HBsAg e transcriptase reversa) foram alinhadas pelo método MAFFT¹⁶ e foram montadas filogenias pelo *software* Geneious 9.1.2 (Geneious, Inc). O *dataset* desses alinhamentos foram analisados pelo método de Neighbor-Joining com 1000 *bootstraps* no *software*

Geneious 9.1.2 (Geneious, Inc). O presente estudo foi submetido e aprovado pelo comitê de ética da Universidade Luterana do Brasil (nº de protocolo 32075314.3.0000.5349).

RESULTADOS

Os resultados indicaram uma predominância do genótipo D (n = 44; 91,7%). O genótipo A foi detectado em quatro amostras (8,3%). Com relação aos subgenótipos foram observadas as seguintes frequências: D2 (n = 7; 14,6%), D3 (n = 37; 77,1%), A1 (n = 3; 6,2%) e A2 (n = 1; 2,1%). Os resultados foram confirmados pelo BLAST, demonstrando identidades que variaram de 97% a 100% das sequências das amostras com seus respectivos subgenótipos. Os genótipos A e D foram identificados. Os subgenótipos A1, A2, D2 e D3, estão representados respectivamente nas cores: azul, verde, vermelho e rosa (Figura 1).

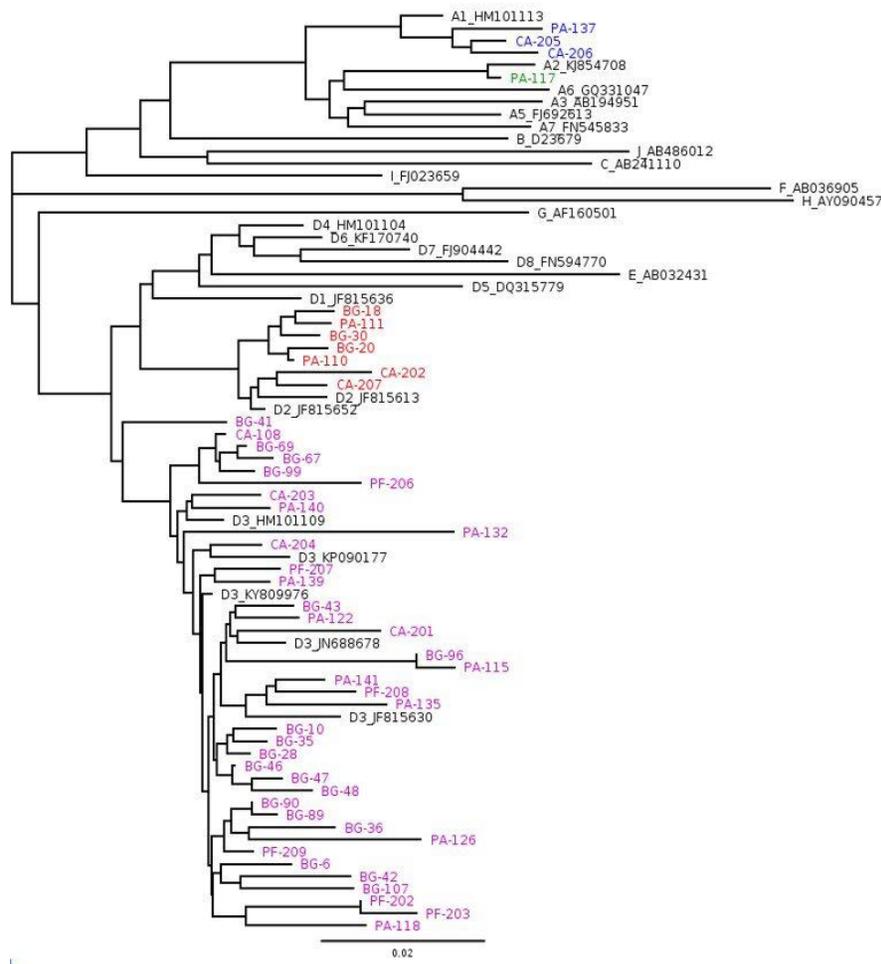


Figura 1: Filogenia gerada para avaliação de genótipos e subgenótipos.

Os genótipos A e D foram identificados. Os subgenótipos A1, A2, D2 e D3, estão representados respectivamente nas cores: azul, verde, vermelho e rosa.

DISCUSSÃO

Dados de estudo com base populacional no Brasil informam que o genótipo A predominou nas regiões Norte (71,6%) e Nordeste (65,0%), enquanto que o D apresentou maior frequência na região Sul com 78,6%¹¹. Ademais, Gusatti et al. (2015)¹⁷, em pesquisa conduzida na cidade de Chapecó, detectou que 97,0% das amostras foram classificadas como genótipo D. Nossos achados estão de acordo com essas informações, visto que observamos uma frequência de 91,5% do genótipo D. A predominância deste genótipo no Sul do Brasil presumivelmente está associada com o processo histórico de imigração italiana que ocorreu nos séculos XIX e XX, visto que o genótipo D predomina na Europa central, sobretudo na Itália¹⁸.

Nesse sentido, evidências sugerem que segmentos específicos de populações descendentes do Sul da Europa (principalmente italianos) contribuem para altas taxas de hepatite B em determinadas cidades e regiões do interior do Sul do Brasil¹⁷⁻¹⁹.

A introdução do genótipo D nas Américas está associada às migrações¹⁹⁻²³. Atualmente, este genótipo é o segundo genótipo mais frequente detectado em toda a América. É observada em 16,1% dos casos na América do Norte, 16,4% na América Central e 29,9% na América do Sul. O genótipo D também foi detectado em quase todos os países da América do Sul^{11,13,24}. Vale ressaltar que é mais frequente na Argentina (17,4%) e no Brasil (36,8%), mas também já foi relatado na Colômbia (1,3%), Chile (8,2%), Paraguai (7,7%) e Venezuela (2,3%). No Brasil, o genótipo D é mais prevalente no Sul do Brasil, com algumas cidades apresentando uma frequência muito alta (>85%)^{17,19,25}. Além disso, esse genótipo também é muito frequente em algumas regiões da Argentina que fazem fronteira com o sul do Brasil²⁶.

Os subgenótipos predominantes do genótipo D são D1 D2 e D3 nas Américas. O primeiro a ser introduzido foi o D3, aproximadamente em meados do século XIX no sul da Europa. O D2 foi introduzido posteriormente, no início do século 20, também originário da Europa. É importante ressaltar que o D foi o genótipo predominante na Itália, provavelmente desde o século XVIII^{27,28}. No final do século XIX e início do século XX, período histórico próximo à Primeira Guerra Mundial, houve um grande fluxo migratório de pessoas do sul da Europa para o Brasil²⁹. Portanto, este genótipo foi introduzido nas Américas possivelmente nos séculos 19 e 20 devido às ondas de migrações europeias (principalmente italianas) para colonizar o sul do Brasil²⁵. Finalmente, o D1 teve origem no final do século XIX no Oriente Médio e foi introduzido na América Latina em meados do século XX. Outros estudos também demonstraram as mesmas origens étnicas para a introdução do genótipo D na América do Sul^{26,30,31}.

Os genótipos da hepatite B não costumam interferir significativamente na eficácia da vacinação contra o vírus. As vacinas contra a hepatite B foram desenvolvidas para fornecer proteção contra múltiplos genótipos do vírus, e, em geral, são eficazes independentemente do genótipo do HBV². A maioria das vacinas contra a hepatite B é baseada na proteína de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg), que é uma proteína comum a todos os genótipos do vírus. Como resultado, a resposta imunológica desencadeada pela vacina é geralmente capaz de proteger contra diferentes genótipos^{2,9}. No entanto, existem algumas situações em que a resposta à vacina pode ser menos eficaz. Isso inclui: i) Resposta imunológica comprometida: Pessoas com sistemas imunológicos enfraquecidos devido a doenças, tratamentos médicos ou medicações podem ter uma resposta imunológica reduzida à vacina; ii) Idade avançada: A resposta imunológica à vacina pode ser menos robusta em pessoas mais velhas; iii) Dose inadequada ou falta de doses de reforço: A administração inadequada das doses da vacina pode reduzir a eficácia da proteção².

Os genótipos do HBV podem influenciar a evolução clínica da doença. Cada genótipo tem algumas características distintas em relação à replicação viral, resposta ao tratamento e gravidade da doença. Os genótipos apresentam influências nos seguintes aspectos: i) Gravidade da doença: Alguns estudos sugerem que certos genótipos do HBV estão associados a um maior risco de desenvolver doença hepática crônica, cirrose e câncer hepático. Por exemplo, os genótipos C e D são frequentemente associados a formas mais graves de hepatite B crônica do que os genótipos A e B; ii) Resposta ao tratamento: A escolha e eficácia dos tratamentos antivirais para a hepatite B podem variar com base no genótipo do vírus. Alguns genótipos podem ser mais resistentes a certos medicamentos antivirais, o que pode influenciar as opções de tratamento disponíveis para pacientes; iii) Resposta imunológica: A resposta imunológica do hospedeiro também pode variar de acordo com o genótipo do vírus. Isso pode influenciar a capacidade do sistema imunológico de controlar a replicação viral e a progressão da doença; iv) Transmissibilidade: Alguns genótipos do HBV podem ter uma maior capacidade de transmissão, o que pode afetar a propagação da infecção em uma comunidade^{1,3-7}.

Estudos sugerem que, em comparação com alguns outros subgenótipos do HBV, o subgenótipo D3 pode estar associado a certas características clínicas e epidemiológicas específicas em algumas populações. No entanto, é importante destacar que as diferenças clínicas não são absolutas e podem variar de acordo com a região geográfica e as características da população estudada. Algumas das características clínicas que têm sido associadas ao

subgenótipo D3 do HBV em alguns estudos: i) Maior risco de transmissão: Em algumas áreas geográficas, o subgenótipo D3 tem sido associado a um maior risco de transmissão do HBV em comparação com outros subgenótipos, o que pode resultar em taxas mais elevadas de infecção; ii) Progressão para doença hepática crônica: Em algumas populações, o subgenótipo D3 foi associado a uma maior probabilidade de progressão para doença hepática crônica em comparação com outros subgenótipos, o que pode incluir cirrose e câncer hepático; iii) Resposta ao tratamento: Em alguns estudos, o subgenótipo D3 do HBV tem mostrado ser menos responsivo a certos medicamentos antivirais em comparação com outros subgenótipos. Isso pode influenciar as opções de tratamento disponíveis para pacientes com infecção por HBV do subgenótipo D3^{1,3-7,9,10}.

O presente estudo possui algumas limitações, como o fato de não apresentar a análise filogeográfica do subgenótipo D3 e caracterizar suas rotas de

transmissão, utilizando o método Bayesiano, por exemplo. Todavia, os resultados apresentados são importantes, visto que foi possível identificar que o subgenótipo D3 é amplamente frequente no Sul do Brasil, sendo provavelmente fixado nesta região devido ao período de imigração europeia nos séculos 19 e 20. Isso possibilita perspectivas de novos estudos, que objetivem a realização de uma caracterização molecular mais aprofundada deste processo.

CONCLUSÃO

O genótipo D, subgenótipo D3 foi amplamente o mais frequente detectado no presente estudo. Os resultados encontrados podem ser explicados pela colonização europeia no Sul do Brasil, já que o genótipo D (principalmente o subgenótipo D3) é frequentemente detectado no Sul da Europa.

REFERÊNCIAS

- Stanaway JD, Flaxman AD, Naghavi M, et al. The global burden of viral hepatitis from 1990 to 2013: findings from the global burden disease study 2013. *Lancet*. 2016; 388:1081–88.
- Zanetti AR, Van Damme P, Shouval D. The global impact of vaccination against hepatitis B: a historical overview. *Vaccine*. 2008; 26(49):6266-73.
- Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, et al. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: New estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine*. 2012; 30:2212–9.
- Ximenes RA, Figueiredo GM, Cardoso MR, et al. Hepatitis Study Group. Population-Based Multicentric Survey of Hepatitis B Infection and Risk Factors in the North, South, and Southeast Regions of Brazil, 10-20 Years After the Beginning of Vaccination. *Am J Trop Med Hyg*. 2015; 93(6):1341-8.
- Souto FJ. Distribution of hepatitis B infection in Brazil: the epidemiological situation at the beginning of the 21 st century. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2016; 49(1):11-23.
- Iqbal K, Kleven RM, Kainer MA, et al. Epidemiology of acute hepatitis B in the united states from population based surveillance, 2006–2011. *Clin Infect Dis*. 2015; 61:584–92
- Ott JJ, Horn J, Krause G, et al. Time trends of chronic HBV infection over prior decades – A global analysis. *J Hepatol*. 2017; 66:48–54.
- Thompson A, Bell S, Locarnini S. Hepatitis B Virus. In: Richman D, Whitley R, Hayden F. *Clinical Virology*. Third edition. ASM Press: Washington DC; 2009.
- Tong S, Li J, Wands JR, et al. Hepatitis B virus genetic variants: biological properties and clinical implications. *Emerg Microbes Infect*. 2013; 2(3):e10.
- Tong S, Reville P. Overview of hepatitis B viral replication and genetic variability. *J Hepatol*. 2016; 64(1 Suppl):S4-16.
- Lampe E, Mello FCA, Espírito-Santo MP, et al. Nationwide overview of the distribution of hepatitis B virus genotypes in Brazil: a 1000-sample multicenter study. *J Gen Virol*. 2017; 98(6):1389-1398
- Santana LC, Mantovani NP, Ferreira MC, et al. Identification of a new hepatitis B virus recombinant D2/D3 in the city of São Paulo, Brazil. *Arch Virol*. 2017; 162(2):457-67.
- Mello FC, Souto FJ, Nabuco LC, et al. Hepatitis B virus genotypes circulating in Brazil: molecular characterization of genotype F isolates. *BMC Microbiol*. 2007; 7(103):1-9.
- Boom R, Sol CJ, Salimans MM, et al. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J Clin Microbiol*. 1990; 28(3):495-503.
- Weizel TM, Miley WJ, Parks TL, et al. Real-time PCR assay for detection and quantification of hepatitis B virus genotypes A to G. *J Clin Microbiol*. 2006; 44(9):3325-33.
- Katoh, K, Standley, DM. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol Biol Evol*. 2013; 30(4):772-80.
- Gusatti CS, Costi C, Halon ML, et al. Hepatitis B Virus Genotype D Isolates Circulating in Chapecó, Southern Brazil, Originate from Italy. *PLoS One*. 2015; 10(8):1-14.
- Pourkarim MR, Amini-Bavil-Olyaei S, Kurbanov F, et al. Molecular identification of hepatitis B virus genotypes/ subgenotypes: revised classification hurdles and updated resolutions. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(23):7152-68.
- Bertolini DA, Gomes-Gouvêa MS, Guedes de Carvalho-Mello IM, et al. Hepatitis B virus genotypes from European origin explains the high endemicity found in some areas from southern Brazil. *Infect Genet Evol*. 2012; 12(6):1295-304.

20. Pereira VRZB, Wolf JM, Luz C, et al. Risk factors for hepatitis B transmission in South Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2017; 112(8):544-550.
21. Alvarado-Mora MV, Botelho L, Gomes-Gouvêa MS. Detection of hepatitis B virus subgenotype A1 in a Quilombo community from Maranhão, Brazil. *Virology.* 2011; 8(415).
22. Paoli J, Wortmann AC, Klein MG, et al. HBV epidemiology and genetic diversity in an area of high prevalence of hepatitis B in southern Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2018; 22(4):294–304.
23. Lago BV, do Espírito-Santo MP, Costa VD, et al. Genetic diversity of the hepatitis B virus subgenotypes in Brazil. *Viruses.* 2019; 11(9):860.
24. Matos MA, Ferreira RC, Rodrigues FP, et al. Occult hepatitis B virus infection among injecting drug users in the Central-West Region of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2013; 108(3):386–9.
25. Wolf JM, Pereira VRZB, De Carli S, et al. Tracing back hepatitis B virus genotype D introduction and dissemination in South Brazil. *Infect Genet Evol.* 2020; 82:104294.
26. Mojsiejczuk LN, Torres C, Sevic I, et al. Molecular epidemiology of hepatitis B virus in Misiones, Argentina. *Infect Genet Evol.* 2016; 44:34-42.
27. Sagnelli C, Ciccozzi M, Pisaturo M, et al. Molecular epidemiology of hepatitis B virus genotypes circulating in acute hepatitis B patients in the Campania region. *J Med Virol.* 2014; 86(10):1683-93.
28. Villano U, Lo Presti A, Equestre M, et al. Molecular epidemiology and phylogenetic analysis of Hepatitis B virus in a group of migrants in Italy. *BMC Infect Dis.* 2015; 25:15:287.
29. Salzano FM, Sans M. Interethnic admixture and the evolution of Latin American populations. *Genet Mol Biol.* 2014; 37(1 Suppl):151-70.
30. Barbini L, Elizalde M, Torres C, Campos R. Molecular epidemiology and genetic diversity of hepatitis B virus in Mar del Plata city, Argentina. *Infect Genet Evol.* 2013; 19:152-63.
31. Rodrigo MB, Mojsiejczuk LN, Torres C, et al. Analysis of the Molecular Evolution of Hepatitis B Virus Genotypes in Symptomatic Acute Infections in Argentina. *PLoS One.* 2016; 11(7):e0159509.

Recebido: 14 ago 2023

Aceito: 24 out 2023