

Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

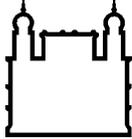
**Fundação Oswaldo Cruz**

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Mestrado em Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical**

**Estudo da coinfeção HIV e Hepatite B em pacientes atendidos num  
serviço de referência em doenças infecciosas no Piauí**

**Norma Cely Salmito Cavalcanti**

**Teresina-PI**  
**Outubro/2015**



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Pós-Graduação em Medicina Tropical**

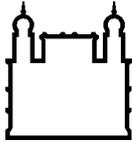
**Norma Cely Salmito Cavalcanti**

**Estudo da coinfeção HIV e Hepatite B em pacientes atendidos num  
serviço de referência em doenças infecciosas no Piauí**

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical.

**Orientador (a):** Prof. Dra. Vanessa Salete de Paula

Teresina-PI  
Outubro/2015



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical**

**AUTOR (A): Norma Cely Salmito Cavalcanti**

**Estudo da coinfeção HIV e Hepatite B em pacientes atendidos num  
serviço de referência em doenças infecciosas no Piauí**

**Orientador (a): Prof. Dra. Vanessa Salete de Paula**

**EXAMINADORES (AS):**

**Prof. Dr. Filipe Anibal Carvalho-Costa – FIOCRUZ - Presidente**

**Prof<sup>a</sup>. Dra. Dorcas Lamounier Costa – UFPI/IDTNP/PI**

**Prof Dr. Kelsen Dantas Eulálio – IDTNP/PI**

**SUPLENTE:**

**Prof. Dr. Regis Bernardo Brandim Gomes – FIOCRUZ/PI**

**Prof. Dr. Fabrício Pires de Moura do Amaral – UESPI/PI**

Teresina-PI  
Outubro/2015

Ficha catalográfica elaborada pela  
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

C376 Cavalcanti, Norma Cely Salmito

Estudo da coinfeção HIV e Hepatite B em pacientes atendidos num serviço de referência em doenças infecciosas no Piauí / Norma Cely Salmito Cavalcanti. – Teresina, 2015.  
xix, 88 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2015.  
Bibliografia: f. 52-65

1. HIV. 2. Hepatite B. 3. Coinfeção. 4. Prevalência. I. Título.

CDD 616.9792

PROJETO FINANCIADO PELA SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE DO ESTADO DO PIAUÍ (SESAPI) E FIOCRUZ.

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais Clênio (*in memoriam*) e Amparo pelo amor e incentivo.

Ao meu esposo Claudio pelo amor verdadeiro.

À minha filha Rebeca, luz das nossas vidas.

Aos meus irmãos Walfrido e Alice pelo amor e apoio que eu sempre pude  
contar.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu pai Clênio Guilherme pelo amor e pelo cuidado eterno, pela amizade e pelo companheirismo. Sinto muito sua falta.

À minha mãe Maria do Amparo pelo amor, pela bondade, pela compreensão, pelo incentivo e pelo exemplo de profissional que eu sempre quis ser.

Ao meu esposo Cláudio pelo amor e apoio incondicionais mesmo nas horas mais difíceis.

À minha filha Rebeca, razão da minha vida, por me transformar em uma pessoa melhor.

Aos meus irmãos Walfrido, Wanessa, Alice e Bruno pelo amor e pela família que me deram.

À minha segunda filha Luísa e ao Fábio pelo carinho e pela grande ajuda com a parte de informática.

Aos meus tios e primos que sempre me incentivaram.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dra. Vanessa Salete de Paula que, à distância, sempre me orientou, mas parecia perto, mesmo com todas as dificuldades no decorrer deste estudo.

Ao Prof. Dr. Filipe Anibal Carvalho-Costa pelas orientações nos momentos de dificuldade.

À equipe do LACEN-PI que realizou os exames de biologia molecular, Symonara Karina Medeiros Faustino, Antônio Carlos de Carvalho, Magda da Silva Lopes, Chystianny Bringel que tanto ajudaram na interpretação dos ensaios.

Aos funcionários do ambulatório Domingas Quaresma Lima, Maria do Nascimento Alcântara, Maria do Rosário da Silva Santos, Alice Sártiro Bento, Jaqueline Lúcia, Maria Oneide, Jean, Enfermeira Geisa pela solicitude e paciência.

Aos funcionários da farmácia de antirretrovirais, principalmente o sr. Francisco Fernandes que me ajudou a pesquisar no SISCLOM as medicações dos pacientes.

Aos médicos do IDTNP por contribuírem com minha formação.

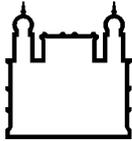
Aos pacientes, pois sem eles este trabalho seria impossível.

Ao curso de pós-graduação em Medicina Tropical e aos professores da FIOCRUZ que tanto contribuíram para meu conhecimento.

*“Todas as grandes coisas são simples. E muitas podem ser expressas numa só palavra: liberdade; justiça; honra; dever; piedade; esperança”.*

Winston Churchill

11/11/1941



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

## **INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

Estudo da coinfeção HIV e Hepatite B em pacientes atendidos num serviço de referência em doenças infecciosas no Piauí

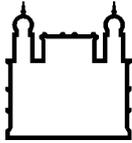
### **RESUMO**

#### DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA TROPICAL

Norma Cely Salmito Cavalcanti

Palavras-chave: HIV, Hepatite B, coinfeção, prevalência.

O objetivo do presente trabalho foi determinar a prevalência de infecção pelo HBV em uma população com HIV atendida em um Serviço de Referência no Piauí. Foram incluídos no estudo 115 pacientes HIV positivos que já faziam acompanhamento ambulatorial. A presença de marcadores para as hepatites B (HBs Ag, anti-Hbc total e anti-Hbs) e C (anti-HCV) foram investigados utilizando-se a técnica de ELISA por meio de kits comerciais (AxSYM®). Nas amostras HBsAg reagentes, foi realizada a detecção do HBV-DNA por PCR em tempo real utilizando-se Kits comerciais Abbott Real Time HBV (Abbott Molecular Inc., Des Plaines, USA). A frequência de positividade para os marcadores do HBV foram 3/97 (2,6%) de HBs Ag, 26/98 (22,6%) de anti-HBc e 44/87(38,3%) de anti-HBs. Nos pacientes HBs Ag reagentes, a média de HBV DNA foi de  $162 \pm 1728,34$  UI/ml. A média de CD4 nos grupos expostos ao HBV foi 18% maior que nos grupos não expostos. Além da coinfeção HIV/HBV, também foi observada a coinfeção com Hepatite C. De acordo com a classificação da organização mundial de saúde, a prevalência de Hepatite B foi moderada e a coinfeção HIV-HBV nessa população foi mais baixa do que a encontrada em outros lugares do Brasil. Mais estudos são necessários para confirmar se o uso do tenofovir pode ter impacto na diminuição da coinfeção HIV/HBV.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## **INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

Coinfection HIV and Hepatitis B in patients treated in a referral center for infectious diseases in Piauí

### **ABSTRACT**

#### **MASTER DISSERTATION IN TROPICAL MEDICINE**

Key-words: HIV, Hepatitis B, coinfection, prevalence.

The aim of this study was to determine the prevalence of HBV infection in a population with HIV treated at a Reference Service in Piauí. The study included 115 HIV-positive patients who were already outpatient treatment. The presence of markers for hepatitis B (HBs Ag, anti-HBc and anti-HBs) and C (anti-HCV) were tested by ELISA using commercial kits (AxSYM®). In samples positives for HBsAg HBV DNA was performed by real time PCR using commercial kits Real Time HBV Abbott (Abbott Molecular Inc., Des Plaines, USA). The frequency of positivity for HBV markers were 3/97 (2.6%) HBs Ag, 26/98 (22.6%) of anti-HBc and 44/87 (38.3%) of anti-HBs. In patients HBs Ag positive the means of HBV DNA was  $162 \pm 1728.34$  IU / ml. The average CD4 in the groups exposed to HBV was 18% higher than in non-exposed groups. In coinfection of HIV / HBV, coinfection was also observed with hepatitis C. According to the World Health Organization classification, the prevalence of hepatitis B was moderate and HBV-HIV coinfection in this population was lower than that found in other parts of Brazil. More studies are needed to confirm that the use of tenofovir can impact decreased coinfection HIV/HBV.

## Lista de Figuras

Figura 1.	Estrutura do HBV (partícula de Dane).....	2
Figura 2.	Organização do genoma do HBV.....	3
Figura 3.	Ciclo de replicação viral do HBV.....	5
Figura 4.	Distribuição geográfica dos genótipos do HBV.....	6
Figura 5.	Distribuição dos genótipos do HBV nas diferentes regiões brasileiras.....	7
Figura 6.	Prevalência global do HBsAg.....	12
Figura 7.	Representação esquemática dos eventos clínicos e sorológicos da Hepatite B aguda.....	15
Figura 8.	Representação esquemática dos eventos clínicos e sorológicos da Hepatite B crônica.....	16

## Lista de Tabelas

Tabela 1.	Características sociodemográficas da população com HIV atendida no IDTNP entre abril e julho de 2015.....	36
Tabela 2.	Frequência de positividade para os diferentes marcadores sorológicos.....	38
Tabela 3.	Marcadores sorológicos encontrados para o HBV.....	38
Tabela 4.	Frequência de positividade para o Anti-HBc e diferentes características sociodemográficas.....	40
Tabela 5.	Médias de contagem de linfócitos CD4 e Carga Viral do HIV de acordo com a positividade do Anti-HBc.....	42
Tabela 6.	Frequência de positividade para o Anti-HBs de acordo com o <i>status</i> vacinal.....	42

## Lista de Quadros

Quadro 1.	Programa para amplificação da região da polimerase do HIV.....	30
Quadro 2.	Programa para amplificação da região de superfície do HBV.....	33

## Lista de siglas e abreviaturas

AIDS	Em inglês "Acquired Immunodeficiency Syndrome"
ALT	Alanina amino transferase
Anti-HBc	Anticorpo contra o antígeno do core do vírus do Hepatite B
Anti-HBe	Anticorpo contra o antígeno e do vírus da hepatite B
Anti-HBs	Anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus da Hepatite B
AST	Aspartato amino transferase
cccDNA	Em inglês "circular covalently closed desoxirribonucleic acid"
CDC	Em inglês "Center for Disease Control"
cDNA	DNA complementar
dNTPs	Trifosfatos de desoxinucleotídeos
DNA	Ácido desoxirribonucleico
Eco R1	Enzima endonuclease
ELISA	Do inglês "enzyme-linked immunosorbent assay"
ENT	Entecavir
Fita L	Fita longa do vírus da hepatite B
HBcAg	Antígeno do core do vírus da hepatite B
HBeAg	Antígeno e do vírus da hepatite B
HBsAg	Antígeno de superfície do vírus da hepatite B
HIV	Vírus da imunodeficiência humana

IC	Intervalo de confiança
INF	Interferon
IgG	Imunoglobulina da classe G
Ig M	Imunoglobulina da classe M
min	Minuto
mL	Mililitro
MS	Ministério da Saúde
pb	Pares de base
PCR	Reação em cadeia de polimerase
PEG	Polietilenoglicol
Proteína L	Proteína grande do envelope
Proteína M	Proteína média do envelope
Proteína S	Proteína pequena do envelope
Região C	Região de codificação das proteínas do core
Região P	Região de codificação da polimerase
Região Pré-S1	Sequência entre o primeiro e o segundo códon de iniciação da região S
Região Pré-S2	Sequência entre o segundo e terceiro códon de iniciação da região S
Região S	Região de codificação das proteínas do envelope
Região X	Região de codificação do antígeno x
Região YMDD	Região da polimerase do DNA que codifica os aminoácidos tirosina-metionina-aspartato-aspartato
RNA	Ácido ribonucleico

TARV	Terapia antirretroviral de alta potência
TEN	Tenofovir
UI/mL	Unidades internacionais/mililitros

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	X
<b>ABSTRACT</b> .....	XI
Lista de Figuras .....	XII
Lista de Tabelas .....	XIII
Lista de Quadros .....	XIV
Lista de Siglas e Abreviaturas .....	XV
<b>1.INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1.Histórico .....	1
1.2.Estrutura Viral e Genômica .....	2
1.3.Replicação Viral .....	4
1.4.Diversidade Genética.....	5
1.5.Aspectos Clínicos .....	8
1.6.Formas de transmissão .....	11
1.7.Epidemiologia .....	11
1.8.Diagnóstico Laboratorial .....	13
1.8.1.Testes Sorológicos .....	14
1.8.2.Testes Moleculares.....	16
1.9.Prevenção.....	17
1.10.Tratamento.....	17
1.11.Coinfecção HIV/ HBV.....	19
<b>2.JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>22</b>
<b>3.OBJETIVOS</b> .....	<b>23</b>
3.1.Objetivo Geral.....	23
3.2.Objetivos Específicos.....	23
<b>4.METODOLOGIA</b> .....	<b>24</b>
4.1.População de estudo .....	24
4.2.Considerações éticas.....	24
4.3.Critérios de inclusão e exclusão .....	24
4.4.O IDTNP – Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella.....	25

4.5.Método de criação do banco de dados para armazenamento de informações .....	25
4.6.Coleta das amostras .....	26
4.7.Marcadores de células T-CD4 e CD8 .....	26
4.7.1.Princípio do teste .....	26
4.7.2.Procedimento do teste .....	27
4.8.Extração do HIV .....	27
4.9.Amplificação do HIV .....	28
4.9.1Princípio do teste .....	28
4.9.2.Procedimento.....	28
4.10.Detecção do HIV .....	29
4.11.Testes sorológicos .....	30
4.12.Extração do HBV .....	30
4.12.1.Preparação do reagente .....	31
4.13.Amplificação do HBV .....	31
4.13.1.Princípio do teste .....	31
4.13.2.Procedimento.....	32
4.14.Detecção do HBV .....	33
4.15.Análise estatística .....	34
<b>5.RESULTADOS .....</b>	<b>35</b>
5.1.Características sociodemográficas e epidemiológicas da população do estudo .....	35
5.2.Avaliação dos marcadores sorológicos para a infecção do HBV e HCV .	37
5.3.Análise do marcador Anti-HBc segundo as diferentes características epidemiológicas, clínicas e demográficas da população do estudo3.....	8
5.4.Positividade do Anti-HBs segundo <i>status</i> vacinal .....	42
<b>6.DISSCUSSÃO.....</b>	<b>43</b>
<b>7.CONCLUSÕES.....</b>	<b>51</b>
<b>8.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>52</b>
<b>ANEXO I (aprovação do comitê de ética).....</b>	<b>66</b>
<b>ANEXO II (Termo de consentimento) .....</b>	<b>67</b>
<b>ANEXO III (questionário) .....</b>	<b>69</b>

# **1. INTRODUÇÃO**

## **1.1 Histórico**

O vírus da Hepatite B foi descoberto em 1963 pelo ganhador do prêmio Nobel Baruch S. Blumberg quando foi anunciada a descoberta de um novo antígeno, o Antígeno Austrália (Blumberg *et al.*, 1965). Este geneticista pesquisava lipoproteínas séricas em pacientes que tinham recebido transfusão de sangue para susceptibilidade a determinadas doenças, em especial neoplasias, e, para isso, coletou amostras de sangue de várias partes do mundo durante as décadas de 1950 e 1960 (Gerlich, 2013).

Blumberg postulou que pessoas que recebiam múltiplas transfusões de hemoderivados, como os hemofílicos, desenvolviam anticorpos contra proteínas “polimórficas” do soro. Um colaborador de Blumberg chamado Harvey Alter foi quem, na verdade, descobriu esse novo antígeno, em diversas provas de uma coleção de amostras, frequente em aborígenes na Austrália, daí o nome Antígeno Austrália (Gerlich, 2013). Paralelamente, Alfred Prince procurava um antígeno para hepatite no sangue de um grupo de pacientes com hepatite pós-transfusional em 1968. Logo, esse antígeno foi associado à Hepatite B (Prince, 1968).

Até 1970, não estava claro o que realmente era o Antígeno Austrália. Não se sabia se era uma proteína do hospedeiro formada após uma reação ao patógeno ou se era o próprio patógeno em si. Essa era uma questão difícil de resolver, uma vez que o HBV ou AuAg não crescia em cultura de células em animais de laboratório. Em 1971, Le Bouvier e colaboradores descobriram que os determinantes antigênicos *d* e *y* apareciam com o determinante *a*. Logo depois, Bancroft identificou os determinantes *w* e *r* (1972).

Também em 1970, David Dane descobriu por microscopia eletrônica que o AuAg aparecia não só como pequenas partículas pleomórficas, esféricas e cilíndricas, mas também com 42 nm como um núcleo interno claramente visível (Dane *et al.*, 1970). Logo depois, em 1971, June Almeida conseguiu liberar as partículas do núcleo da então chamada “partícula de Dane” por tratamento com detergente, demonstrando que os pacientes com Hepatite B formavam anticorpos (anti-HBc) contra o núcleo do vírus (HBc Ag). Isto comprovou que as partículas de Dane eram causadoras da doença e que o

Antígeno Austrália era o antígeno de superfície do vírus envelopado e foi chamado de HBs Ag depois disso. A partícula de Dane constituía-se de um invólucro externo e um núcleo, sendo que o invólucro externo correspondia ao Antígeno Austrália, passando posteriormente a ser designado de antígeno de superfície do vírus da Hepatite B, o HBs Ag (Almeida *et al.*, 1971).

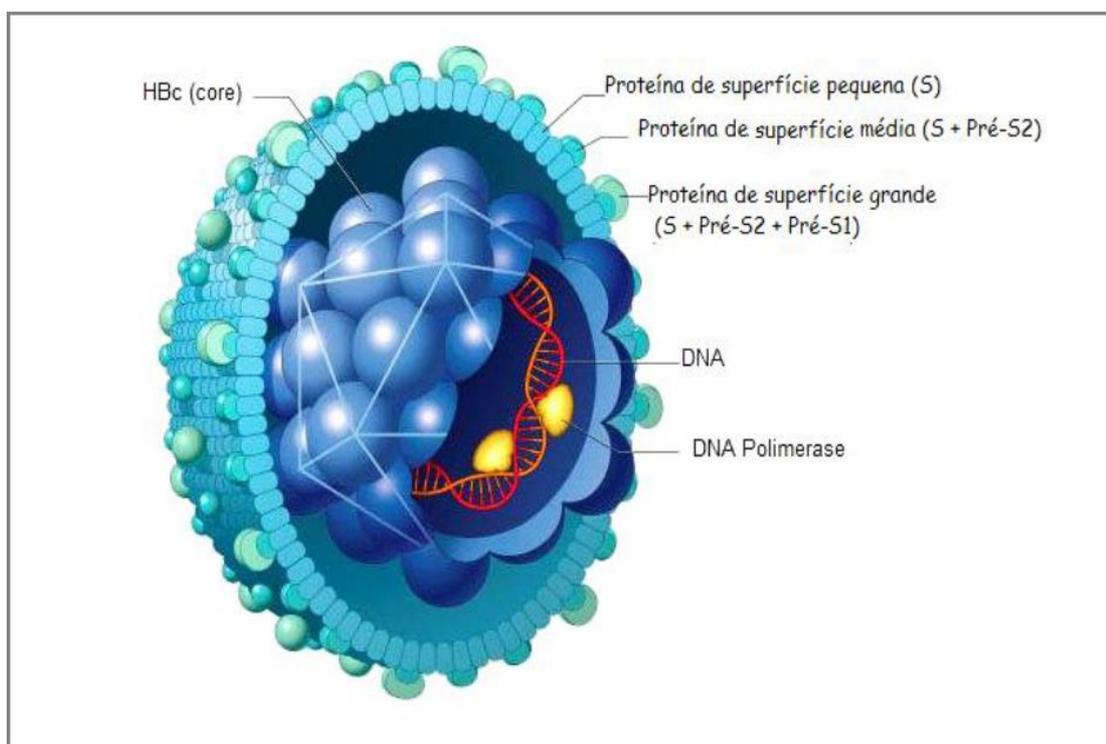


Figura 1. Estrutura do HBV (partícula de Dane)

Adaptado de ©2002 James A. Perkins apud Almeida, 2007.

## 1.2 Estrutura viral e genômica

A família *Hepadnaviridae* é composta por dois gêneros: 1- *Orthohepadnavirus*, que é constituído pelos vírus isolados em mamíferos: humanos, roedores, morcegos e uma variedade de primatas não humanos (chimpanzés, gorilas, orangotangos, gibões e macaco barrigudo); 2- *Avihepadnaviridae*, composto por vírus isolados em algumas espécies de aves: pato, garça, ganso, cegonha e periquito (Locarnini *et al.*, 2013).

O vírus da Hepatite B (HBV) tem genoma DNA de fita parcialmente dupla de aproximadamente 3.200 pares de base. A fita mais longa é complementar aos RNAs virais e, por convenção, possui polaridade negativa e um corte na

posição 1818 (tomando-se como início Eco R1 como nucleotídeo 1). Na fita positiva, que possui uma região de fita simples, a posição 5' terminal é conservada e fixa por volta da posição 1620, enquanto a posição da extremidade 3' terminal é variável (Tiollais *et al.*, 1985) (Figura 2).

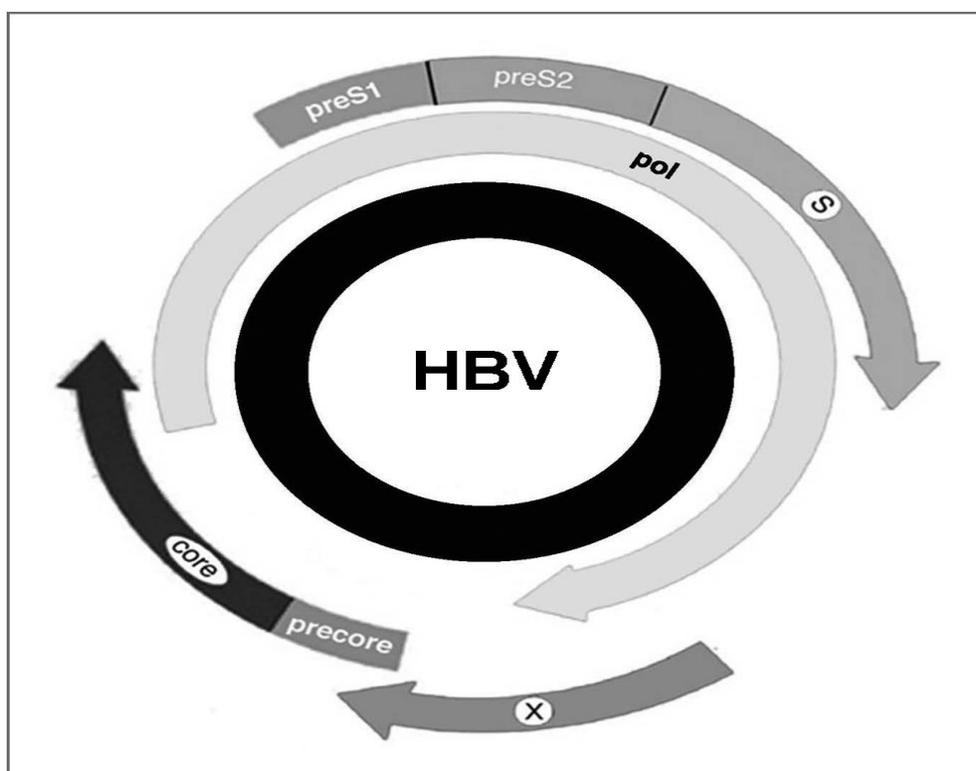


Figura 2. Organização do genoma do HBV (Locarnini *et al.*, 2013).

A capacidade codificadora está restrita à fita longa e contém quatro fases de leitura aberta sobrepostas: a região pré-C e C, que codifica o antígeno e (HBe Ag), quando traduzida conjuntamente, e a proteína do core HBc Ag. A região P, que se estende por 80% do genoma, codifica a polimerase viral (transcrição reversa). A região S, dividida em S e pré-S, é responsável pela codificação das proteínas de superfície (envelope viral) e X para a proteína regulatória chamada de proteína X – Ag HBx (Tiollais *et al.*, 1985; Gust *et al.*, 1986; Bloor and Clarke, 2002).

### 1.3 Replicação viral

O ciclo de replicação do HBV se inicia quando o HBV se adere à membrana do hepatócito, como mostra a Figura 3. Logo, o envelope viral é removido e a partícula nuclear é transportada ativamente até o núcleo do hepatócito. No núcleo, ele é convertido em DNA covalente circular ligado (cccDNA – do inglês “covalently closed circular DNA”) (Pawlotsky, 2005; Locarnini *et al.*, 2013).

A replicação do HBV ocorre por meio de transcrição reversa, via RNA intermediário, que é responsável pela persistência do vírus e pela resistência à terapia antiviral (Tang *et al.*, 2014). A molécula de cccDNA é utilizada para a transcrição de vários RNAs mensageiros pela enzima RNA polimerase II dependente de DNA. Dois grupos de RNAs são transcritos: o primeiro são RNAs subgenômicos, que servem como RNAs mensageiros para a síntese das proteínas do envelope e do HBx. Já o segundo são os RNAs genômicos, que possuem função de RNA pré-genômico (RNAPg) e RNA mensageiro para a transcrição das proteínas HBe Ag, HBc Ag e polimerase (Gerlich, 2013; Glebe *et al.*, 2013).

Após a síntese dos RNAs pré-genômicos e produtos dos genes virais, esses são encapsidados junto com a polimerase viral dentro das proteínas do core no citoplasma (Gerlich, 2013; Glebe *et al.*, 2013).

A síntese do DNA viral é iniciada por meio de transcrição reversa do RNAPg encapsidado e é realizada por meio da polimerase viral. Ocorre, então, a síntese da fita negativa concomitante à degradação da cópia de RNA pela RNase H da polimerase e, depois, a síntese da fita positiva. (Gerlich, 2013; Glebe *et al.*, 2013).

Por último, os nucleocapsídeos virais são envelopados por uma membrana lipoprotéica formada pela bicamada lipídica celular e pelas proteínas de superfície do vírus. As partículas são exportadas para fora da célula (Gerlich, 2013; Glebe *et al.*, 2013).

Algumas moléculas de HBV DNA podem ser integradas ao DNA das células hepáticas. Esta integração do genoma viral não é um passo vital no ciclo de vida do vírus, pois algumas não são completamente preservadas, impossibilitando sua replicação. Contudo, alguns genes virais podem ser

expressos a partir de algumas dessas moléculas de DNA. O gene S, por exemplo, é um gene pouco interrompido, possibilitando, dessa forma, a expressão do HBs Ag (Gerlich, 2013; Glebe *et al.*, 2013).

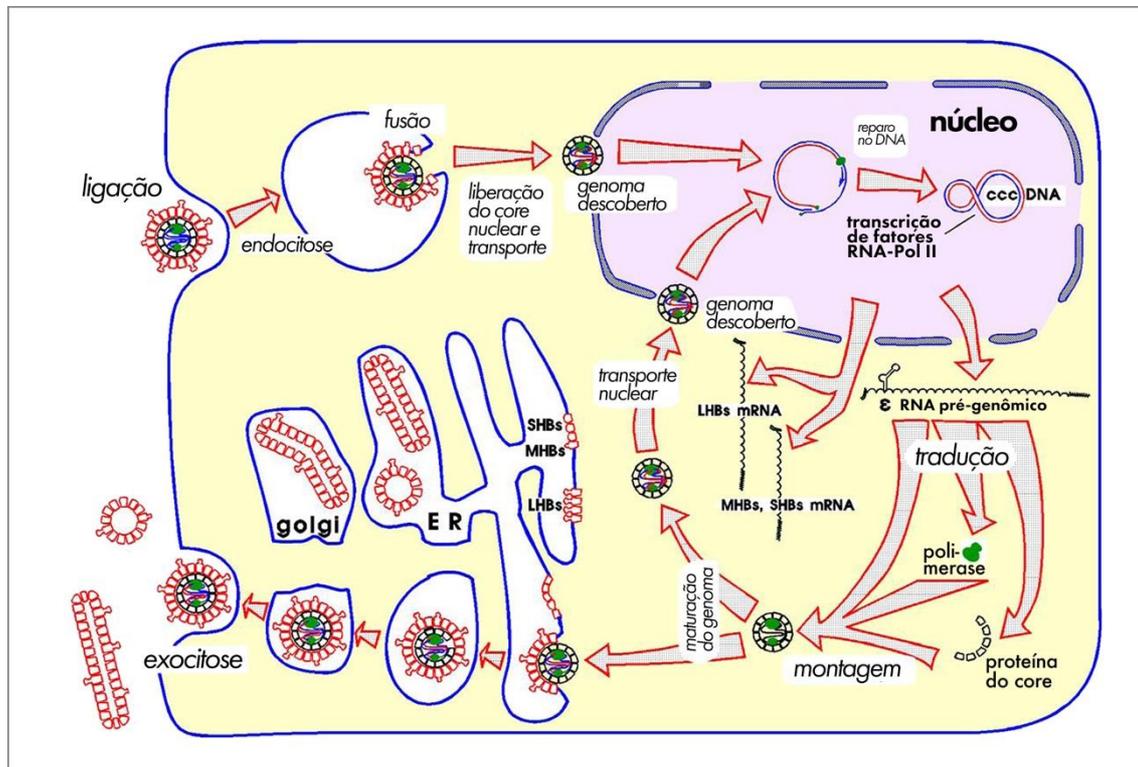


Figura 3. Ciclo de replicação viral do HBV (Gerlich 2013).

A integração do HBV DNA no genoma dos hepatócitos é um importante mecanismo pelo qual a Hepatite B pode promover o surgimento do carcinoma hepatocelular (Guerrieri *et al.*, 2013).

#### 1.4 Diversidade genética

O HBV tem uma taxa de mutação superior ao esperado para um vírus. Porém, seu potencial para variações é limitado pela organização compacta do genoma, o que o caracteriza como um vírus com uma taxa de mutação intermediária entre os vírus de DNA e RNA (Seeger *et al.*, 2000).

Apesar disso, cerca de 12% dos nucleotídeos podem variar entre os diferentes isolados do HBV e essa variabilidade permitiu sua classificação em grupos denominados genótipos e subgenótipos (Locarnini *et al.*, 2013).

A infecção pelo HBV é caracterizada por altos níveis de carga viral em torno de  $10^{12}$  partículas virais/dia, o que, combinado com elevada taxa de

mutações ( $3,2 \times 10^{-5}$  -  $7,9 \times 10^{-5}$  substituições/ciclo de replicação), resulta na formação de uma população heterogênea (*quasispecies* virais) em um mesmo paciente (Zoulim *et al.*, 2009; Rodriguez-Frias *et al.*, 2013).

Atualmente, o HBV está classificado em dez genótipos (A, B, C, D, E, F, G, H, I e J) (Te *et al.*, 2010) e subdivididos em mais de 40 subgenótipos, dividindo os genótipos A, B, C, D e F (Norder *et al.*, 2004; Yu *et al.*, 2010). Estes genótipos diferem em comprimento do genoma, que deve ser maior que 7,5%, tamanho das fases de leitura e proteínas traduzidas, assim como desenvolvimento de mutações (Kew and Kramvis, 2005; Locarnini *et al.*, 2013; Norder *et al.*, 2004). Em geral, os genótipos do HBV estão associados a desfechos clínicos distintos, como diferentes taxas de soroconversão de anti HBe e mutações na região pré-core e do core promoter. Cada genótipo tem um tamanho de genoma diferente e a classificação anterior em sorotipo não se correlaciona com o genótipo (Croagh *et al.*, 2015; Kao and Liu, 2013). A distribuição geográfica dos genótipos é variável e pode ser vista de acordo com a Figura 4.

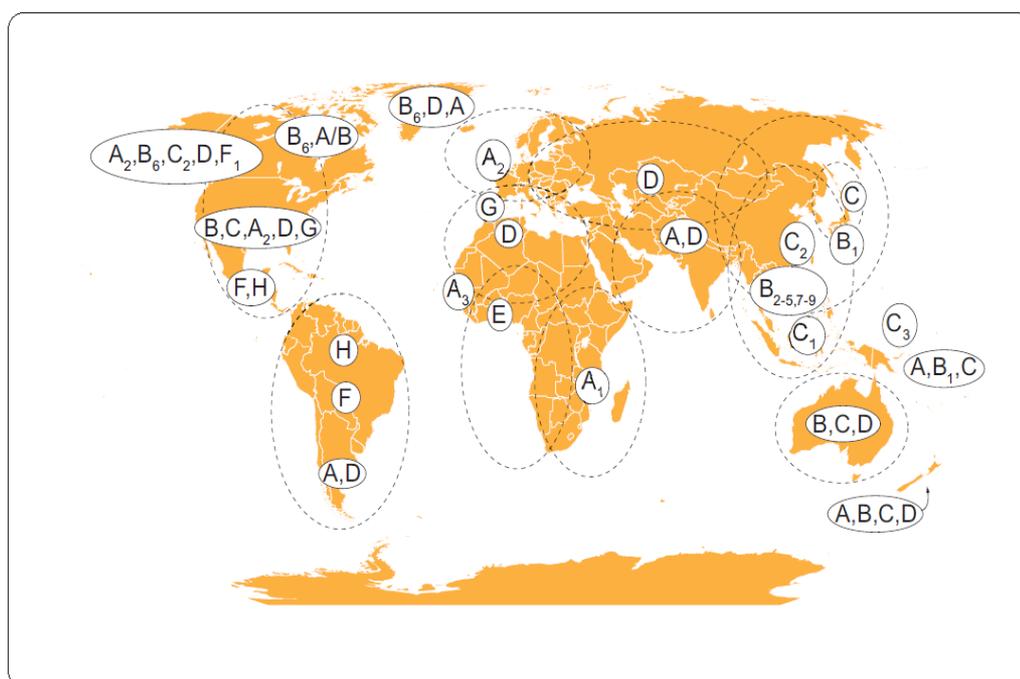


Figura 4. Distribuição geográfica dos genótipos e subgenótipos do HBV (Locarnini, 2015).

Os genótipos A e D são mais frequentes na Europa, África e América do Norte, enquanto B e C são mais encontrados na Ásia. O genótipo E é exclusivo da África Ocidental e o genótipo F é encontrado na África Central e

do Sul. O genótipo G foi identificado na Alemanha, França, América do Norte e, o H, na América Central (Arauz–Ruiz *et al.*, 2002; Croagh *et al.*, 2015) e, o genótipo I, foi identificado no Vietnã, Laos e China (Yu *et al.*, 2010). Já o genótipo J foi identificado em um único paciente no Japão, mas que viajou para o Bornel (Tatematsu *et al.*, 2009).

No Brasil, os genótipos mais frequentes são o A, seguido dos genótipos D, C, F e B (Sitnik *et al.*, 2004), com exceção da região Sul, aonde um estudo demonstrou o genótipo mais frequente ser o D, seguido do A, C e E (Mello *et al.*, 2014). Na Figura 5, é possível ver a distribuição geográfica dos genótipos no Brasil.

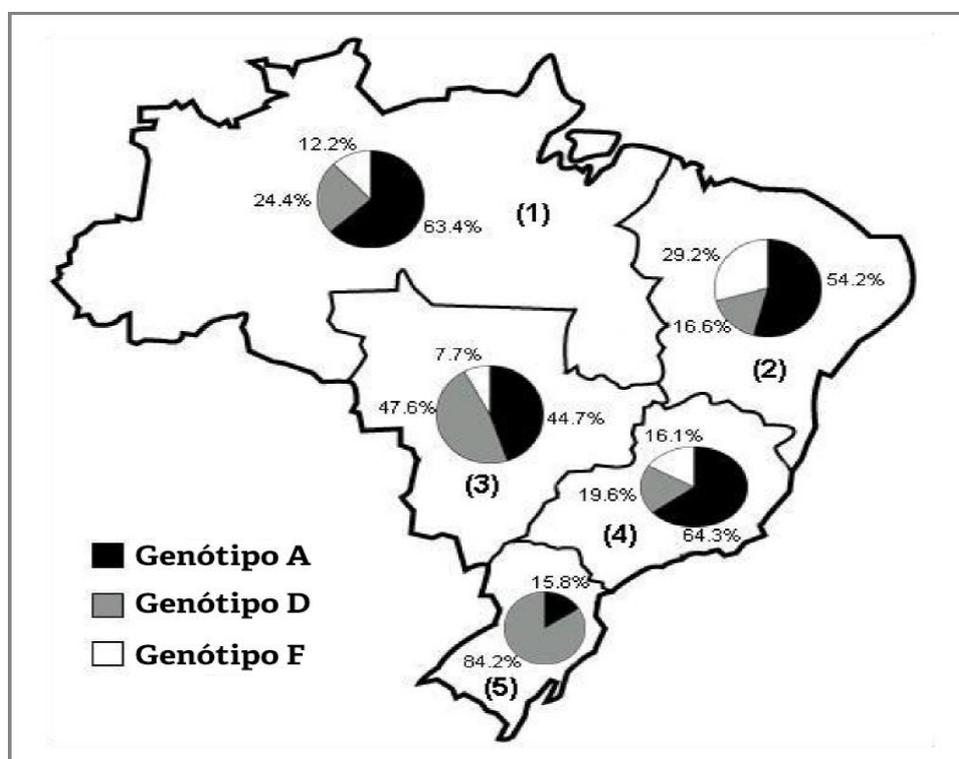


Figura 5. Distribuição dos genótipos do HBV nas diferentes regiões brasileiras (Mello *et al.*, 2007).

Em um estudo realizado em hospitais públicos do Belém, no Pará, o genótipo predominante foi o A (89,1%), seguido dos genótipos F (8,7%) e D (2,2%) (Conde *et al.*, 2004).

Outro estudo realizado em Salvador encontrou os seguintes genótipos nas hepatites crônicas: A (86,8%); F (11,8%); e B (1,6%) (Ribeiro *et al.*, 2006). No Maranhão, foi encontrado apenas o genótipo A1 em uma

comunidade Quilombo Frechal (Alvarado-Mora *et al.*, 2011). No Piauí, ainda não existe estudo de prevalência de genótipo do HBV em população mono infectada.

Essa variabilidade genética do HBV pode vir por meio de mutação ou recombinação. As taxas de mutação natural são altas no HBV, uma vez que sua transcriptase reversa não tem capacidade de leitura de prova e a substituição de nucleotídeos é 10 vezes maior que em outros vírus DNA, e 100 vezes maior que no genoma humano (Yuen *et al.*, 2007).

Alguns genótipos do HBV podem ter diferenças na história natural da infecção crônica e, portanto, desempenhar diferentes papéis nas manifestações clínicas e resposta à terapia antiviral (Kramvis, 2014; Kao, 2002; McMahon, 2009). Pacientes infectados com os genótipos A, B, D e F apresentam soroconversão do HBeAg mais cedo e espontânea do que aqueles infectados pelo genótipo C (Livingston *et al.*, 2007).

## **1.5 Aspectos clínicos**

Após a infecção aguda pelo vírus da Hepatite B, diversas manifestações clínicas e diferentes desfechos podem ser observados nos pacientes infectados. Na maioria das vezes, a infecção aguda costuma ser benigna (Lopes and Schinoni, 2010). Após um período de incubação de cerca de 45 a 180 dias, os indivíduos infectados desenvolvem quadro de hepatite aguda, na maioria das vezes subclínica e anictérica. Apenas 20% evoluem com icterícia e, em cerca de 0,2% dos pacientes, a doença assume a forma fulminante com elevada mortalidade (>80%) e que necessita ser tratada em unidade de terapia intensiva, devido às múltiplas complicações decorrentes da insuficiência hepática aguda (Lee, 1997; Ferreira, 2000).

Admite-se que a infecção pelo HBV evolui para a cura espontânea em 90 a 95% dos casos e para o estado de portador crônico nos outros 5 a 10%. Metade desses portadores não apresentam doença hepática (portadores são), mas a outra metade mostra sinais de atividade inflamatória no fígado, de intensidade variada, podendo desenvolver cirrose e carcinoma hepatocelular nas fases mais tardias da doença (Ferreira, 2000; Lopes and Schinoni, 2010).

Mais de 90% das crianças que contraem a infecção pelo HBV se tornam crônicas, comparado a adultos que se tornam crônicos em menos de 5%. Em adultos, a progressão para forma crônica é mais frequente em indivíduos imunocomprometidos, como é o caso da infecção pelo HIV. Uma vez a infecção crônica estabelecida, aproximadamente 30% destes indivíduos apresentarão cirrose hepática, e aproximadamente 25% destes irão desenvolver falência hepática em cinco anos. A cirrose hepática também aumenta o risco de desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (CHC). A infecção crônica pelo HBV isolada também aumenta o risco de CHC, mesmo na ausência de cirrose (Fattovich et al., 1995).

A presença do antígeno de superfície do vírus da Hepatite B (HBsAg) em duas ocasiões, por mais de seis meses, define a infecção crônica pelo vírus da Hepatite B (HBV). Valores > 20.000 UI/mL ( $10^5$  cópias/mL) ou 2.000 a 20.000 UI são comuns em hepatites B HBe Ag negativas (Guidelines AASLD 2009). A presença de HBV DNA indica replicação viral em andamento, podendo se correlacionar replicação com infectividade (Price, 2014).

No início da fase crônica da infecção pelo HBV, os níveis séricos de HBV DNA são altos e o HBeAg está presente. A maioria dos portadores perde o HBeAg e desenvolve o anticorpo anti-HBe. Quando a infecção é adquirida na infância, um grande número de pacientes HBeAg-positivos tem níveis altos de HBV DNA e níveis normais de ALT. Esses pacientes são considerados imunotolerantes e desenvolvem Hepatite B com transaminases elevadas e HBe Ag positivo na fase adulta da vida (Lok *et al.* 1990, Lee *et al.* 1990). Nessas populações, as crianças fazem a soroconversão HBeAg para anti-HBe até a puberdade, mantendo níveis elevados de ALT, enquanto em países desenvolvidos a transmissão é sexual ou por meio do uso de drogas injetáveis (Stroffolini *et al.*, 2000). Dentre os portadores de HBV com ALT elevada, a taxa de perda do HBeAg alcança cerca de 8% a 12% ao ano em indivíduos imunocompetentes, mas essa taxa é muito menor em indivíduos na fase imunotolerante e imunocomprometidos (Lok *et al.*, 1988; Chang *et al.*, 1995). Adquirir a doença com idade mais avançada, níveis de ALT mais altos e genótipo B do HBV estão associados com altas taxas de eliminação do HBeAg.

Depois da soroconversão, 67% a 80% dos pacientes tem carga viral baixa ou indetectável com mínima ou nenhuma lesão necroinflamatória à biópsia hepática – são os chamados portadores inativos (Lok *et al.*, 1987; Bortolotti *et al.*, 2006; McMahon *et al.*, 2001; Hsu YS *et al.*, 2002). Aproximadamente de 4% a 20% podem ter uma ou mais reversões do HBeAg. Dentre os que permanecerem anti-HBe positivos, 10% a 30% continuam a ter ALT e níveis séricos de HBV DNA elevados após a soroconversão do HBeAg e, inesperadamente, 10% a 20% dos portadores inativos podem ter reativação de replicação do HBV e exacerbação da hepatite após anos de infecção latente (Lok *et al.*, 1990; McMahon *et al.*, 2001; Hsu *et al.*, 2002; Davis *et al.*, 1984). Portanto, testagens seriadas são necessárias para confirmar o *status* de portador inativo e um acompanhamento por toda a vida desse paciente será necessário.

A eliminação do HBeAg, seja de forma espontânea ou por terapia medicamentosa, diminui o risco de descompensação hepática e aumenta a sobrevida. (Fattovich *et al.*, 1995; Lin *et al.*, 1999; Liaw *et al.*, 2004).

Níveis persistentes de replicação ou reativação de replicação do HBV após um período de latência leva a uma Hepatite B crônica HBe Ag negativa, que é caracterizada por níveis de HBV DNA >2.000UI/mL e atividade necroinflamatória. A maioria dos pacientes com Hepatite B crônica HBeAg negativa é portadora de uma variante na região do core promoter (Chan *et al.*, 2000; Grandjacques *et al.*, 2000).

Pacientes HBeAg negativos tendem a ter carga viral mais baixa e o curso da infecção é geralmente flutuante. Aproximadamente 0,5% desses portadores do HBsAg irão perder o HBsAg anualmente e a maioria desenvolverá anti-HBs (Liaw *et al.*, 1991). Entretanto, níveis séricos baixos de HBV DNA podem ser encontrados em até metade dos pacientes. O prognóstico é melhor em portadores que negativam o HBsAg, mas carcinoma hepatocelular (HCC) já foi relatado mesmo naqueles que negativaram o HBsAg, especialmente nos pacientes com idade mais avançada e nos que perderam o HBsAg com cirrose hepática já instalada antes da perda do antígeno (Liaw *et al.*, 1991).

## 1.6 Formas de transmissão

A transmissão do vírus da Hepatite B ocorre principalmente por meio de exposição percutânea ou de mucosas a fluidos corpóreos e sangue contaminado. As principais formas de contágio são transmissão perinatal, relações sexuais, transfusão de sangue e hemoderivados, uso de drogas intravenosas ou inaladas, transplante de órgãos e tecidos, lesões de pele ou acidentes com agulhas, rituais e tatuagens tribais, acidente com material biológico em profissionais da área de saúde (Lavanchy 2004; Locarnini *et al.*, 2015). Além disso, é uma infecção frequente em pacientes que fazem hemodiálise, em pessoas com múltiplos parceiros sexuais, em pacientes que estão em tratamento oncológico, em usuários de drogas injetáveis e hemofílicos (Ferreira, 2000).

A transmissão perinatal é um dos modos de transmissão mais eficientes do vírus da Hepatite B, pois mães portadoras do HBsAg e do HBeAg podem transmitir o HBV. Mais de 90% dessas mulheres são portadoras crônicas do HBV, embora também seja possível que mulheres agudamente infectadas na gravidez transmitam a seus filhos. Mães HBeAg positivas têm de 70% a 90% de chance de transmitir o vírus para o recém-nascido (Lee, 1997). Os recém-nascidos de mães HBsAg positivas devem receber a imunoglobulina dentro das primeiras 12 horas de vida e esquema vacinal completo para Hepatite B (Cornberg *et al.*, 2007).

## 1.7 Epidemiologia

A infecção crônica pelo HBV constitui um importante problema de saúde pública. Existem aproximadamente 400 milhões de pessoas infectadas pela Hepatite B e 40 milhões infectadas pelo HIV no mundo, segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS).

A prevalência e os padrões de transmissão variam nas diferentes partes do mundo, dependendo da taxa de infecção crônica da população, via predominante de transmissão (Te *et al.*, 2010). Em função dessas características, as regiões do mundo foram divididas de acordo com o padrão

de endemicidade da Hepatite B. A endemicidade é considerada baixa quando a prevalência do HBs Ag na população é inferior a 2%, intermediária quando a prevalência fica entre 2-8% e elevada quando é maior que 8% (OMS).

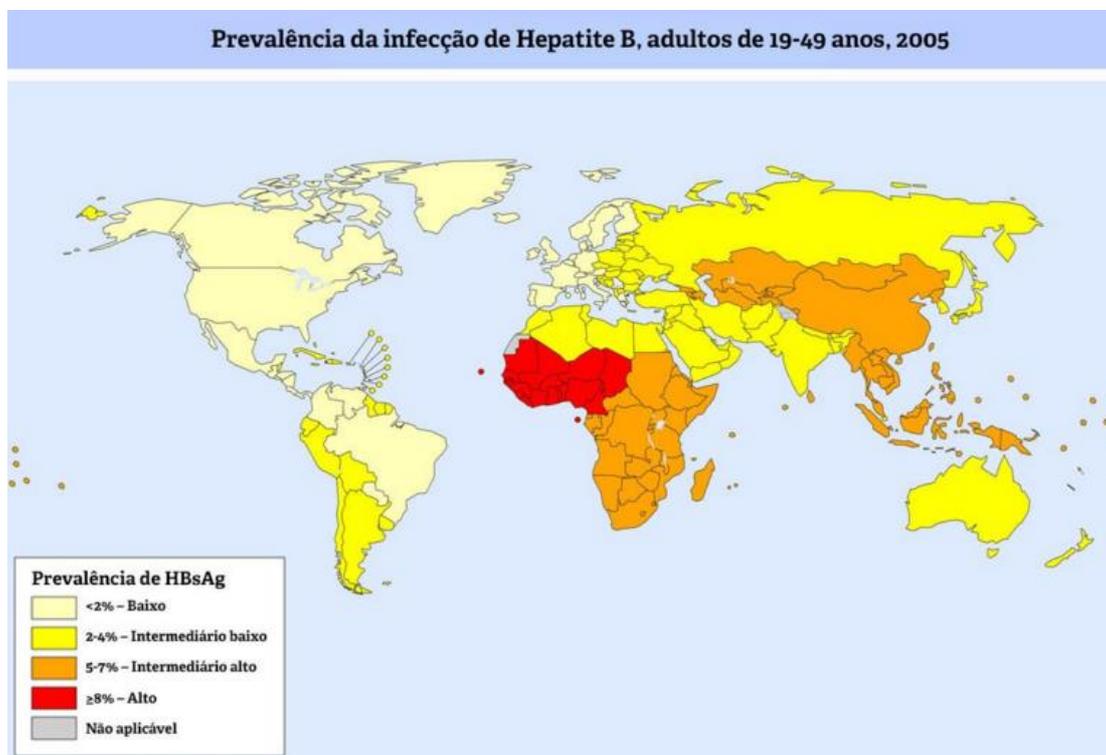


Figura 6. Prevalência global do HBs Ag (Ott *et al.*, 2012).

As áreas de elevada endemicidade incluem o Sudeste Asiático, Bacia do Pacífico (excluindo Japão, Austrália e Nova Zelândia), África Subsaariana, Bacia Amazônica, parte do Oriente Médio e alguns países da Europa Oriental. Essas regiões de alta endemicidade geralmente são aquelas onde grande parte da população se infecta pelo vírus da Hepatite B no período perinatal (transmissão vertical) ou na infância (Te *et al.*, 2010).

Nos países com endemicidade intermediária, como alguns do Leste Europeu, Ásia Central, Japão, Israel e Rússia (2 a 7%), ocorre um misto de transmissão na infância e entre adultos. Na América do Norte, Europa Ocidental, Austrália, Nova Zelândia, México e a região sul da América Latina são consideradas áreas de prevalência baixa para o HBV (menor que 2%) (Te *et al.*, 2010).

Em um estudo realizado em diversas capitais brasileiras do Nordeste e no Distrito Federal, a prevalência do HBsAg encontrada foi inferior a 1% (Pereira *et al.*, 2009). Na região da Amazônia Brasileira, a soropositividade é maior, alcançando de 3,3% a 9% da população (Braga *et al.*, 2001; Braga *et al.*, 2005; Tavares-Neto *et al.*, 2004). Já na região Sudeste, na cidade de São Paulo (Focaccia *et al.*, 1998) encontrou-se 5,95% de prevalência para marcadores sorológicos de Hepatite B.

O Ministério da Saúde estima que no Brasil existam 600 mil pessoas portadoras de Hepatite B crônica (Ministério da Saúde, 2011). Esses portadores constituem um importante reservatório e fonte de infecção aos susceptíveis, mesmo com a disponibilidade da vacina em nosso País.

Estima-se que ocorram 50 milhões de novas infecções pelo HBV anualmente (Te *et al.*, 2010). Aproximadamente 786.000 pessoas morrem por ano devido ao HBV e 499.000 morrem devido ao HCV. Cerca de 1.470.000 morrem devido ao HIV por ano. As mortes causadas por todas as hepatites virais (A, B, C, D e E) somam 1.440.000 de mortes por ano. As mortes por cirrose e carcinoma hepatocelular foram estimadas em 1.030.000 e 750.000, respectivamente. O HBV foi associado a 30% dos casos de morte por cirrose e 45% das mortes por carcinoma hepatocelular (Lozano *et al.*, 2012).

Apesar da disponibilidade de vacina para esse agravo, a Hepatite B continua sendo muito prevalente e importante causa de morte em seres humanos (Carey *et al.*, 2009).

## **1.8 Diagnóstico Laboratorial**

Os sintomas clínicos da infecção pelo HBV são indistinguíveis das outras formas de hepatites virais, e o diagnóstico definitivo só é possível por meio dos testes sorológicos específicos para a infecção (Rotman *et al.*, 2009). Tais exames são de fundamental importância não só para o diagnóstico, mas também para o seguimento da infecção, avaliação do estado clínico e da monitorização terapêutica (McMahon, 2009; Rotman *et al.*, 2009).

A confirmação diagnóstica da infecção pelo HBV pode ser realizada pelos ensaios imunoenzimáticos que identificam no soro dos pacientes os antígenos (HBsAg e HBeAg) e anticorpos (anti-HBc, anti-HBe e anti-HBs) presentes nesta infecção e pelos testes de biologia molecular (pesquisa qualitativa e quantitativa do DNA do HBV) (Hoofnagle *et al.*, 1991; Rotma *et al.*, 2009; McMahon, 2009).

### **1.8.1 Testes Sorológicos**

Após o período de incubação, que varia de 30 a 180 dias, e com média de 60 a 90 dias, e de duas a seis semanas antes da icterícia, os antígenos HBsAg e HBeAg já podem ser detectados no soro e são indicativos de replicação viral. O HBsAg é o primeiro marcador a aparecer e sua persistência por mais de seis meses é a definição de doença crônica (Decker, 1998; AASLD 2009).

O HBeAg é o segundo marcador a aparecer, sendo considerado um marcador de replicação. Na doença aguda, tem duração de poucas semanas e quando sua persistência é mais duradoura por oito ou dez semanas é indicativo de infecção crônica. Sua presença está associada com a positividade de DNA e replicação viral no soro e alto risco de transmissão da infecção. Seu desaparecimento na fase aguda da doença sucedido do desaparecimento HBsAg, é sugestivo de evolução para a cura (Decker, 1998). O aparecimento de Anti-HBe evidencia que o indivíduo está diminuindo a replicação viral.

O anti-HBc IgM é o terceiro marcador a aparecer, em resposta ao antígeno do core do HBV, e representa o primeiro sinal de resposta imune após a infecção pelo vírus, sendo o primeiro anticorpo a surgir no soro dos pacientes com infecção recente. Esta fração IgM também pode estar elevada em pacientes com infecção crônica que apresentam períodos de reativação da doença com elevação da enzima ALT (Hoofnagle, 1985). Após dois a três meses do seu surgimento, este marcador será substituído pela fração IgG. O Anti-HBc IgG é um importante marcador de infecção passada. É o marcador presente na janela imunológica, período após a infecção em que não se detecta nem o HBs Ag nem o Anti-HBs.

O último marcador sorológico a surgir é o Anti-HBs. Ele aparece entre uma e dez semanas após o desaparecimento do HBs Ag e está associado ao desenvolvimento de cura e imunidade. Em indivíduos vacinados contra a Hepatite B, ele é encontrado isoladamente (Decker, 1998).

A dinâmica de aparecimento dos marcadores sorológicos varia de acordo com a fase evolutiva da infecção, podendo ser correlacionada com a ocorrência de sinais clínicos e com a elevação de aminotransferases, e sofrer alterações com outras coinfeções (Figuras 6 e 7).

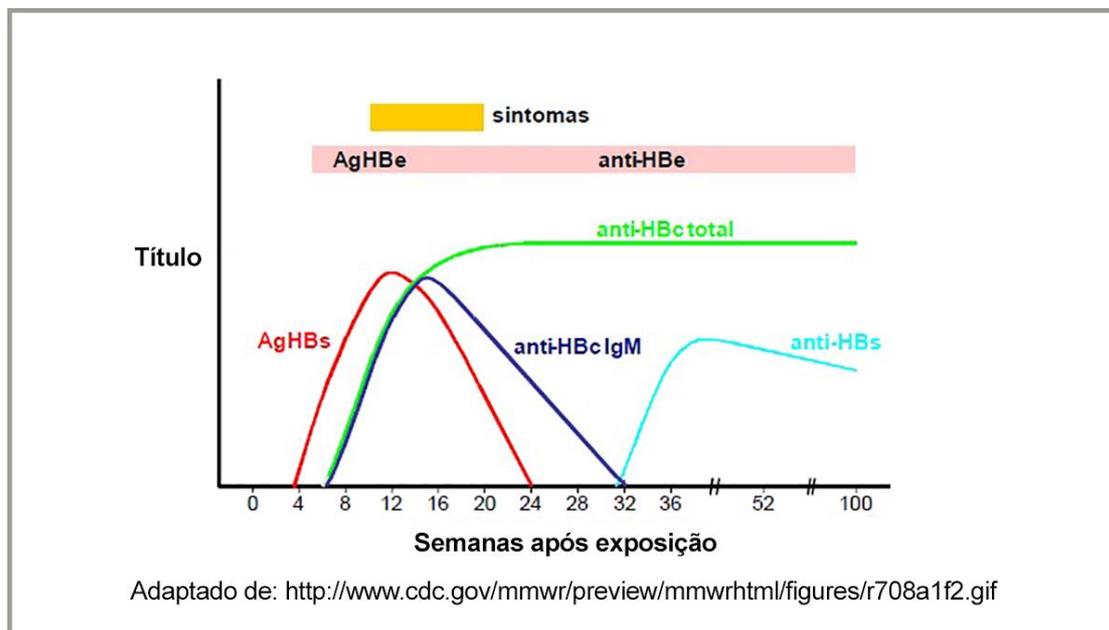


Figura 7. Representação esquemática dos eventos clínicos e sorológicos na Hepatite B aguda.

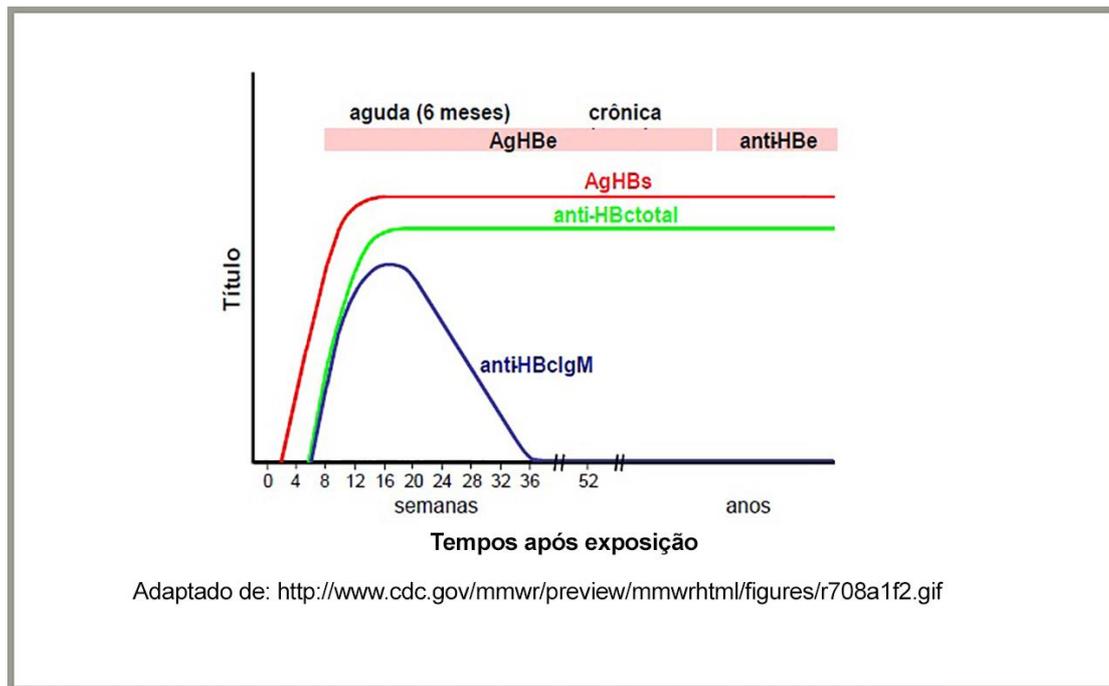


Figura 8. Representação esquemática dos eventos clínicos e sorológicos da Hepatite B crônica.

### 1.8.2 Testes Moleculares

A detecção do DNA do HBV é importante na monitorização da infecção pelo HBV, na identificação de infecção oculta e resposta terapêutica e seguimento. Os métodos moleculares tiveram um desenvolvimento muito importante nas últimas décadas. Dentre estes, os métodos baseados em ácidos nucleicos têm maior sensibilidade, especificidade e custo mais elevado (Datta *et al.*, 2014).

A reação em cadeia de polimerase, do inglês Polymerase Chain Reaction (PCR), é uma técnica de amplificação que transformou todo o campo da pesquisa biológica assim como clínica e diagnóstica (Yang *et al.*, 2004).

A amplificação PCR em tempo real é útil para a quantificação da viremia do HBV. Tem boa sensibilidade, alta precisão, boa reprodutibilidade, limite dinâmico amplo de quantificação e alta especificidade (Datta *et al.*, 2010).

## **1.9 Prevenção**

Em vista da terapia para o tratamento do HBV ainda ser insatisfatória, a prevenção é prioridade. A vacina contra a Hepatite B é extremamente eficaz (90 a 95% de resposta vacinal em adultos imunocompetentes), não apresenta toxicidade e produz raros e pouco significativos efeitos colaterais (Jackobson and Poland, 2004).

A vacina tem estado disponível desde o início da década de 1980 e, a partir dos anos 90, a OMS recomendou que essa vacina fosse incorporada nos programas de vacinação nacionais (Liaw, 2009). Também a partir da década de 1990 o Programa Nacional de Imunizações (PNI), do Ministério da Saúde, recomendou que crianças a partir do seu nascimento fossem vacinadas contra a Hepatite B, nas primeiras 12-24 horas de vida, o que resulta em alta eficácia na prevenção da infecção transmitida verticalmente (Ministério da Saúde, 2014).

Outras medidas preventivas são: informação e aconselhamento dos doentes, como não compartilhar objetos de uso pessoal contaminados (lâminas, escova de dente, tesouras, roupas íntimas etc.); uso de preservativos nas relações sexuais; e uso de luvas e equipamentos de proteção individual no manuseio de sangue e outros fluidos orgânicos (Almeida, 2007).

## **1.10 Tratamento**

Nenhuma forma de tratamento específico encontra-se indicada nas formas agudas sintomáticas da Hepatite B, pois cerca de 95% dos pacientes evoluem para a cura espontânea da infecção com aparecimento de anticorpos anti-HBs (Ferreira, 2000).

O objetivo do tratamento da Hepatite B é reduzir o risco de desenvolvimento de doença hepática associada a complicações, como cirrose e carcinoma hepatocelular (CHC), e pode ser feito com diversas drogas, dentre elas agentes antivirais e interferon. Estudos longitudinais de coortes grandes mostram que pacientes crônicos têm risco de 40% de desenvolver cirrose hepática ao longo da vida e, estes com cirrose

estabelecida têm cerca de 2% a 5% de chance de desenvolver CHC anualmente (Fattovich *et al.*, 2004). Conseqüentemente, cada paciente seria, então, candidato à terapia se o vírus pudesse ser erradicado. Entretanto, as opções terapêuticas atuais apenas conseguem alcançar a supressão viral e geralmente estão associadas a inúmeros efeitos colaterais. E, portanto, a decisão de quando iniciar o tratamento ainda é controversa (Tang *et al.*, 2014)

Em pacientes HBeAg positivos infectados com o vírus selvagem, a soroconversão HBeAg para anti-HBe está associada à redução da morbidade, à descompensação hepática e ao aumento da sobrevida.

Dentre os agentes antivirais estão o entecavir, tenofovir, lamivudina, adefovir, telbivudina, sendo que esta última não é disponível no Brasil. Alguns destes também são usados na terapia antirretroviral de alta potência para o HIV, como é o caso do tenofovir e da lamivudina. E, portanto, para o coinfectado, o início da terapia está indicado em qualquer fase da infecção (Manual Ministério da Saúde, 2013).

O interferon convencional (IFN- $\alpha$ ) tem ação antiviral, antiproliferativa e imunomodulatória. Comparando com os agentes antivirais, uma das vantagens do interferon é a duração limitada do tratamento, sem risco de resistência e mutações (Tawada *et al.*, 2015). O IFN- $\alpha$  se mostrou ser efetivo na supressão da replicação viral do HBV e para induzir a remissão da doença hepática. Entretanto, sua eficácia é limitada (AASLD 2009). A dose administrada é de 5MU diárias a 10MU, três vezes por semana no adulto. A duração é de 16 a 24 semanas no paciente HBeAg positivo. No paciente HBe Ag negativo, deve ser tratado por pelo menos 12 a 24 meses (Lampertico *et al.*, 2003). O interferon peguilado tem meia-vida mais longa e adição de uma molécula de polietilenoglicol de alto peso molecular administrado uma vez por semana.

A lamivudina foi o primeiro antiviral oral aprovado para o tratamento do HBV por inibir a síntese do HBV DNA. Em monoterapia é efetiva em suprimir a replicação do HBV e diminuir a doença hepática. A soroconversão HBeAg para Anti HBe, após 1 ano de tratamento, é similar a 16 semanas de terapia com interferon alfa. A dose recomendada em adultos, sem HIV com função renal normal, é de 100mg/dia e deve ser corrigida no caso de insuficiência

renal. O objetivo do tratamento dos pacientes HBeAg positivos é a soroconversão (Dienstag *et al.*, 1999).

O adefovir é um análogo do nucleotídeo, que age inibindo a HBV DNA polimerase, com eficácia tanto para vírus selvagem como para vírus com mutação YMDD. Adefovir demonstrou significativa melhora virológica, bioquímica e histológica em pacientes virgens HBeAg positivos e negativos (Hadziyannis *et al.*, 2003). Entretanto, o adefovir não é recomendado como droga de primeira escolha para os pacientes HBeAg positivos ou negativos com Hepatite B crônica nos consensos internacionais por ser um dos análogos do nucleotídeo com ação antiviral menos efetiva e possuir grande risco de nefrotoxicidade dose dependente (Hadziyannis *et al.*, 2006).

O entecavir é um análogo da guanosina com potente ação contra o HBV por meio da inibição do DNA polimerase. Administrado na dose de 0,5mg/dia, se mostrou superior à lamivudina e ao adefovir em diversos estudos, tornando indetectável o HBV DNA e normalizando ALT (Lai *et al.*, 2006).

A telbivudina é um análogo do nucleosídeo que apresenta capacidade de supressão da replicação comparável à lamivudina. Embora a barreira genética da telbivudina seja um pouco mais alta que a da lamivudina, o desenvolvimento de resistência é 21,6% em pacientes HBeAg positivo e 8,6% em pacientes HBeAg negativo após um e dois anos de terapia, respectivamente (Kwon and Lok, 2011; Marzio and Hann, 2014).

O tenofovir é um inibidor acíclico do nucleotídeo e potente agente antiviral do HBV ainda sem resistência (You *et al.*, 2014) e aprovado para terapia da imunodeficiência humana. Foi aprovado para terapia do HBV apenas em 2008. Na dose de 300mg/dia, por 48 semanas, induz a supressão viral em 76% dos pacientes HBeAg positivos e 93% dos HBeAg negativos, comparados com apenas 68% e 14%, respectivamente, tratados com adefovir (Marcellin *et al.*, 2008).

### **1.11 Coinfecção HIV-HBV**

Com a introdução da terapia antirretroviral de alta potência (do inglês *Highly Activity Anti Retroviral Therapy* – HAART) em 1996, ocorreu uma

grande diminuição da mortalidade e letalidade em pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Humana (AIDS) por infecções oportunistas e, como consequência, houve aumento da vulnerabilidade a outras infecções, como as hepatites virais B e C (Bodsworth *et al.*, 1991; Puoti *et al.*, 2004; Tavora *et al.*, 2013).

A coinfeção pelo vírus da Hepatite B (HBV) e da imunodeficiência humana (HIV) é frequente porque ambas compartilham as mesmas vias de transmissão. Estudos conduzidos na América do Norte, na Europa e na Austrália mostraram que 5 a 10% de todos os pacientes com HIV também estão infectados pelo HBV (Thio, 2009; Phung *et al.*, 2014).

A infecção pelo HIV tem impacto negativo em todas as fases da história natural da infecção pelo HBV, levando ao aumento nas taxas de cronificação, elevação nos níveis de HBV DNA, menos perda do HBs Ag por comprometer a imunidade celular e humoral (McGovern, 2007; Mendes-Correa *et al.*, 2011). Progressão para fibrose, cirrose e mortalidade relacionada à descompensação hepática são mais frequentes na população com a coinfeção HIV-HBV (Mendes-Correa *et al.*, 2011; Puoti *et al.*, 2009; Konopnicki *et al.*, 2005; Thio *et al.*, 2002). Aproximadamente 10% da população com HIV também é portadora da infecção crônica pelo HBV (Sun *et al.*, 2014).

No Brasil, a prevalência da coinfeção varia de 1,6% a 8,5% segundo diversos estudos (Mendes-Correa *et al.*, 2000; Monteiro *et al.*, 2004; Souza *et al.*, 2004; Tovo *et al.*, 2006; Zago *et al.*, 2007; Portelinha *et al.*, 2009). Segundo Oliveira *et al.*, 2014, a prevalência da coinfeção HIV-HBV no Estado do Piauí é de 6%, com predominância dos genótipos A do HBV (71,8%), F (23,9%) e D (4,3%).

Pacientes com HIV podem ter altos níveis de HBV DNA e necroinflamação com anti-HBc positivo e sem HBs Ag. Isto é chamado de Hepatite B oculta. A infecção oculta pelo HBV é caracterizada pela presença de HBV DNA no sangue e/ou tecido hepático na ausência do marcador HBs Ag no sangue. Pode ser classificada como soropositiva ou soronegativa. Indivíduos soropositivos são positivos para anticorpo do core do vírus da Hepatite B (anti-HBc) com ou sem anticorpo para o antígeno de superfície do

vírus da Hepatite B (anti-HBs), enquanto indivíduos soronegativos são negativos para anti-HBc e anti-HBs. Entretanto, segundo Huang 2014, 50% dos casos de infecção oculta pelo HBV possui todos os marcadores negativos.

As infecções ocultas pelo HBV têm carga viral significativamente menor do que aquelas HBsAg positivas (Stramer *et al.*, 2011) sendo que, em alguns casos, próximas ao limite inferior de detecção pelo método. No Brasil, existem poucos trabalhos sobre a infecção oculta pelo HBV nos pacientes HIV positivos. Um trabalho realizado no Hospital Evandro Chagas em 2008 com 43 pacientes HIV com HBs Ag negativos e anti-HBc total positivos, 6 tiveram HBV DNA positivo no soro (14% de prevalência), com carga viral baixa (Araújo *et al.*, 2008).

Algumas drogas antirretrovirais com ação contra HIV também agem contra o HBV, como é o caso da lamivudina, emtricitabina e tenofovir, que são drogas análogas do nucleosídeo (NA – Nucleoside Analog) (Dore *et al.*, 2004; Hoff *et al.*, 2001; Benhamou *et al.*, 2000). Entretanto, a resistência à lamivudina no paciente com a coinfeção é alta e pode alcançar 90% em 4 anos (Benhamou *et al.*, 2000).

As novas recomendações do Ministério da Saúde para início da terapia antirretroviral para os pacientes com HIV sugerem a dupla de análogos do nucleosídeo tenofovir e lamivudina. Ambas possuem ação também contra o HBV. Sendo o desenvolvimento da resistência um fenômeno comum nos coinfectados, o uso combinado de medicamentos tem sido proposto como estratégia terapêutica (Soriano *et al.*, 2009).

## **2. JUSTIFICATIVA**

As complicações hepáticas se tornaram importante causa de óbito nos pacientes com HIV após o início da terapia antirretroviral da alta potência. Cerca de 15% dos óbitos em pacientes com HIV são causadas por doenças hepáticas (Weber *et al.*, 2006). O manejo clínico da infecção pelo HBV em pacientes infectados pelo HIV ainda representa um desafio.

O Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela é conhecido por ser referência em doenças infecciosas e parasitárias no Estado do Piauí. Atualmente, são acompanhados no ambulatório do Instituto 1.889 pacientes com HIV de diversos estados, principalmente das regiões Nordeste e Norte do País.

A prevalência do HBV em pacientes com HIV varia de 1,6 a 8,5% nas diferentes regiões do Brasil e, no Piauí, é de 6% (Portelinha *et al.* 2009; Mendes-Correa *et al.*, 2000; Monteiro *et al.*, 2004; Souza *et al.*, 2004; Tovo *et al.*, 2006; Zago *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2014).

O HIV altera a história natural da infecção pelo HBV, diminuindo a chance de eliminação do vírus da Hepatite B após a infecção aguda, aumentando o risco de cronificação e até infecção oculta pelo vírus da Hepatite B (Benhamou, 2007; Thio, 2002). Algumas drogas utilizadas na terapia antirretroviral do HIV também têm ação contra o vírus da Hepatite B e outras drogas tem ação hepatotóxica. Outras condições podem acelerar a progressão para a fibrose, como o consumo de álcool, uso de drogas e esteatose hepática.

Este trabalho tem importância na saúde pública pois existem poucos dados na literatura sobre a prevalência de HBV em pessoas convivendo com o HIV no Brasil, principalmente no Estado do Piauí. Além disso, as informações aqui adquiridas poderão contribuir para o conhecimento do impacto sobre a infecção do vírus B em pacientes coinfectados com HIV em nossa região e servirá para conhecermos um pouco as características sociais e epidemiológicas dessas duas infecções na população estudada.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Avaliar a prevalência de infecção pela Hepatite B em pacientes com HIV atendidos num serviço de referência no Piauí.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Avaliar a prevalência dos marcadores do HBV nos pacientes com HIV.
- Identificar possíveis vias de transmissão do HIV e HBV.
- Identificar nos pacientes coinfectados outros agravos, como a infecção com o vírus da Hepatite C (HCV), infecções oportunistas, comorbidades.
- Avaliar a carga viral do HBV no grupo de pacientes em uso de Lamivudina e/ou Tenofovir.
- Associar os níveis de CD4 e CD8 e carga viral do HIV com a exposição ao HBV.

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1 População do Estudo**

Este é um estudo transversal, realizado através de entrevistas com pacientes e baseado no acesso a dados secundários, desenvolvido no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella em Teresina, no Piauí, com a colaboração do Laboratório Central de Saúde Pública do Piauí LACEN-PI. Os pacientes selecionados para o estudo foram 115 portadores de HIV que fizeram acompanhamento no ambulatório do serviço durante o período de abril a julho de 2015, no momento da coleta dos exames de CD4 e carga viral do HIV.

### **4.2 Considerações éticas**

Este estudo foi realizado após aprovação pelo Conselho de Ética em Pesquisa FIOCRUZ – Rio de Janeiro, nº CAAE 38992314.6.0000.5248 (anexo I). Os pacientes que atenderam aos critérios de inclusão foram convidados a participar do estudo. Aqueles que aceitaram, assinaram o termo de consentimento (anexo II) e foram encaminhados à sala de coleta de sangue para CD4 e carga viral do HIV, além das sorologias para as hepatites B e C. No momento da coleta, foi aplicado um questionário (anexo III) para obtenção de informações referentes aos fatores de risco de exposição a coinfeção HIV-HBV.

### **4.3 Critérios de inclusão e exclusão**

Os critérios de inclusão foram: estar matriculados no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella, a positividade para HIV, ser maior de 18 anos, ter assinado o termo de consentimento livre e esclarecido e ter comparecido para coleta de sangue entre abril e julho de 2015. Foram excluídos desse estudo pacientes com dados omissos no prontuário médico em relação à testagem sorológica para Hepatite B.

#### **4.4 O IDTNP - Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella**

O Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella é um hospital da rede Estadual de Saúde subordinado à Secretaria de Saúde do Estado do Piauí (SESAPI) e foi pioneiro no atendimento às doenças infecciosas. Foi criado em 1974 para suprir uma demanda de atendimento causada por uma epidemia de meningite que ocorreu no Estado e, desde então, atende pessoas com doenças infecciosas deste e de outros Estados.

O ambulatório do Serviço tem atualmente 1889 (dados de 2013) pacientes com HIV de cidades do interior do Estado do Piauí, da capital Teresina e de outros estados. O atendimento é disponível a qualquer paciente que queira fazer acompanhamento na instituição.

#### **4.5 Método de criação do banco de dados para armazenamento de informações**

A criação do banco de dados para acesso secundário foi realizada no programa Excel versão 2010. As variáveis categóricas foram codificadas por meio de números e armazenadas neste banco. As informações coletadas nos prontuários médicos e em livros de registros são referentes ao período de abril a julho de 2015. Os dados obtidos são em relação aos aspectos demográficos, epidemiológicos, clínicos e laboratoriais.

As informações inseridas no banco de dados foram:

- A) Características sociodemográficas do paciente: idade, sexo, raça/etnia, município de residência;
- B) Características epidemiológicas: etilismo, vacinação para HBV.
- C) Prováveis vias de transmissão: uso de drogas ilícitas, tatuagens ou *piercings*, uso ou não de preservativos nas relações sexuais, homem que faz sexo com homem (HSH), acupuntura, tratamento dentário, transfusão sanguínea.
- D) Marcadores para Hepatite B: HBsAg, anti-HBc total e anti-HBs.
- E) Marcadores para Hepatite C: anti-HCV.
- E) Contagem de células T-CD4 antes e após iniciar TARV.
- F) Carga viral do HIV antes e após iniciar TARV.

G) Antirretrovirais para HIV: uso de Tenofovir ou Lamivudina na terapia antirretroviral e tempo de uso dessas drogas

H) Comorbidades.

I) Carga vira do HBV.

#### **4.6 Coleta das amostras**

Os pacientes que preencheram critérios de inclusão deste estudo foram convidados a fazer a coleta das amostras, que foram coletadas no Ambulatório do Instituto de Doenças Tropicais Nathan Portela, na mesma ocasião da coleta de CD4 e Carga Viral. Caso o paciente apresentasse sorologia HBsAg positiva, uma nova amostra de sangue era coletada no LACEN – PI, volume de 10ml, congelada a -70° C e armazenada no próprio LACEN para realização dos testes de biologia molecular.

#### **4.7 Marcadores de células T-CD4 e CD8**

Para a determinação da contagem de células T-CD4 e CD8, foi utilizado a citometria de fluxo. O kit utilizado foi BD Biosciences San Jose, USA.

##### **4.7.1.Princípio do teste**

Quando o sangue total foi adicionado ao reagente, os anticorpos associados a fluorocromos se ligaram especificamente a antígenos de superfície de leucócitos. Durante a aquisição, as células passaram por meio de um feixe de laser e dispersam luz. As células marcadas com anticorpos ligados aos fluorocromos emitiram fluorescência. Estes sinais de fluorescência e dispersão detectados pelo instrumento forneceram informações sobre o tamanho da célula, complexidade interna e intensidade relativa da fluorescência. Os reagentes MultiTEST empregam marcadores fluorescentes que permitem a identificação da população de linfócitos por meio de estratégias de *gating* em parâmetros de fluorescência, a fim de reduzir a contaminação de eritrócitos não lisados ou nucleados.

Quando tubos TruCOUNT são usados, um volume conhecido de amostra é marcado diretamente. O *pellet* liofilizado no tubo se dissolve, liberando um número conhecido de esferas fluorescentes. Durante a análise, o número absoluto (células/ $\mu\text{L}$ ) de células positivas na amostra pode ser determinado pela comparação de eventos celulares e de esferas.

#### **4.7.2. Procedimentos**

Para realização do teste de citometria de fluxo, o sangue dos pacientes foi coletado em tubo estéril contendo EDTA, e 100  $\mu\text{L}$  de sangue foi o total necessário para realização do exame. Os reagentes utilizados foram MultiTEST CD3 FITC/CD8 PE/CD45 PerCP/CD4 APC.

Os eritrócitos foram lisados após marcação usando Solução FACS Lysing diluída. Pipetou-se 20  $\mu\text{L}$  de reagente Multi TEST CD3/CD8/CD45/CD4 no fundo do tubo e, depois, 50  $\mu\text{L}$  de sangue total anticoagulado, bem homogeneizado no fundo do tubo. Agitou-se no vortex delicadamente para misturar. As amostras ficaram incubadas no escuro por 15 minutos à temperatura ambiente (20 a 25°C).

Adicionou-se 450  $\mu\text{L}$  de solução FACS Lysing diluída ao tubo e agitou-se no vortex para misturar. Ficou incubada por mais 15 minutos no escuro e à temperatura ambiente (20 a 25°C). Depois deste procedimento, as amostras foram adicionadas no citômetro de fluxo para serem analisadas.

#### **4.8 Extração do HIV**

O kit utilizado para a realização da carga viral do HIV-1 foi Abbott Real Time HIV-1 (Abbott Molecular Inc., Des Plaines, USA), com limite de detecção de 40 cópias/mL até 10 milhões cópias/mL. Utilizou-se 200 $\mu\text{L}$  de amostra e adicionou-se o sistema de preparação de amostra, que consiste em quatro unidades de cada um dos seguintes componentes:

1. Solução de lise m Lysis: Solução Tris 100mM contendo tiocianato de guanidina e detergente.

2. Solução de lavagem 1 m Wash1: solução de acetato de 50mM de tiocianato de guanidina e detergente.
3. Solução de lavagem 2 m Wash2: água livre de nucleasse.
4. Tampão de eluição m Elution Buffer: solução fosfato 20mM com conservante.
5. Micropartículas m Microparticles: 1,5% de micropartículas em 50% de MD130A.

## **4.9 Amplificação do HIV**

A confirmação da infecção pelo HIV foi realizada por meio da detecção e quantificação da carga viral pelo kit Abbott Real Time HIV-1 (Abbott Molecular Inc., Des Plaines, USA). A sequência-alvo para o ensaio está na região *pol integrase* do genoma do HIV-1, uma região que é conservada no genoma do HIV.

### **4.9.1. Princípio do teste**

Durante a reação de amplificação, o RNA alvo foi sintetizado em cDNA pela atividade de transcriptase reversa da enzima termoestável (rTth) DNA polimerase. Após desnaturação do RNA, os oligonucleotides anti-sense do HIV-1 e do controle interno (CI) hibridizaram-se em seus respectivos alvos e ocorreu a extensão da fita molde. Após a síntese do cDNA, iniciou-se a amplificação da fita molde, onde, durante cada ciclo térmico, os produtos da amplificação se dissociaram em fitas únicas sob alta temperatura, possibilitando a hibridização dos oligonucleotideos e a extensão da fita molde. A amplificação exponencial do produto foi obtida pela ciclagem repetida de temperaturas altas e baixas, resultando em amplificação das sequências-alvo de um bilhão de vezes ou mais. A amplificação de ambos os alvos (HIV-1 e CI) ocorreram simultaneamente na mesma reação.

### **4.9.2. Procedimento**

Descongelou-se os calibradores, os controles e o controle interno do ensaio entre 15 e 30°C até o momento do uso. Agitou-se em vortex cada calibrador e cada controle por três vezes durante dois a três segundos antes do uso. Descongelou-se os reagentes de amplificação entre 15 e 30°C.

Com uma pipeta, adicionou-se 500µL de controle interno em cada frasco de tampão *mLysis*. Misturou-se bem, invertendo suavemente para não fazer espuma.

As amostras também foram descongeladas entre 15 e 30°C, agitadas em vortex três vezes por dois a três segundos e centrifugadas a 2000 g por 5 minutos antes de serem colocadas na bancada de trabalho.

Carregou-se os reagentes de amplificação e o frasco da mistura na mesa de trabalho do *m2000sp* após o término da preparação das amostras.

Lacrou-se a placa de reação e colou-se na base de suporte da centrífuga para centrifugar a 5000 g por 5 minutos e transferiu-se para a área de amplificação.

Colocou-se a placa de reação ótica no instrumento Abbott *m2000rt*. Iniciou-se o protocolo correspondente ao volume da amostra em teste.

#### **4.10 Detecção do HIV-1**

Durante a leitura dos ciclos de amplificação, a temperatura foi reduzida ainda mais para permitir a detecção, por fluorescência, dos produtos de amplificação, à medida que as sondas do HIV-1 e CI se hibridizaram em seus alvos. A sonda do HIV-1 tem uma porção fluorescente que se liga na extremidade 5'. Um oligonucleotídeo curto (*quencher* ou desativador) é complementar à extremidade 5' da sonda do HIV-1 e tem uma molécula desativadora em sua extremidade 3'. Na ausência do alvo de HIV-1, a fluorescência da sonda do HIV-1 se extingue por meio da hibridização com o oligonucleotídeo desativador. Na presença da sequência alvo de HIV-1, a sonda do HIV-1 se hibridiza preferencialmente com a sequência alvo, dissociando-se do oligonucleotídeo desativador e permitindo assim a detecção da fluorescência.

As sondas específicas do HIV-1 e CI foram marcadas com um fluoróforo diferente (FAM e VIC respectivamente), possibilitando, assim, a detecção simultânea de ambos os produtos amplificados em cada ciclo (Quadro 3). O ciclo de amplificação, no qual o sinal fluorescente foi detectado, foi proporcional ao logaritmo da concentração de RNA do HIV-1 presente na amostra original.

Quadro 1. Programa para amplificação da região da polimerase do HIV.

Ciclos	Temperatura	Tempo
1 ciclo	59°C	30min
37 ciclos	92°C	30s
37 ciclos	56°C	20s
37 ciclos	35°C	40s

#### 4.11 Testes sorológicos

Para pesquisa dos marcadores sorológicos, foi empregada a técnica do ensaio imunoenzimático (ELISA) utilizando kits comerciais AxSYM® (Abbott, Alemanha, 2014) pela tecnologia de Architect. As amostras foram submetidas à pesquisa de marcadores do HBV: HBsAg, ant-HBc total, anti-HBs. Além disso, foi realizado também a pesquisa do marcador do HCV, anti-HCV. Todos foram realizados pelo LACEN-PI.

#### 4.12 Extração do HBV

Para a extração do DNA do HBV, foi utilizado o kit do fabricante Abbott Real Time HBV (Abbott Molecular Inc., Des Plaines, USA), com limite de detecção de 10 a 1.000.000.000 UI/ml (1 UI= 3,41 cópias).

Utilizou-se 200µL de amostra e adicionou-se o sistema de preparação de amostra que consiste em quatro unidades de cada um dos seguintes componentes mSample Preparation System<sub>DNA</sub>, contendo:

1. Solução de lise: *mLysis<sub>DNA</sub>*: solução de Tris à 100mmol/l de tiocianato de guanidina e detergente.

2. Solução de lavagem 1 *mWash 1<sub>DNA</sub>*: solução de Tris à 100mmol/l de tiocianato de guanidina e detergente
3. Solução de lavagem 2 *mWash 2<sub>DNA</sub>*: água livre de nucleasse
4. Tampão de eluição *mElution Buffer<sub>DNA</sub>*: água livre de nucleasse
5. Micropartículas *mMicroparticles<sub>DNA</sub>*: 8% de micropartículas em cloridrato de guanidina.

#### **4.12.1. Preparação do reagente**

Adicionou-se 70 ml de etanol 94 a 100% no frasco de *mWash 2<sub>DNA</sub>* e este foi marcado para diferenciar-se dos outros. Colocou-se a tampa de segurança e misturou-se por inversão de 10-15 vezes. Transferiu-se o conteúdo para o frasco de *mWash 2<sub>DNA</sub>* com código de barras fornecido com o reagente.

#### **4.13 Amplificação do HBV**

A detecção do HBV-DNA foi realizada utilizando o Kit Abbott Real Time HBV (Abbott Molecular Inc., Des Plaines, USA) com faixa de quantificação de 10 a 1.000.000.000 UI/ml. Este ensaio amplifica o gene de superfície do genoma HBV (gene S) utilizado para detecção e classificação genotípica do HBV.

##### **4.13.1. Princípio do teste**

Durante a amplificação o DNA alvo é amplificado através da enzima Amplitaq Gold Enzyme na presença de deoxinucleotídeo (dNTP) e magnésio. Primeiro, os primers do HBV e controle interno (IC) fazem a hibridização aos seus respectivos alvos e são estendidos pela polimerase. Depois de uma etapa de desnaturação, na qual a temperatura da reação é elevada além do ponto de derretimento do produto de DNA bitorcido, a nova fita de DNA recentemente criada é desnaturada do DNA alvo.

Durante cada ciclo térmico, produtos da amplificação se dissociam para produtos de fita única sob temperatura alta (Quadro 2), permitindo a

hibridização dos oligonucleotídeos e sua extensão conforme a temperatura é diminuída. A amplificação exponencial do produto é atingida por meio de repetidos ciclos entre temperaturas altas e baixas, resultando em um bilhão de dobras ou maior amplificação das sequências alvo.

Esta região S amplificada neste teste é específica para o HBV e encontra-se altamente conservada para a detecção dos genótipos de A a H. A localização da região alvo no terceiro terminal N do gene assegura que o ensaio não é alterado pela mutação YMDD, mutantes de fuga HBsAg, ou mutantes resistentes à droga, pois esta região é essencial para a montagem e a secreção de partículas subvirais, e tolera apenas as mudanças estruturais secundárias.

#### **4.13.2. Procedimentos**

Os reagentes para amplificação foram descongelados entre 15 e 30° C antes de sua utilização. Adicionou-se 17,15 mL de água destilada a um tubo centrífuga de propileno de 50 ml. Pipetou-se 2,45 ml de Proteinase K dentro do recipiente de água e misturou-se por inversão suave de 10 a 15 vezes. O conteúdo foi transferido para um recipiente de reagente e rotulado com a etiqueta de código de barras de Proteinase K. O recipiente foi colocado no carregador de reagente #1, localização 2.

Preparou-se o *mWash 2<sub>DNA</sub>* adicionando 70 mL de Etanol a 94-100% ao frasco *mWash2<sub>DNA</sub>*, conforme descrito na informação do produto Abbott *mSample Preparation System<sub>DNA</sub>*. Agitou-se com o vortex os frascos de controle interno três vezes, por dois segundos, antes do ciclo. Com uma pipeta, adicionou-se 100µL de controle interno (IC) em um frasco de tampão *mLysis*, que foi misturado suavemente de cinco a dez vezes para evitar a formação de espuma.

Inverteu-se os frascos de *mSample Preparation System<sub>DNA</sub>* para assegurar uma solução homogênea e colocou-se os conteúdos nos recipientes de reagentes adequados, de acordo com as instruções de operação do manual de Operação do Abbott *m2000sp*.

Foram colocados os controles positivos alto e baixo nos calibradores e as amostras dos pacientes dentro do rack de amostra *m2000sp*. Colocou-se também os racks transportadores com os reagentes e a placa na área de trabalho e iniciou-se o protocolo de extração de amostra.

#### 4.14. Detecção do HBV

A presença de produtos de amplificação de HBV foi detectada durante a etapa de hibridização e extensão, pela medição de fluorescência da sonda de HBV que se liga ao alvo durante esta etapa.

As sondas de HBV são DNA oligonucleotídeos de molécula única (fita simples) que consistem em uma sequência de sonda com uma porção fluorescente que é covalentemente ligada à extremidade 5' da sonda e uma porção “*quenching*”, covalentemente ligada à extremidade 3' da sonda. Na ausência das sequências alvo de HBV ou de controle interno, a fluorescência da sonda é dissipada. Na presença de alvo de HBV ou controle interno (IC), se ligam especificamente a seus alvos.

Durante a etapa de hibridização dos oligonucleotídeos, a polimerase cliva a sonda que foi pareada a fita molde e o fluoróforo do *quencher*, permitindo a emissão e detecção fluorescência. .

As sondas HBV e controle interno (IC) foram marcadas cada uma com um fluoróforo diferente (FAM e VIC respectivamente), permitindo, assim, a detecção simultânea de ambos os produtos amplificados em cada ciclo (Quadro 2). O ciclo de amplificação no qual o sinal é detectado pelo analisador Abbott *m2000rt* é proporcional ao registro (log) da concentração de HBV DNA presente na amostra original.

Quadro 2. Programa para amplificação da região superfície do HBV.

	Região S do HBV	
Ciclos	Temperatura	Tempo
1	92,5°C	10 min
45	92,5°C	30 seg
45	57°C	1 min

#### 4.15. Análise estatística

Na análise estatística, foram analisadas a associação entre a presença da coinfeção e as variáveis estudadas: sexo, idade, uso de drogas, etilismo, presença de tatuagens e *piercings*, hemotransfusão, acupuntura, uso ou não de preservativos, orientação sexual, CD4 inicial e após início da terapia antirretroviral, carga viral do HIV, presença de marcadores para HBV como HBsAg, anti-HBc total e anti-HBs, vacinação para HBV, presença do anti-HCV, uso de TARV e tempo de uso, carga viral do HBV e presença de comorbidades.

As frequências de positividade para o anti-HBc foram comparadas nos diferentes grupos (análise bivariada) pelo teste de Fisher, com nível de significância estipulado em 5%. As médias de algumas variáveis contínuas foram também comparadas nos grupos positivo e negativo para o anti-HBc, com o teste t de student, também com nível de significância estipulado em 5%. As análises foram realizadas no programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS for windows, release 20.0; SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

## **5. RESULTADOS**

### **5.1 Características sociodemográficas e epidemiológicas da população do estudo**

Foram incluídos no estudo 115 pacientes que aceitaram participar da pesquisa e assinaram o termo de consentimento entre abril e julho de 2015.

As características sociodemográficas e epidemiológicas da população estudada estão dispostas na Tabela 1. A população era composta de 65 pacientes do sexo masculino (56,5%) e 50 do sexo feminino (43,5%), com média de idade de 43,4 anos ( $\pm 11$  anos). A maioria era procedente do Piauí: 84 pacientes (73,04%), Maranhão: 28 pacientes (24,35%), Pará: dois pacientes (1,74%), Bahia: um paciente (0,87%) e 21 (18,26%) já haviam feito hemotransfusão.

A maioria dos pacientes 113 (98,26%) afirmaram não fazer uso regular de preservativos. Entre os pacientes do sexo masculino 16/65 (24,06%), eram homossexuais ou bissexuais (homens que fazem sexo com homens – HSH).

Dos 115 pacientes, 68 haviam feito uso de álcool rotineiramente (59,13%) nos últimos 30 dias.

Os que eram usuários de drogas injetáveis/inaladas somavam nove (7,83%) no total, porém, seis eram do sexo masculino (9,23%) e três do sexo feminino (6%) (IC 95% de 0,149 – 2,643). Vinte pacientes (17,39%) afirmaram usar *piercing*, e 23 (20%) tinham tatuagens. Apenas seis (5,22%) pacientes fizeram acupuntura e 98 (85,22%) fizeram tratamento dentário.

Com relação ao uso da terapia antirretroviral de alta potência (TARV), 105 (96,33%) tinham lamivudina e 45 (41,28%) tinham tenofovir na composição e quatro não faziam uso de TARV. Sessenta e sete tinham esquema vacinal completo para Hepatite B com as quatro doses preconizadas. E a média de HBV DNA foi de  $162 \pm 1728,34$  UI/ML.

Tabela1. Características sociodemográficas da população com HIV atendida no IDTNP entre abril e julho de 2015.

<b>Características</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Sexo</b>		
Masculino	65	56,50
Feminino	50	43,50%
<b>Idade</b>		
Média de idade	43,4 anos	Desvio padrão: ± 11 anos
<b>Procedência</b>		
		%
PI	84	73,04%
MA	28	24,35%
PA	2	1,74%
BA	1	0,87%
<b>Uso de Preservativo</b>		
		%
Sim	2	1,74%
Não	113	98,26%
<b>CD4 inicial</b>		
	473,27	±375,37
<b>CV inicial</b>		
	37341,98	±92484,54
<b>Uso de Álcool</b>		
		%
Sim	68	59,13%
Não	47	40,87%
<b>Transfusão de Sangue</b>		
		%
Sim	21	18,26%
Não	94	81,74%
<b>UDI</b>		
		%
Sim	9	7,83%
Não	106	92,170%
<b>Piercing</b>		
		%
Sim	20	17,39%
Não	90	82,61%
<b>Tatuagem</b>		
		%
Sim	23	20%
Não	92	80%
<b>Uso deTARV</b>		
		%
Sim	106	96,3%
Não	4	3,67%
		%

**Uso de Tenofovir**

Sim	45	41,28%
Não	64	58,720%

**Vacina completa HBV**

		%
Sim	67	58,26%
Não	47	40,86%

---

Em relação aos valores de CD4 e carga viral inicial, foram considerados os primeiros que o paciente tinha no prontuário ou no histórico do SISCEL (Sistema de Controle de Exames Laboratoriais da Rede Nacional de Contagem de Linfócitos CD4+/CD8+ e Carga Viral). E os últimos CD4 e carga viral foram considerados o último valor disponível no momento da coleta dos dados. As médias de CD4 inicial e carga viral inicial são menores do que após o início da terapia antirretroviral.

A média de CD4 inicial é de 473,27 células/ml  $\pm$ 375,37. A média de carga viral inicial é 37.341,98 cópias/ml  $\pm$ 92.484,54. Já a média final de CD4 é de 585,19 células/ml  $\pm$ 330,06. A média de carga viral final é de 13.977,84 cópias/ml  $\pm$  72.359,70.

## **5.2 Avaliação dos marcadores sorológicos para a infecção do HBV e HCV**

A avaliação dos resultados dos marcadores para HBV em prontuários e em banco de dados eletrônico nos permitiu identificar a seguinte frequência de marcadores sorológicos detalhados na Tabela 2. Dos 97 exames HBs Ag realizados, apenas três foram positivos (2,6%). E, entre estes pacientes, a carga viral variou de 96 a 18535 UI/ml.

Foram realizados 98 testes anti-Hbc e, destes, 26 foram positivos (22,6%), ou seja, se expuseram ao vírus em algum momento da vida. Dos 87 Anti-HBs realizados, 44 foram positivos (38,3%). E dos 98 testes realizados para o anti-HCV, somente dois foram positivos (1,7%). Apenas 86 pacientes realizaram sorologia completa para o HBV.

A Tabela 3 mostra o perfil dos marcadores sorológicos encontrados para o HBV. Três eram HBsAg positivos, 30 tinham todas as sorologias

negativas, 34 tinham apenas o marcador Anti-HBs positivo. Dez tinham apenas o Anti-HBc isolado e nove tinham os marcadores HBsAg negativo com Anti-HBc e AntiHBs positivos.

Tabela 2. Frequência de positividade para os diferentes marcadores sorológicos.

<b>Marcador</b>	<b>Positivos/Testados</b>	<b>% de positividade</b>
<b>HBs Ag</b>	3/97	2,6%
<b>Anti-HBc</b>	26/98	22,6%
<b>Anti-HBs</b>	44/87	38,3%
<b>Anti-HCV</b>	2/98	1,7%
<b>Média de HBV DNA</b>	162UI/ml	±1728,34 UI/ml

Tabela 3. Marcadores sorológicos encontrados para o HBV.

<b>Perfil sorológico</b>	<b>Número de pacientes</b>
<b>HBsAg</b>	3
<b>HBsAg não reagente e:</b>	
<b>Anti-HBc-/Anti-HBs-</b>	30
<b>Anti-HBc-/Anti-HBs+</b>	34
<b>Anti-HBc+/Anti-HBs-</b>	10
<b>Anti-HBc+/Anti-HBs+</b>	9
<b>Total</b>	<b>86</b>

### **5.3 Análise do marcador AntiHBc segundo as diferentes características epidemiológicas, clínicas e demográficas da população do estudo**

Em relação à exposição ao HBV, de acordo com a Tabela 4, a presença do marcador anti-HBc, 17 pacientes eram do sexo masculino (30,9%) e nove do sexo feminino (20,9%), 16 eram procedentes do Piauí (22,9%) e oito do Maranhão (32%). Apenas três eram HSH (20%) e 14 homens eram heterossexuais (35%), quatro eram usuários de drogas injetáveis/inaladas (44,4%) e 22 não eram usuários (32,1%).

Dos 20 pacientes que tinham tatuagem, apenas um tinha anti-HBc positivo (5%) e, dos 78 que não tinham tatuagem, 25 tinham exposição ao HBV (32,1%) pvalor = 0,02. E dos que tinham piercing, dois eram anti-HBc positivo (11,8%) e 24 eram positivos (29,6%) sem *piercing*. Dos 58 que faziam uso de álcool, 17 (35%) já tinham exposição prévia ao vírus e dos 40 que não faziam uso de álcool 9 (22,5%) tinham anti-HBc positivo.

Em relação à variável transfusão de sangue, sete pacientes que receberam hemotransfusão (35%) apresentaram o marcador anti-HBc e 19 pacientes que não receberam hemotransfusão (24,4%) apresentaram o marcador.

Dos 83 pacientes que fizeram tratamento dentário, 25 apresentaram anti-HBc positivo (30,1%) e, dos 15 que não fizeram tratamento dentário, um apresentou o marcador (6,7%) pvalor=0,065. Dos quatro pacientes que fizeram acupuntura, um tinha anti-HBc positivo (25%) e dos 94 que não tinham sido expostos a acupuntura, 25 eram positivos para o anti-HBc (26,6%).

No grupo com a coinfeção HIV-leishmaniose visceral, três dos cinco pacientes tinham anti-HBc positivo (60%) e, dos 93 que não tinham a coinfeção, 23 tinham o marcador (24,7%). Já no grupo com a coinfeção HIV-tuberculose, dos oito pacientes, dois eram anti-HBc positivos (25%) e, no grupo sem a coinfeção, dos 90 pacientes, 24 eram positivos para este marcador (26,6%).

No grupo dos 62 pacientes que realizaram o anti-HBc com esquema vacinal completo, 15 tinham anti-HBc positivo (24,2%) e dos 35 que não tinham esquema vacinal completo, 11 eram positivos para o anti-HBc (31,4%).

Tabela 4. Frequência de positividade para o Anti-HBc e diferentes características sociodemográficas.

<b>Característica</b>	<b>Anti-HBc total</b>	<b>%</b>	<b>*p valor</b>
<b>Sexo</b>		<b>%</b>	
Masculino	17/55	30,9%	p= 0,357
Feminino	9/43	20,9%	
<b>Procedência</b>		<b>%</b>	<b>p valor</b>
Piauí	16/70	22,9%	p= 0,424
Maranhão	8/25	32%	
<b>Sexualidade</b>		<b>%</b>	<b>p valor</b>
NHSH	14/40	35%	p= 0,344
HSH	3/15	20%	
<b>Uso de Drogas</b>		<b>%</b>	<b>p valor</b>
Sim	4/9	44,4%	p= 0,24
Não	22/89	24,7%	
<b>Tatuagem</b>		<b>%</b>	<b>p valor</b>
Sim	1/20	5%	p= 0,020
Não	25/78	32,1%	
<b>Piercing</b>		<b>%</b>	<b>p valor</b>
Sim	2/17	11,8%	p= 0,225
Não	24/81	29,6%	
<b>Uso de Álcool</b>		<b>%</b>	<b>p valor</b>
Sim	17/58	29,3%	p= 0,494
Não	9/40	22,5%	
<b>Transfusão de Sangue</b>		<b>%</b>	<b>p valor</b>
Sim	7/20	35%	p= 0,397
Não	19/78	24,4%	
<b>Tratamento Dentário</b>		<b>%</b>	<b>p valor</b>
Sim	25/83	30,1%	p= 0,065
Não	1/15	6,7%	
<b>Acupuntura</b>		<b>%</b>	<b>p valor</b>
Sim	1/4	25%	p= 1,0
Não	25/94	26,6%	
<b>Calazar</b>		<b>%</b>	<b>p valor</b>
Sim	3/5	60%	p= 0,115
Não	23/93	24,7%	
		<b>%</b>	<b>p valor</b>

<b>Tuberculose</b>			
Sim	2/8	25%	p= 1,0
Não	24/90	26,7%	
<b>Vacinação Completa HBV</b>		%	p valor
Sim	15/62	24,2%	p= 0,48
Não	11/35	31,4%	
<b>Uso de Tenofovir</b>		%	p valor
Sim	16/39	41%	p= 0,009
Não	9/57	15,8%	

\*Teste exato de Fisher;

Em relação ao uso do tenofovir, dos 39 pacientes que faziam uso, 16 tinham anti-HBc positivo (41%), e dos 57 que não faziam uso, nove tinham anti-HBc positivo (15,8%) pvalor = 0,009.

A Tabela 5 mostra as médias de contagem de linfócitos CD4 e Carga Viral do HIV, de acordo com a positividade do Anti-HBc.

A média de CD4 inicial no grupo com Anti-HBc positivo foi de 538,4 células/ml e desvio padrão de 462 células/ml. E, no grupo Anti-HBc negativo, a média foi de 452,7 células/ml com desvio padrão de 342,1 células/ml. E a média de CD4 final no grupo Anti-HBc positivo era de 526,38 células/ml com desvio padrão de 324,3 células/ml e no grupo negativo era de 606, três com desvio padrão de 342,9 células/ml (pvalor = 0,314).

A média de carga viral do HIV inicial no grupo Anti-HBc positivo era de 43.996,6 com desvio padrão de 59.015,4 cópias/ml e no grupo negativo era de 67.968,5 com desvio padrão de 125.367,4 cópias/ml (pvalor = 0,343). A média de carga viral final no grupo positivo para o Anti-HBc foi de 49.023,7 com desvio padrão de 43.168,4 cópias/ml. E no grupo negativo para o Anti-HBc foi de 74.648,25 com desvio padrão de 170.982 células/ml.

Tabela 5. Médias de contagem de linfócitos CD4 e Carga Viral do HIV de acordo com a positividade do Anti-HBc.

<b>Anti-HBc</b>		<b>*p valor</b>
	<b>CD4 inicial</b>	
Positivo	538,4 ± 462 cél/ml	p= 0,413
Negativo	452,7 ± 342,1 cél/ml	
	<b>CD4 final</b>	<b>p valor</b>
Positivo	526,38 ± 324,3 cél/ml	p= 0,314
Negativo	606,3 ± 342,9 cél/ml	
	<b>Carga Viral HIV inicial</b>	<b>p valor</b>
Positivo	43996,6 ± 59015,4 cópias/ml	p= 0,343
Negativo	67968,5 ± 125367,4 cópias/ml	
	<b>Carga Viral HIV final</b>	<b>p valor</b>
Positivo	49023,7 ± 43168,4 cópias/ml	p= 0,599
Negativo	74648,25 ± 170982,0 cópias/ml	

\*Teste t de Student.

#### 5.4 Positividade do AntiHBs segundo *status* vacinal

Dos 57 pacientes com esquema vacinal completo para Hepatite B, apenas 31 (54,4%) fizeram a soroconversão para o antiHBs e 12 de 29 (41,4%) pacientes sem a vacinação ou com vacinação incompleta conseguiram a soroconversão conforme demonstrado na Tabela 6.

Tabela 6. Frequência de positividade para o antiHBs de acordo com o *status* vacinal.

<b>Vacina Completa HBV</b>	<b>Anti HBS</b>	<b>%</b>	<b>*p valor</b>
Sim	31/57	54,4%	p= 0,362
Não	12/29	41,4%	

\*Teste exato de Fisher.

## **6. DISCUSSÃO**

A coinfeção HIV-HBV é comum porque ambos os vírus compartilham as mesmas vias de transmissão e as consequências desta coinfeção na progressão da fibrose hepática é um sério problema de saúde pública em todo o mundo. Estima-se que cerca de 10% dos pacientes com HIV também estejam infectados com o HBV e a mortalidade relacionada ao fígado é 17 vezes maior do que na população mono infectada pelo HBV (Parvez, 2015; Sun *et al.*, 2014).

O manejo da coinfeção HIV-HBV ainda constitui um desafio para os médicos e para os pacientes. Algumas drogas de terapia antirretroviral são aprovadas para uso na terapia da Hepatite B como tenofovir e a lamivudina e são extremamente eficientes em pacientes coinfectados pelo HIV (Matthews *et al.*, 2008).

Neste estudo de prevalência da coinfeção HIV-HBV, a população era composta, em sua maioria, de pacientes do sexo masculino com 56,5% (65/115) e 43,5% do sexo feminino (50/115), apresentando uma razão entre sexos de 13 homens para cada 10 mulheres. No último boletim epidemiológico de HIV-AIDS do Ministério da Saúde (MS) de 2014, a razão de sexo para a região Norte e Nordeste era de 17 casos em homens para cada 10 casos em mulheres. A média de idade no estudo foi de 43,4 anos, mas segundo o boletim a maior concentração de casos de AIDS encontra-se na faixa etária de 20 a 39 anos. A maioria dos pacientes eram procedentes dos Estados do Piauí 84 (73,4%) e Maranhão 28 (24,35%) por serem Estados muito próximos.

A maioria dos pacientes 98,26% (113/115) não fazia uso regular do preservativo, o que é um indicativo de que a transmissão sexual do HIV ainda é a mais frequente forma de transmissão nessa população. Segundo o último boletim epidemiológico, em indivíduos acima de 13 anos este é o tipo de exposição mais comum, correspondendo a 94,9% entre homens e 97,4% entre as mulheres.

E entre os pacientes do sexo masculino, 24,06% (16/65) eram homossexuais/bissexuais (HSH). Estes dados mostram que a maioria eram

heterossexuais e que a epidemia de do HIV ocorre predominantemente neste grupo. Segundo o relatório do MS de 2014, para o sexo masculino, maiores de 13 anos, o percentual de casos notificados com transmissão sexual foi: homossexual - 26,6%; bissexual - 13,2%; heterossexual - 41,1%.

Quase 60% (68/115) dos pacientes haviam feito uso de álcool nos últimos 30 dias. O consumo de álcool é muito prevalente em indivíduos infectados pelo HIV, cerca de três vezes maior do que na população geral (Chander, 2011). E ainda esses indivíduos frequentemente são viciados em mais de uma substância, seja ela tabaco, cocaína, metanfetamina, cocaína e os efeitos neurotóxicos podem ser graves (Lucas, 2012; Kumar *et al.*, 2012).

Quanto ao uso de drogas inaladas/injetáveis, apenas 9/115 pacientes admitiram ter feito uso, sendo que 9,23% (6/65) eram do sexo masculino e 6% (3/50) eram do sexo feminino (IC 95% de 0,149 – 2,643). O que não difere muito de um estudo realizado por Martins e colaboradores em Santa Catarina, onde a população usuária de drogas foi 11,3% (34/300).

Em relação aos comportamentos de risco, 23 pacientes tinham tatuagens (20%) e 20 (17,39%) tinham *piercings*. A maioria dos pacientes, ou seja, 85,22% (98/115) já tinham feito tratamento dentário e apenas seis pacientes relataram ter feito acupuntura. Vinte e um pacientes (18,26%) já tinham feito hemotransfusão em algum momento da vida. De acordo com o mais recente boletim epidemiológico do Ministério da Saúde, apesar se serem considerados comportamentos de risco em ambos os sexos, a transmissão do HIV ocorre em menos de 10% por essas vias. Já em relação ao HBV, os mecanismos mais prováveis de infecção são contato sexual (61,3%), seguido de contato domiciliar (13,3%), transmissão vertical (3%), transfusão (1,7%), uso de drogas (0,9%), hemodiálise (0,3%) e outros (19%), segundo o Boletim Epidemiológico das Hepatites Virais 2012.

Dos 115 pacientes do estudo, quatro não faziam uso de TARV. Muitos, 96,33% (105/115), tinham lamivudina na composição do esquema e 41,28% (45/115) tinham tenofovir. Em 2013, o Ministério da Saúde do Brasil (MS) lançou um novo protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para o manejo da infecção pelo HIV em adultos. Neste protocolo, ficou indicado o início da terapia para todos os pacientes, independente dos níveis de CD4, pois tem-se observado redução da morbimortalidade com início mais precoce da

TARV e diminuição da transmissão do HIV (MS – 2013). Estas duas drogas são inibidores da transcriptase reversa análogos do nucleos(t)ídeo com ação contra o HBV e fazem parte da composição do esquema preferencial de recomendação do Ministério da Saúde por apresentar um perfil de toxicidade favorável em relação à lipoatrofia e à toxicidade hematológica e permite uma tomada única diária. Tem como sua principal desvantagem a nefrotoxicidade tubular (MS – 2013).

Na comparação entre a carga viral e a taxa de CD4 no início do tratamento e na última testagem disponível no prontuário, foi observado que a média de CD4 inicial foi de 437,27 célula/ml  $\pm$ 375,37 e a média de carga viral inicial do HIV foi de 37.341,98 cópias/ml  $\pm$ 92.484,54. Já a média final de CD4 e da carga viral, última testagem após início da terapia antirretroviral, foi de 585,19 células/ml  $\pm$  330,06 e 13.977,84 cópias/ml  $\pm$  72.359,70, respectivamente. Estes dados mostram que houve uma redução da carga viral e o aumento de CD4 no período analisados. Desde que o tratamento para HIV foi implementado, vários trabalhos mostram que ocorre uma rápida supressão da replicação viral e um progressivo reabastecimento dos linfócitos T-CD4 e restauração dos linfócitos CD4 de memória pré-existentes (Riou *et al.*, 2015). Além disso, o uso dos antirretrovirais representa uma potente intervenção para a prevenção da transmissão do HIV. Em um estudo recente, foram avaliados 1763 casais sorodiscordantes com contagens de linfócitos T CD4 entre 350 e 550 para início precoce de tratamento ou para iniciar quando a contagem de linfócitos caísse abaixo de 250 células/mm<sup>3</sup>. O que se observou foi 39 episódios de transmissão, dos quais 28 foram vinculados ao parceiro infectado e apenas um ocorreu nos que iniciaram a terapia precocemente. Neste estudo, foi demonstrada a diminuição de 96% na taxa de transmissão quando se iniciava a terapia com contagem de CD4 entre 350 e 550 células/mm<sup>3</sup> (Fogel *et al.*, 2013).

Neste estudo, as prevalências HBsAg, Anti-HBc e anti-HBs foram de 2,6%; 22,6% e 38,3%, respectivamente. Segundo o último Boletim Epidemiológico dados do inquérito realizado entre os anos de 2005 a 2009 no Brasil, a prevalência global do marcador Anti-HBc, na população não infetada pelo HIV, foi de 7,4%. Para a região Nordeste do Brasil, as prevalências dos

marcadores HBsAg e Anti-HBc foram, respectivamente, 0,42% e 9,13%, classificando esse conjunto como de baixa endemicidade.

As prevalências encontradas no nosso estudo foram menores do que as encontradas em estudo anterior por Oliveira e colaboradores realizado no Piauí em 2014, que encontrou prevalência de 6% para o HBsAg em portadores de HIV no Estado do Piauí. Em São Paulo, as prevalências de HBsAg e Anti-HBc são 5,7% e 38,6% em portadores de HIV acompanhados em um Serviço de Referência (Mendes-Correa *et al.*, 2000). Porém, as prevalências de HBsAg e Anti-HBc foram semelhantes às encontradas em Santa Catarina em 2014 por Martins e colaboradores, que foram de 2,3% e 29,3% respectivamente, convivendo com HIV. Em outras cidades, a prevalência do HBsAg e Anti-HBc total em população com HIV são maiores como em Belém 7,9% e 51%, respectivamente (Monteiro *et al.*, 2004), Campinas 5,3% e 44% respectivamente (Pavan *et al.*, 2003) e Cuiabá 3,7% e 40%, respectivamente (Almeida Pereira *et al.*, 2006).

Em relação à coinfeção com outros patógenos, foi observado que a prevalência de anti-HCV foi de apenas 1,7%, enquanto em outras regiões, como São Paulo, por exemplo, foi de 17,7% (Mendes-Correa *et al.*, 2000), porém, foi mais baixa do que em outro estudo realizado em 2012 por Oliveira-Filho e colaboradores no mesmo estado que encontrou prevalência de 6,8%. O CD4 nestes dois pacientes variou de 577 a 1731 células/ml. Em estados vizinhos, como o Ceará, Távora e colaboradores encontraram prevalência de 5,4% de coinfeção HIV-HCV. No Mato Grosso do Sul, a prevalência desta coinfeção foi de 6,9% (Freitas *et al.*, 2014). Na população em geral, a prevalência de positividade sorológica indicativa de exposição ao vírus C, na faixa etária entre 10 e 69 anos, é de 1,38%, o que corresponde a uma baixa endemicidade para esse agravo, segundo estudo de prevalência realizado entre os anos de 2005 a 2009. Já para a região Nordeste, esta prevalência é de 0,7% (Boletim Epidemiológico das Hepatites Virais – 2012).

Oitenta e seis pacientes realizaram sorologia completa para o HBV. Destes, 30 tinham todos os marcadores negativos, ou seja, nunca tinham sido expostos ao HBV e nem tinham sido imunizados; 34 tinham apenas o Anti-HBs, ou seja, tinham resposta vacinal; dez tinham apenas o marcador Anti-HBc indicando contato prévio com o vírus; nove tinham Anti-HBc e Anti-

HBs sugerindo resolução da doença e três tinham o HBsAg com Anti-HBc positivos, ou seja, doença em atividade. O marcador Anti-HBc isolado pode ser encontrado em algumas condições como em indivíduos coinfectados com o HIV ou com o HCV, usuários de drogas e mulheres grávidas, pode ainda significar, dependendo da técnica utilizada, um exame falso positivo, um portador crônico com níveis baixos de HBV DNA (Pondé *et al.*, 2010).

Em relação a coinfeção HIV/HBV na população estudada, foi encontrado 2,6% (3/115) de coinfeção HIV/HB. Em estudo prévio em doadores de sangue do Piauí, a prevalência de HBsAg foi de 2% (Araujo *et al.*, 2012). Em um estudo realizado em Salvador em mulheres soropositivas, a prevalência de coinfeção com HBV foi 3,2% e, com HCV, foi 8,1% (Travassos *et al.*, 2012). Em Presidente Prudente-SP, a prevalência da coinfeção HIV-HBV encontrada foi de 0,4% e a prevalência de HIV-HCV foi de 4% (Portelinha-Filho *et al.*, 2009) e, em estudo recente realizado em Goiânia, encontram uma prevalência de coinfeção HIV-HBV de 3,8% e, de HIV-HCV, de 9,7%, em 2015 (Brandão *et al.*, 2015). De acordo com a OMS, a prevalência de HBsAg entre 2% até 7% é considerada como média endemicidade.

Em relação a exposição prévia ao HBV, 26 de 98 pacientes testados tinham o marcador Anti-HBc positivo.

Destes, 30,9% (17/55) eram do sexo masculino e 20,9% (9/43) eram do sexo feminino. A maioria era procedente do Piauí 22,9% (16/70) e Maranhão 32% (8/25). Em relação à variável sexualidade, dentre todos os pacientes testados, no grupo HSH 20% (3/15) tinham Anti-HBc total positivo e, no grupo heterossexual, 35% (14/40). Dos pacientes que afirmaram ter feito uso de drogas 44,4% (4/9) tinham o marcador Anti-HBc total positivo. Nenhuma das variáveis foi estatisticamente significativa.

Um achado interessante foi que no grupo que tinha tatuagem apenas um paciente apresentava anti-HBc positivo (5%) e, no grupo que não tinha, 25 eram anti-HBc positivo (32,1%) p valor=0,02. Dos 17 que tinham *piercing*, apenas dois eram positivos para o anti-HBc (11,8%). Sabe-se que alguns comportamentos de risco como múltiplos parceiros sexuais, não uso de preservativos, tatuagens e *piercings*, compartilhamento de seringas e uso de

drogas injetáveis e inaladas facilitam a aquisição tanto do HIV como das hepatites virais (Sun *et al.*, 2014;)

Em relação ao uso de álcool, 58 pacientes relataram ter feito o uso de álcool nos últimos 30 dias. Destes, 29,3% (17/58) eram Anti-HBc positivos. Quase todos os pacientes fizeram tratamento dentário. De 83 que fizeram, 25 (30,1%) eram positivos e, dos que não fizeram, 1 (6,7%) eram negativos. Apenas um paciente que fez acupuntura possuía o marcador Anti-HBc (25%) positivo e 25 (26,6%) não fizeram acupuntura. Dos pacientes que já haviam feito hemotransfusão, 7 (35%) tinham Anti-HBc positivo e 19 (24,4%) no grupo que não tinha feito hemotransfusão tinham o marcador  $p > 0,05$ . Sendo assim, nenhum comportamento de risco foi significativo na prevalência do anti-HBc.

A coinfeção HIV e Hepatite B acomete cerca de três a seis milhões de pessoas no mundo. Na última década, a mortalidade por doenças oportunistas em pessoas vivendo com HIV reduziu drasticamente devido a introdução das drogas antirretrovirais e as doenças crônicas e, em especial, as hepatites virais se tornaram uma das principais causas de morbimortalidade nessa população (Martínez *et al.*, 2007; Soriano *et al.*, 2009). A infecção pelo HIV altera a história natural da infecção pelo HBV, dificulta a eliminação do HBsAg, e facilita a progressão para fibrose. Conseqüentemente, aumenta a mortalidade relacionada a causas hepáticas quando comparada com a população mono infectada pelo HBV ou HIV (Puoti *et al.*, 2006)

No grupo com a coinfeção HIV-leishmania, 60% (3/5) tinha o marcador de contato para o HBV positivo. Destes pacientes Anti-HBc positivos com a coinfeção, apenas um recebeu transfusão de sangue. No nosso estudo, não foi possível verificar se estes pacientes tiveram contato com o HBV antes ou depois da infecção pelo HIV. Mas sabe-se que a infecção HIV-Leishmaniose visceral pode causar inúmeras complicações como anemia, plaquetopenia, perda de peso, fenômenos hemorrágicos, icterícia, edema, febre, hepatoesplenomegalia, sepse, convulsões e levar à morte (Lima *et al.*, 2013; Távora *et al.*, 2015). O CD4 inicial desses pacientes variou de 12 a 456 células/ml.

Já no grupo dos pacientes com a coinfeção HIV-Tuberculose, dos oito pacientes deste grupo, dois tinham o Anti-HBc positivo. Em estudo realizado no Reino Unido (Nooredinvand *et al.*, 2015), verificou-se que a prevalência de HBV em pacientes com tuberculose foi de 2,6%, quase nove vezes maior do que na população geral, e a prevalência do Anti-HBc foi de 16,8% e ainda sugere a investigação de HBV e HCV para todos os indivíduos com a coinfeção HIV-Tuberculose. No Brasil, a prevalência da coinfeção HIV-Tuberculose é de 19% entre os adultos (maiores de 15 anos) e os principais fatores associados são o sexo masculino, a baixa escolaridade, ser jovem (faixa etária de 20-39 anos) e a baixa renda (Batista *et al.*, 2013; Prado *et al.*, 2014). Não existem dados sobre a tripla infecção HIV, tuberculose e Hepatite B no Brasil.

Ainda em relação à categoria exposição ao HBV, dos 39 pacientes que fazem uso de tenofovir, 16 (41%) apresentaram o marcador Anti-HBc positivo e, no grupo que não fazia uso, nove (15,8%) eram positivos,  $p$ valor=0,009. Isto significa que muitos pacientes que se expuseram ao vírus estão fazendo uso do tenofovir, que faz parte do esquema recomendado pelas novas diretrizes terapêuticas para o manejo da infecção pelo HIV do Ministério da Saúde de 2013 (Portaria nº 29 de 17 de dezembro de 2013).

Quando se comparou as cargas virais iniciais do HIV nos grupos expostos e não expostos ao HBV, as cargas virais são mais baixas no grupo Anti-HBc positivo ( $43.996,6 \pm 59.015,4$  cópias/ml e  $67.968,5 \pm 125.367,4$  cópias/ml respectivamente)  $p$ valor>0,05. O mesmo aconteceu quando se comparou as cargas virais finais nos dois grupos. O grupo positivo apresentou carga viral menor que o grupo negativo ( $49.023,7 \pm 43.168,4$  cópias/ml e  $74.648,25 \pm 170.982$  cópias/ml)  $p$ valor>0,05. Portanto, não se pode concluir que o HBV tenha impacto na infecção pelo HIV. Vários estudos demonstram que o HIV altera a infecção pelo HBV, mas o contrário não é verdadeiro. Esses estudos demonstraram que a infecção pelo HBV não levou à progressão do HIV (Scharschmidt *et al.*, 1992; Nikolopoulos *et al.*, 2009).

Em relação à vacinação para o HBV, dos 57 pacientes com vacinação completa e que realizaram sorologia, ou seja, as quatro doses preconizadas no Brasil (Manual dos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais

– 2014), apenas 31 (54,4%) fizeram a soroconversão. E no grupo sem a vacinação completa dos 29, 12 (41,4%) soroconverteram.

É sabido que pacientes infectados pelo HIV têm resposta inferior a vacina contra o HBV comparados a uma população não infectada (Filipelli *et al.*, 2014). Apenas 20-62% dos pacientes HIV fazem soroconversão após a vacina, enquanto mais de 90% de pessoas não infectadas fazem a soroconversão. A baixa soroconversão para anti-HBs é explicada devido ao fato que o desenvolvimento de anticorpos envolve não apenas a resposta celular dos linfócitos-T, mas também a imunidade humoral e a apresentação do antígeno (Landrum *et al.*, 2010; Allen *et al.*, 2015).

Apesar da baixa soroconversão em relação a população não infectada, a vacina é preconizada para os portadores de HIV. Uma vez que a coinfeção, HIV/HBV altera o curso da infecção pelo HBV com menos chance de eliminação do HBsAg, progressão mais rápida para fibrose e mais mortes por causas hepáticas (Phung *et al.*, 2014; Sun *et al.*, 2014). Estima-se em 10% a prevalência da coinfeção HIV-HBV mesmo em áreas onde a vacinação já foi implantada. Além disso, o HBV pode aumentar o risco de hepatotoxicidade quando combinado com as drogas da terapia antirretroviral (Phung *et al.*, 2014; Sun *et al.*, 2014).

No grupo com esquema vacinal completo, 15 (24,2%) tinham o marcador positivo para Anti-HBc e, no grupo que não tinha a vacinação completa, 11 (31,4%) tinham o marcador positivo. A presença do marcador provavelmente seja explicada pela vacinação após a exposição ao vírus ou infecção passada pelo HBV.

Os dados apresentados neste trabalho mostram a importância da conscientização para as infecções sexualmente transmissíveis entre os portadores de HIV, uma vez que 98,26% (113/115) dos participantes não usavam preservativos, 22,6% (26/115) já haviam tido contado prévio com o HBV e apenas 58,2% (67/115) haviam realizado o esquema completo de vacinação para o HBV. Dentro deste contexto, os resultados aqui apresentados poderão servir de base para o programa DST/AIDS no Estado do Piauí.

## **7. CONCLUSÕES**

- A prevalência da coinfeção HIV-HBV no serviço de referência em nosso estudo foi de 2,6%.
- A presença de outros marcadores como Anti-HBc total foi de 22,6%, Anti-HBs foi de 38,3% e Anti-HCV, de 1,7%.
- A principal via de transmissão das duas infecções foi a sexual.
- Nos pacientes coinfectados, não se pode associar infecções oportunistas, assim como afirmar se aconteceram antes ou após a coinfeção.
- A carga viral do HBV no grupo em uso de lamivudina e tenofovir foi considerada baixa.
- A carga viral inicial do HIV no grupo de pacientes expostos é mais baixa.

## **8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- AASLD Practice Guideline Update - Chronic hepatitis B: update 2009. Lok AS, McMahon BJ. *Hepatology*. 2009 Sep; 50(3):661-2.
- Allen K, Mesner O, Ganesan A, O'Bryan TA, Deiss RG, Agan BK, Okulicz JF. Association between hepatitis B vaccine antibody response and CD4 reconstitution after initiation of combination antiretroviral therapy in HIV-infected persons. *BMC Infect Dis*. 2015 May 1;15:203.
- Almeida EM. Aspectos bioquímicos da infecção pelo vírus da hepatite B. 2007. In: [www.cienceduc.com/servicos-online/.../51-monografiahepatite-b.html](http://www.cienceduc.com/servicos-online/.../51-monografiahepatite-b.html).
- Almeida J, Rubenstein D, Stott E. New antigen-antibody system in Australia-antigen-positive hepatitis. *Lancet* 1971;2 (7736):1225-1227.
- Almeida Pereira RA, Mussi AD, de Azevedo e Silva VC, Souto FJ. Hepatitis B Virus infection in HIV-positive population in Brazil: results of a survey in the state of Mato Grosso and a comparative analysis with other regions of Brazil. *BMC Infect Dis*. 2006 Feb 25;6:34.
- Alvarado-Mora MV, Botelho L, Gomes-Gouvêa MS, Souza VF, Nascimento MC, Pannuti CS, Carrilho FJ, Pinho JRR. Detection of hepatitis B virus subgenotype A1 in Quilombo community from Maranhão, Brazil. *Virology Journal* 2011;8:415-420.
- Araújo NM, Branco-Vieira M, Silva ACM, Pilotto JH, Grinsztejn B, Almeida AJ, Gomes SA. Occult hepatitis B virus infection in HIV-infected patients: Evaluation of biochemical, virological and molecular parameters *Hepatol Res* 2008;38: 1194-1203.
- Araújo TM, Sá LC, Santos AS, Faustino SK, Tapety FI, Mesquita GV. Prevalência da hepatite B em usuários do laboratório central do Piauí. 2012 *Rev Enferm UERJ* 20:229-234.
- Arauz-Ruiz P, Norder H, Robertson BH, Magnus LO. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J Gen Virol*. 2002; 83:2059-2073.
- Bancroft W, Mundon F, Russel P. Detection of additional antigenic determinants of hepatitis B antigen. *J Immunol* 1972; 109:842-848.

- Batista JD, de Albuquerque M de F, Maruza M, Ximenes RA, Santos ML, Montarroyos UR, Miranda-Filho D, Lacerda HR, Rodrigues LC. Incidence and risk factors for tuberculosis in people living with HIV: cohort from HIV referral health centers in Recife, Brazil. 2013 PLoS One May 10;8(5):e63916.
- Benhamou Y, Bochet M, Thibault V, et al. Long-term incidence of hepatitis B virus resistance to lamivudine in human immunodeficiency virus-infected patients. *Hepatology* 2000;31:1030-1031.
- Benhamou Y. Hepatitis B in the HIV-coinfected patient. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2007;1:1:S57-65.
- Blumberg B, Alter H, Visnich S. A new antigen in leukemia sera. *JAMA* 1965; 541-546.
- Bodsworth NJ, Cooper D, Donovan B. The influence of human immunodeficiency virus type 1 infection on the development of the hepatitis B virus carrier state. *J Infect Dis*. 1991;163:1138-40.
- Bortolotti F, Guido M, Bartolacci S, et al. Chronic hepatitis B in children after e antigen seroclearance: final report of a 29-year longitudinal study. *Hepatology* 2006;43(3):556-562.
- Braga WS, Brasil LM, de Souza RA, Castilho M, Fonseca JC. The occurrence of hepatitis B and delta virus infection within seven Amerindian ethnic groups in the Brazilian western Amazon. *Rev Soc Bras Med Trop* 2001;34(4):349-355.
- Braga WS, Silva EB, Souza RA, Tosta CE. Seroprevalence of hepatitis B and malaria infection in Labrea, Brazilian western Amazon: estimates of co-infection rates. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005;38(3):218-223.
- Brandão NA, Pfrimer IA, Martelli CM, Turchi MD. Prevalence of hepatitis B and C infection associated factors in people living with HIV in Midwestern Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2015 Jul-Ago;19(4):426-430.
- Carey WD. The prevalence and natural history of hepatitis B in the 21<sup>st</sup> century. *Cleve Clin J Med*. 2009 May;76 Suppl 3:S2-5.
- Chan HL, Leung NW, Hussain M, Wong ML, Lok AS. Hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B in Hong Kong. *Hepatology* 2000;31(3):763-768.

- Chander G. Addressing alcohol use in HIV-infected persons. *Top Antivir Med* 2011; 19:143-7.
- Chang MH, Hsu HY, Hsu HC, Ni YH, Chen JS,. The significance of spontaneous hepatitis Be antigen seroconversion in childhood: with special emphasis on the clearance of hepatitis B e antigen before 3 years of age. *Hepatology* 1995;22(5):1387-1392.
- Chottiyaputta W, Lok AS. Hepatitis B virus variants. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2009 Aug;6(8):453-462.
- Clarke B, Bloor S. Molecular Genotyping of Hepatitis B Virus . *J. Clinl Virol.* 2002; 25: S41-S45.
- Conde SR, Mória LJ, Barbosa MS, Amaral IS, Miranda EC, Soares MC, Brito EM, Souza OS, de Araújo MT, Demachki S, Rebello JR, Mesquita MG, Denis AB, Ishak R. Prevalence of hepatitis B virus genotype and the occurrence of precore mutation A-1896 and to correlate them with the clinical presentation of chronic hepatitis in a population group of the Eastern Amazon region. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2004;37 Suppl 2:33-9.
- Cornberg M, Protzer U, Dollinger MM, et al. Prophylaxis, diagnosis and therapy of hepatitis B virus (HBV) infection: the German guidelines for the manegement of HBV infection. *Z Gastroenterol* 2007;45(12):1281.
- Croagh CM, Desmond PV, Bell SJ. Genotypes and viral variants in chronic hepatitis B: A review of epidemiology and clinical relevance. *World J Hepatol.* 2015 Mar 27;7(3):289-303.
- Dane D, Cameron C, Briggs M. Virus-like particles in serum of patientes with Australia-antigen-associated hepatitis. *Lancet* 1970; 1(7649):695-698.
- Datta S, Chatterjee S, Veer V. Recent advances in molecular diagnostics of hepatitis B virus. *World J Gastroenterol.* 2014 Oct 28;20(40):14615-25.
- Davis GL, Hoofnagle JH, Waggoner JG. Spontaneous reactivation of chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology.* 1984 Feb;86(2):230-5.
- Decker RH. Diagnosis of acute and chronic hepatitis B. In: ZUCKERMAN AJ, THOMAS HC, editors. *Viral hepatitis: Scientific basis and clinical manegement.* 2<sup>nd</sup> ed. London: Churchill Livingstone; 1998. P.201-15.
- Dienstag JL, Schiff ER, Wright TL, et al. Lamivudine as initial treatment for chronic hepatitis B in the United States. *New Engl J Med* 1999;34(17):1256-1263.

- Dore GJ, Cooper DA, Pozniak AL, et al. Efficacy of tenofovir disoproxil fumarate in antiretroviral therapy-naive and experienced patients coinfecting with HIV-1 and hepatitis B virus. *J Infect Dis* 2004; 189(7):1185-1192.
- Fattovich G, Giustina G, Schalm SW, et al. Occurrence of hepatocellular carcinoma and decompensation in western European patients with cirrhosis type B. The EUROHEP Study Group on Hepatitis B Virus and Cirrhosis. *Hepatology* 1995;21(1):77-82
- Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, Donato F. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. *Gastroenterology* 2004; 127: S35-S50.
- Filipelli M, Lionetti E, Gennaro A, Lanzafame A, Arrigo T, Salpietro C, La Rosa M, Leonardi S. Hepatitis B vaccini by intradermal route in non responder patients: an update. *World J Gastroenterol* 2014 Aug 14;20(30):10383-10394.
- Ferreira, MS. Diagnóstico e tratamento da hepatite B. *Rev Soc Bras Med Trop* 2000 33(4):389-400.
- Focaccia R, da Conceição OJ, Sette H Jr, Sabino E, Bassit L, Nitrini DR, Lomar AV, Lorenço R, Vieira de Souza F, Kiffer CR, Santos EB, Gonzales MP, Sáez-Alquizar A, Riscal JR, Fisher D. Estimated Prevalence of Viral Hepatitis in the General Population of the Municipality of São Paulo, Measured by a Serologic Survey of a Stratified, Randomized and Residence-Based Population. *Braz J Infect Dis*. 1998 Dec;(2):269-284.
- Freitas SZ, Teles SA, Lorenzo PC, Puga AM et al. HIV and HCV coinfection: prevalence, associated factors and genotype characterization in the midwest region of Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2014 Nov-Dec;56(6):517-24.
- Fogel JM, Wang L, Parsons TL, Ou SS, Piwowar-Manning E, Chen Y, Mudhune VO, Hosseinipour MC, Kumwenda J, Hakim JG, Chariyalertsak S, Panchia R, Sanne I, Kumarasamy N, Grinsztejn B, Makhema J, Pilotto J, Santos BR, Mayer KH, McCauley M, Gamble T, Bumpus NN, Hendrix CW, Cohen MS, Eshleman SH. Undisclosed antiretroviral drug use in a multinational clinical trial (HIV Prevention Trials Network 052). *J Infect Dis*. 2013 Nov 15;208(10):1624-8.

- Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection – Natural history and clinical consequences. *The New England Journal of Medicine*. 2004;350:1118-1129.
- Gerlich W. Medical virology of hepatitis B: how it began and where are we now. *Virology* 2013;10:239-264.
- Glebe D, Bremer CM. The molecular virology of hepatitis B virus. 2013 *Seminars in liver diseases* 33,103-112.
- Grandjacques C, Pradat P, Struyver L, et al. Rapid detection of genotypes and mutations in the pre-core promoter and the pre-core region of hepatitis B virus genome: correlation with viral persistence and disease severity. *J Hepatol* 2000;33(3):430-439.
- Guerrieri F, Belloni L, Pediconi N, Levrero M. Molecular mechanisms of HBV-associated hepatocarcinogenesis. *Semin Liver Dis* 2013 May;33(2):147-56.
- Gust ID, Burrell CJ, Coulepis AG, Robinson WS, Zuckerman AJ. Taxonomic classification of human hepatitis B virus. *Intervirology*. 1986;25(1):14-29
- Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, Chang TT, Kitis G, Rizzetto M, Marcellin P, Lim SG, Goodman Z, Wulfsohn MS, Xiong S, Fry J, Brosgart CL. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2003;348:800-807.
- Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, Chang TT, Kitis G, Rizzetto M, Marcellin P, Lim SG, Goodman Z, Ma J, Brosgart CL, Borroto-Esoda K, Arterburn S, Chuck SL. Adefovir Dipivoxil 438 study G. Long-term therapy with adefovir dipivoxil for HBe Ag-negative chronic hepatitis B for up to 5 years. *Gastroenterology* 2006; 131:1743-1751.
- Hoff J, Bani-Sadr F, Gassin M, Raffi F. Evaluation of chronic hepatitis B virus (HBV) infection in co-infected patients receiving lamivudine as a component of anti-human immunodeficiency virus regimens. *Clin Infect Dis* 2001;32(6):963-969.
- Hoofnagle JH, Di Bisceglie AM. Serologic diagnosis of acute and chronic viral hepatitis. *Semin Liver Dis*. 1991;11:73-83.
- Huang X, Hollinger FB 2014. Occult hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma: a systematic review *J Vir Hepatitis* 21: 153-162.

- Hsu YS, Chien RN, Yeh CT, et al. Long-term outcome after spontaneous HBe Ag seroconversion in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2002;35(6):1522-1527.
- Kao JH. Hepatitis B viral genotypes : clinical relevance and molecular characteristics. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17:643-650.
- Konopnicki D, Mocroft A, de Wit S, Antunes F, Ledergerber B, Katlama C, Zilmer K, Vella S, Kirk O, Lundgren JD: Hepatitis B and HIV: prevalence, AIDS progression, response to highly active antiretroviral therapy and increase mortality in the Euro SIDA cohort. *AIDS* 2005, 19: 593-601.
- Kramvis A, Kew MC. Relationship of genotypes of hepatitis B virus to mutations, disease progression and response to antiviral therapy. *J Viral Hepat.* 2005;12:456-464.
- Kramvis A. Genotypes and Genetic Variability of Hepatitis B Virus. *Intervirology.* 2014; 57:141-150.
- Kumar S, Jin M, Ande A, Sinha N, Silverstein PS, Kumar A. Alcohol consumption effect on antiretroviral therapy and HIV-1 pathogenesis: role of cytochrome P450 isozymes. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2012 Nov;8(11):1363-75.
- Kwon H, Lok AS. Hepatitis B therapy. *Nature reviews.* 2011. *Gastroenterology & hepatology* 8, 275-284.
- Lai CL, Shouval D, Lok AS, Chang TT, Cheinquer H, Goodman Z, DeHertogh D, Wilber R, Zink RC, Cross A, Colonno R, Fernandes L. Entecavir versus lamivudine for HBe Ag-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2006; 354: 1001-1010.
- Lampertico P, Del Ninno E, Manzin A, et al. Long-term suppression of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B by 24-month interferon therapy. *Hepatology* 2003;37(4):756-763.
- Landrum ML, Hullsiek KH, Chun HM, Crum-Cianflone NF, Ganesan A, Weintrob AC, Barthel RV, O'Connell RJ, Agan BK. The timing of hepatitis B virus (HBV) immunization relative to human immunodeficiency virus (HIV) diagnosis and the risk of HBV infection following HIV diagnosis. *Am J Epidemiol.* 2011 Jan 1;173(1):84-93.

- Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures *J Viral Hepat* 2004;11: 97-107.
- Le Bouvier G, McCollum R, Hierholzer W Jr, Irwin G, Krugman S, Giles J. Subtypes of Australian antigen and hepatitis-B virus. *JAMA* 1972; 222:928-930.
- Lee WM. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1997; 337:1733-1745.
- Lee PI, Chang MH, Lee CY, et al. Change of sérum hepatitis B vírus DNA and aminotransferase levels during the course of chronic hepatitis B vírus infection in children. *Hepatology* 1990;12(4 Pt 1): 657-660.
- Liaw YF, Sheen IS, Chen TJ, Chu CM, Pao CC. Incidence, determinants and significance of delayed clearance of serum HBs Ag in chronic hepatitis B vírus infection: a prospective study. *Hepatology* 1991; 13(4):627-631.
- Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, et al. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med* 2004;351(15):1521-1531.
- Liaw YF, Chu CM. Hepatitis B virus infection. *Lancet*. 2009 Feb 14;373(9663):582-92.
- Lima IP, Müller MC, Holanda TA, Harhay M, Costa CH, Costa DL. Human immunodeficiency virus/leishmania infantum in the first foci of urban American Visceral leishmaniasis: clinical presentation from 1994 to 2010. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2013 Mar-Abr;46(2):156-60.
- Lin SM, Sheen IS, Chien RN, Chu CM, Liaw YF. Long-term beneficial effect of interferon therapy in patients with chronic hepatitis B vírus infection . *Hepatology* 1999;29(3):971-975.
- Liu CJ, Kao JH. Global perspective on natural history of chronic hepatitis B: role of hepatitis B virus genotypes A to J. 2013 *Semin Liv Dis*;33:97-102.
- Livingston SE, Simonetti JP, Bulkow LR, Homan CE, Snowball MM, Cagle HH, Negus SE, McMahon BJ. Clearance of hepatitis B e antigen in patigen in patients with chronic hepatitis B and genotype A, B, C, D and F. *Gastroenterology* 2007;133:1452-1457.
- Locarnini S, Littlejohn M, Aziz MN, Yuen L. Possible origins and evolution of the hepatitis B virus *Semin Cancer Biol* 2013;23P: 561-575.

- Locarnini S, Hatzakis A, Chen D, Lok A. Strategies to control hepatitis B: policy, epidemiology, vaccine and drugs *J Hepatol* 2015;62:576-586.
- Lok AS, Lai CL, Wu PC, Leung EK, Lam TS. Spontaneous hepatitis B e antigen to antibody seroconversion and reversion in Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 1987;92(6):1839-1843.
- Lok AS, Lai CL. A longitudinal follow-up of asymptomatic hepatitis B surface antigen-positive Chinese children. *Hepatology* 1988; 8(5):1130-1133.
- Lok AS, Lai CL. Acute exacerbations in Chinese patients with chronic hepatitis B virus (HBV) infection. Incidence, predisposing factors and etiology. *J Hepatol* 1990;10(1):29-34.
- Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009. *AASLD practice guidelines. Hepatology*. 2013;50(3):1-36.
- Lopes TG, Schinoni MI. Aspectos gerais da hepatite B. *2010 R Ci Med Biol, Salvador*;10(3):337-344.
- Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Diseases Study 2010. *Lancet* 2012;380:2095-2128.
- Lucas S. Causes of death in the HAART era. *Curr Opin Infect Dis*. 2012; 25:36-41.
- Marcellin P, Heathcote EJ, Buti M, Gane E, de Man RA, Krastev Z, Germanidis G, Lee SS, Flisiak R, Kaita K, Manns M, Kotzev I, Tchernev K, Buggisch P, Weilert F, Kurdas OO, Shiffman ML, Trinh H, Washington MK, Sorbel J, Anderson J, Snow-Lampart A, Mandou E, Quinn J, Rousseau F. Tenofovir disoproxil fumarate versus adefovir dipivoxil for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2008; 359: 2442-2455.
- Matthews GV, Avinhighsanon A, Lewin SR, Amin J, Reknimitr R, Petharapirat P, Sasadeusz J, Cooper DA, Bowden S, Locarnini S, Ruxrunghtan K, Dore GJ. A randomized trial of combination hepatitis B therapy in HIV/HBV coinfecting antiretroviral naive individuals in Thailand. *Hepatology*. 2008;48: 1062-1069.
- Martins S, Livramento Ad, Andrigueti M, Kretzer IF, Machado MJ, Spada C, Treitinger A. The prevalence of hepatitis B virus infection markers and

- socio-demographic risk factors in HIV-infected patients in Southern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2014 Sep-Oct;47(5):552-8.
- Marzio DHD, Hann HW. Then and now: the progress in hepatitis B treatment over the past 20 years. *World J Gastroenterol* 20, 401-413.
- Martínez E, Milinkovic A, Buirá E, de Lazzari E, León A, et al. Incidence and causes of death in HIV-infected persons receiving highly active antiretroviral therapy compared with estimates for the general population of similar age and from the same geographical area. *HIV Med* 2007 8:251-8.
- McGovern BH. The epidemiology, natural history and prevention of hepatitis B: implications of HIV coinfection. *Antivir Ther* 2007;12 Suppl 3: H3-13.
- McMahon BJ, Holck P, Snowball M. Serologic and clinical outcomes of 1536 Alaska Natives chronically infected with hepatitis B virus. *Ann Intern Med.* 2001 Nov 6;135(9):759-68.
- McMahon B, The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2009;49(Suppl): 45-55.
- Mello FC, Souto FJ, Nabuco LC, Villela-Nogueira CA, Coelho HS, Franz HC, Saraiva JC, Virgolino HA, Motta-Castro HA, Melo MM, Martins RM, Gomes SA. Hepatitis B virus genotypes circulating in Brazil: molecular characterization of genotype F isolates. *BMC Microbiol.* 2007 Nov 23;7:103.
- Mello FM, Kuniyoshi AS, Lopes AF, Gomes-Gouvêa MS, Bertolini DA. Hepatitis B virus genotypes and mutations in the basal core promoter and pre-core/core in chronically infected patients in the Southern Brazil: a cross-sectional study of HBV genotypes and mutation in chronic carriers. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2014 Nov-Dec;47(6):701-8.
- Mendes-Correa MC, Barone AA, Cavaleiro NP, Tenegan FM, Guastini C. Prevalence of hepatitis B and C in the sera of patients with HIV infection in São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2000;42:81-5.
- Mendes-Correa MC, Pinho JR, Gomes-Govea MS, Silva AC, Guastini CF, Martins LG, Leite AG, Silva MH, Gianini RJ, Uip DE 2011. Predictors of HBe Ag status and hepatitis B viraemia in HIV-infected patients with chronic hepatitis B in the HAART era in Brazil *BMC Infect Dis* 11: 247-254.

- Monteiro MR, do Nascimento MM, Passos AD, Figueiredo JF. Seroepidemiological survey of hepatitis B virus among HIV/AIDS patients in Belém . Pará-Brasil. Rev Soc Bras Med Trop. 2004;37:27-32
- MS- Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico Hepatites Virais. Brasília 2012 ano III nº01.
- MS- Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico HIV/AIDS. Brasília 2014 ano III nº 01.
- MS - Ministério da Saúde . Manual dos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais. 2014.
- MS - Ministério da Saúde. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em adultos. 2013.
- Nikolopoulos GK, Paraskevis D, Hatzitheodorou E, et al. Impact of hepatitis B virus infection on the progression of AIDS and mortality in HIV-infected individuals: a cohort study and meta-analysis. Clin Infect Dis 2009;48:1763–71.
- Nooredinvand HA, Connell DW, Asgheddi M, Abdullah M, O'Donoghue M, Campbell L, Wickremasinghe MI, Lalvani A, Kon OM, Khan SA. Viral hepatitis prevalence in patients with active and latent tuberculosis. World J Gastroenterol. 2015 Aug 7;21(29):8920-6.
- Norder H, Courouce AM, Coursaget P, Echevarria JM, Lee SD, Mushahwar IK, Robertson BH, Locarnini S, Magnius LO. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBs Ag subtypes. 2004 Intervirology;47:289-309.
- Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, Sastrosoewignjo RI, Imai M, Miyakawa Y, Mayumi M. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. J Gen Virol 1988; 69 (Pt 10): 2575-2583.
- Oliveira EH, Lima Verde RM, Pinheiro LM, Benchimol MG, Aragão AL, Lemos JA, Oliveira-Filho AB, Vallinoto AC. 2014. HBV infection in HIV-infected subjects in the State of Piauí, Northeast Brazil Arch Virol 159:1193-1197.
- Oliveira-Filho AB, Oliveira EH, Silva LV, Vallinoto AC, Lemos JA. 2012. Epidemiological aspects of HCV infection in HIV-infected individuals in Piauí State, Northeast Brazil. Arch Virol 157:2411-2416.

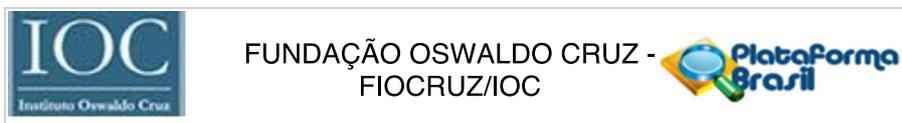
- Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBs Ag seroprevalence and endemicity. *Vaccine* 2012;30:2212-2219.
- Pavan MH, Aoki FH, Monteiro DT, Gonçalves NS, Escanhoela CA, Gonçalves Júnior FL. Viral hepatitis in patients infected with human immunodeficiency virus. *Braz J Infect Dis.* 2003 Aug;7(4):253-61.
- Parvez MK. HBV and HIV co-infection: Impact on liver pathobiology and therapeutic approaches. *World J Hepatol* 2015 Jan27;7(1):121-126.
- Pawlotsky JM. Molecular diagnosis of viral hepatitis. *Gastroenterology.* 2002;122(6):1554-1568.
- Pereira LM, Martelli CM, Mércan-Hamman E, Montarroyos UR, Braga MC, De Lima ML, Cardoso MR, Turchi MD, De Alencar LC, Moreira RC, Figueiredo GM, Ximenes RA. Population-based multicentric survey of hepatitis B infection and risk factor differences among three regions in Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;81:240-247.
- Phung BC, Sogni P, Launay O. Hepatitis B and human immunodeficiency virus co-infection. *World J Gastroenterol* 2014;14:20(46):17360-17367.
- Poland GA, Jacobson RM. Prevention of hepatitis B with the hepatitis B vaccine. *N Engl J Med* 2004; 251:2832-8.
- Pondé RA, Cardoso DD, Ferro MO. The underlying mechanism for the “Anti-HBc alone” serological profile. *Arch Virol.*2010;155:149-158.
- Portelinha Filho AM, do Nascimento CU, Tannouri TN, Troiani C, Ascêncio EL, Bonfim R, D`Andrea LA, Prestes-Carneiro LE. Seroprevalence of HBV, HCV and HIV co-infection in selected individuals from state of São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009;104:960-310.
- Prado TN, Miranda AE, de Souza FM, Dias E dos S, Sousa LK, Arakaki-Sanchez D, Sanchez MN, Golub JE Maciel EL. Factors associated with tuberculosis by HIV status in the Brazilian national surveillance system: a cross sectional study. *BMC Infect Dis.* 2014 Jul 28;14:415.
- Price J 2014. An update on hepatitis B, D and E viruses *Top Antivir Med* 21(5): 157-163.
- Prince A. An antigen detected in the blood during the incubation period of serum hepatitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1968; 60:814-821.

- Puoti M, Bruno R, Soriano V, Donato F, Gaeta GB, Quinzan GP, Precone D. Hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients: epidemiological features, clinical presentation and outcome. *AIDS*. 2004;18:2285-93.
- Puoti M, Torti C, Bruno R, Filice G, Carosi G: Natural history of chronic hepatitis B in coinfecting patients. *Journal of Hepatology* 2006, 44: S65-S70.
- Ribeiro NR, Campos GS, Angelo AL, Braga EL, Santana N, Gomes MM, Pinho JR, De Carvalho WA, Lyra LG, Lyra AC. Distribution of hepatitis B virus genotypes among patients with chronic infection. *Liver Int*. 2006 Aug;26(6):636-42.
- Riou C, Tanko RF, Soares AP, Masson L, Werner L, Garret NJ, Samsunder N, Abdool Karim Q, Abdool Karim SS, Burgers WA. Restoration of CD4+ responses to copathogens in HIV-infected individuals on antiretroviral therapy is dependent on T cell memory phenotype. *J Immunol*. 2015 Set 1;195(5):2273-81
- Rodriguez-Frias F, Buti M, Tabernero D, Homs M. Quasispecies structure, cornerstone of hepatitis B virus infection: mass sequencing approach. *World J Gastroenterol* 2013;19,6995-7023.
- Rotman Y, Brown TA, Hoofnagle JH. Evaluation of the patient with hepatitis B. *Hepatology*. 2009 May;49(5 Suppl):S22-7.
- Scharschmidt BF, Held MJ, Hollander HH, et al. Hepatitis B in patients with HIV infection: relationship to AIDS and patient survival. *Ann Intern Med* 1992;117: 837–8.
- Seeger C, Mason WS. Hepatitis B virus biology. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2000 64; 51-68.
- Sitnik R, Pinho JRR, Bertolini DA, Bernardini AP, Silva LCS Carrilho FJ. Hepatitis B virus genotypes and precore and core mutants in Brazilian patients. *J Clin Microbiol* 2004;42:2455-2460.
- Soriano V, Tuma P, Vispo E, Labarga P, Fernández JV, Medrano J, Barreiro P. Hepatitis B in HIV patients: what is the current treatment and what are the challenges? *J HIV Ther* 2009;14:13-18.
- Souza MG, Passos AD, Machado AA, Figueiredo JF, Esmeraldino LE. HIV and hepatitis B virus co-infection: prevalence and risk factors. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2004; 37:391-395.

- Strammer SL, Wend U, Candotti D 2011. Nucleic acid testing to detect HBV infection in blood donors *N Engl J Med* 364: 236-247.
- Stroffoloni T, Mele A, Tosti ME, et al. The impact of the hepatitis B mass immunisation campaign on the incidence and the risk factors of the acute hepatitis B in Italy. *J Hepatol* 2000;33(6):980-985.
- Sun HY, Sheng WH, Tsai MS, Lee KY, Chang SY, Hung CC. Hepatitis B virus coinfection in human immunodeficiency virus-infected patients: A review. *2014;20(40):14598-14614*.
- Tang CM, Yau TO, Yu J. Management of chronic hepatitis B: Current treatment guidelines, challenges, and new developments. *World J Hepatol* 2014; May 28; 20(20):6262-6278.
- Tavares-Neto J, Almeida D, Soares MC, Uchoa R, Viana S, Darub R, Farias E, Rocha G, Vitvitski L, Paraná R. Seroprevalence of hepatitis B and C in the Western Amazon region (Rio Branco, Acre): a pilot study carried out during a hepatitis B vaccination program. *Braz J Infect Dis* 2004 Apr;8(2):133-9.
- Tatematsu K, Tanaka Y, Kurbanov F, Sugauchi F, Mano S, Maeshiro T, Nakayoshi T, Wakuta M, Miyakawa Y, Mizokami M. A genetic variant of hepatitis B virus divergent from known human and ape genotypes isolated from a Japanese patient and provisionally assigned to new genotype J. *J Virol* 2009; 83:10538-10547.
- Tavora LG, Hyppolito EB, Cruz JN, Portela NM, Pereira SM, Veras CM 2013. Hepatitis B, C and HIV co-infections seroprevalence in a Northeast Brazilian Center *Arq Gastroenterol* 50: 277-280.
- Távora LG, Nogueira MB, Gomes ST. Visceral leishmaniasis/HIV co-infection in northeast Brazil: evaluation of outcome. *Braz J Infect Dis*. 2015 Set 9.
- Tawada A, Kanda T, Yokosuda O. Current and future directions for treating hepatitis B virus infection. *World J Hepatol* 2015 Jun 18;7(11):1541-1552.
- Te H, Jensen D. Epidemiology of hepatitis B and C viruses: a global overview. *Clin Liver Dis* 2010;14:1-21.
- Tiollais P, Vyas G, Charnay P. Biology of hepatitis B virus. *Science*. 1985;213:406-411.

- Thio CL, Seaberg EC, Skolasky R Jr, Phair J, Visscher B, Muñoz A, Thomas DL. HIV-1, hepatitis B virus and risk of liver-related mortality in the Multicentre Cohort Study (MACS). *Lancet* 2002, 360:1921-1926.
- Thio CL. Hepatitis B and human immunodeficiency virus co-infection *Hepatology* 2009;49: S138-145.
- Tovo CV, Dos Santos DE, de Mattos AZ, de Almeida PR, de Mattos AA, Santos BR. Ambulatorial prevalence of hepatitis B and C markers in patients with human immunodeficiency virus infection in a general hospital. *Arq Gastroenterol* 2006;43:73-76.
- Travassos AC, Brites C, Netto EM, *et al* 2012. Prevalence of sexually transmitted infections among HIV-infected woman in Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2012 Nov-Dec;16(6):581-5.
- Weber R, Sabin CA, Friis-Møller N, *et al* 2006. Liver-related deaths in persons infected with the human immunodeficiency virus: the D:A:D study. *Arch Intern Med*; 166: 1632-1641.
- World Health Organization (WHO). <http://www.who.int/hepatitis>. Acessado em abril de 2015.
- Yang S, Rothman RE. PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitations, and future applications in acute-care settings. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 337-348.
- You CR, Lee SW, Jang JW, Yoon SK. Update on hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol*. 2014 Oct 7;20(37):13293-305.
- Yu H, Yuan Q, Ge SX, Wang HY, Zhang YL, Chen QR, Zhang J, Chen PJ, Xia NS. Molecular and phylogenetic analyses suggest an additional hepatitis B virus genotype "I". *Plos One*. 2010 Feb 19;5(2): e9297.
- Yuen MF, Lai CL. Hepatitis B virus genotypes: natural history and implications for treatment. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2007;1: 321-328.
- Zago AM, Machado TF, Cazarim FL, Miranda AE. Prevalence and risk factors for chronic hepatitis B in HIV patients attended at a sexually-transmitted disease clinic in Vitoria, Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2007;11:475-478.
- Zoulim F, Locarnini S. Hepatitis B virus resistance to nucleos(t)ide analogues. *Gastroenterology*. 2009;137:1593-1608.

## ANEXO I



### COMPROVANTE DE ENVIO DO PROJETO

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Estudo da co-infecção HIV e hepatite B em pacientes atendidos em um serviço de referência em doenças infecciosas no Piauí

**Pesquisador:** Vanessa Salete de Paula

**Versão:** 3

**CAAE:** 38992314.6.0000.5248

**Instituição Proponente:** FUNDACAO OSWALDO CRUZ

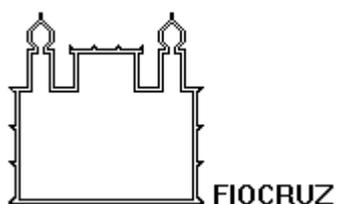
#### DADOS DO COMPROVANTE

**Número do Comprovante:** 106973/2014

**Patrocinador Principal:** FUNDACAO OSWALDO CRUZ  
PIAUI SECRETARIA DE SAUDE

**Endereço:** Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)  
**Bairro:** Manguinhos **CEP:** 21.040-360  
**UF:** RJ **Município:** RIO DE JANEIRO  
**Telefone:** (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br

## ANEXO II



Ministério da Saúde  
Fundação Oswaldo Cruz  
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

**TÍTULO DO PROJETO: Estudo da coinfeção HIV e Hepatite B em pacientes atendidos num serviço de referência em doenças infecciosas no Piauí.**

**Pesquisador Responsável: Vanessa Salete de Paula**

**Instituição: FIOCRUZ – Rio de Janeiro**

**Telefone para Contato: (21) 2562-1876 / (86) 3221-3413**

**Local de Coleta dos Dados: Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella - IDTNP**

O (a) Sr. (a), está sendo convidado (a) a participar do estudo “**Estudo da coinfeção HIV e Hepatite B em pacientes atendidos num serviço de referência em doenças infecciosas no Piauí**”, aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa sob o nº 38992314.6.0000.5248/2015 e de responsabilidade dos pesquisadores Vanessa de Paula-IOC/FIOCRUZ, Norma Cely Salmito Cavalcanti – FIOCRUZ e IDTNP.

Este estudo tem como objetivo saber a frequência da infecção pelo vírus da Hepatite B, que é uma condição rara em alguns lugares e frequentes em outros. O vírus da Hepatite B compartilha as mesmas vias de transmissão do HIV como relação sexual, de mãe para filho, uso de agulhas e seringas contaminados, transfusão de sangue e derivados contaminados, tatuagens e *piercings*, uso de drogas injetáveis e inaladas e acidentes com materiais biológicos. Será estudado se os participantes têm essa infecção.

Durante a sua consulta, o (a) médico (a) fará uma pequena entrevista com você para saber sobre seus sintomas, sobre exames que você realizou, se você já havia tratado dessa doença antes e se apresenta outras condições clínicas (infecção pelo HIV, diabetes, transplante, câncer, etc.) bem como informações sobre a sua residência, trabalho e lazer. Deve ficar claro que as amostras de sangue poderão ser coletadas de você somente para o seu tratamento e indicadas pelo seu médico, e não mudam se você participar ou não participar deste projeto. Todos os resultados dos exames serão informados a você pela equipe de sua unidade. Se você aceitar participar deste projeto, as informações obtidas pelo médico, as amostras e os resultados de seus exames serão usados neste projeto para estudar a Hepatite B e outras infecções como Hepatite C e sífilis.

Dentre os **riscos** aos quais você será submetido, é a possibilidade de um leve desconforto decorrente da coleta de sangue. Após a entrevista/ consulta médica ou em qualquer momento do seu tratamento, poderá ser feita a coleta de amostra de sangue (tubo de 10 ml) que é equivalente a 2 colheres de sobremesa. Uma nova coleta de sangue poderá ser pedida pelo pesquisador que deverá ser coletada no endereço: Rua 19 de Novembro, 1945, Teresina - Piauí que será a confirmação ou não da doença estudada, pois o Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella não dispõe dos equipamentos necessários para preservar as amostras de sangue.

Também será realizado pelo pesquisador o preenchimento de questionários para a coleta de informações/dados para realização do estudo, as quais só poderão ser utilizadas no contexto do estudo ou em artigos relacionados ao estudo, utilizando ainda prontuário médico.

Todas as informações referentes aos participantes do estudo são confidenciais, isto é, não podem ser divulgadas com os nomes das pessoas. Portanto, os pesquisadores garantem direito à privacidade. Desta forma você não poderá ser identificado, pois garantimos o segredo sobre todas as informações que forem fornecidas nos questionários e sobre o diagnóstico do vírus.

O **benefício** para os participantes é a diagnosticar a infecção no início, melhorar o conhecimento desta infecção, impedir as complicações a longo prazo que são a cirrose e câncer de fígado.

A participação das pessoas nesta pesquisa é voluntária, ou seja, a pessoa só participa caso queira. Todos os participantes têm o direito de sair da pesquisa a qualquer momento. Não há nenhum valor econômico a receber ou pagar para participar dessa pesquisa. Esta pesquisa não é um ensaio clínico, ou seja, não estão sendo testados novos medicamentos ou exames de diagnóstico.

Quaisquer dúvidas podem ser tiradas com os pesquisadores responsáveis pela pesquisa nos telefones fornecidos neste termo.

Recebi uma cópia deste termo de consentimento.

Teresina, \_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
**Assinatura do participante ou responsável**

\_\_\_\_\_  
**Norma Cely Salmito Cavalcanti**  
**Pesquisadora IDTNP e FIOCRUZ**

DIGITAL DO  
PARTICIPANTE

ANEXO III

ESTUDO DA COINFEÇÃO HIV E HEPATITE B EM PACIENTES ATENDIDOS EM UM SERVIÇO DE REFERÊNCIA EM DOENÇAS INFECCIOSAS NO PIAUÍ

FORMULÁRIO CÓDIGO DO PACIENTE: \_\_\_\_\_  
NOME: \_\_\_\_\_  
PRONTUÁRIO Nº: \_\_\_\_\_  
PROCEDÊNCIA: \_\_\_\_\_  
SEXO: ( ) 1- M 2-F IDADE: \_\_\_\_\_  
USO DE DROGAS ( ) 0- NÃO 1-SIM TATUAGENS: ( ) 0- NÃO 1-SIM  
PIERCING ( ) 0-NÃO 1-SIM  
USO DE ÁLCOOL NOS ÚLTIMOS 30 DIAS ( ) 0-NÃO 1-SIM  
RELAÇÕES SEXUAIS DESPROTEGIDAS: ( ) 0-NÃO 1-SIM  
TRANSFUSÃO DE SANGUE: ( ) 0-NÃO 1-SIM  
QUANDO: \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
TRATAMENTO DENTÁRIO: ( ) 0- NÃO 1- SIM . HÁ MAIS DE SEIS MESES? ( ) 0- NÃO 1- SIM  
COMORBIDADES: ( ) 0- NÃO 1- SIM, QUAL?  
\_\_\_\_\_  
ACUPUNTURA: ( ) 0- NÃO 1- SIM  
CD4inicial: \_\_\_\_\_ CVinicial HIV: \_\_\_\_\_  
CD4: \_\_\_\_\_ CV HIV: \_\_\_\_\_  
HBS Ag: ( ) 0- NEGATIVO 1- POSITIVO  
ANTI-HBC TOTAL ( ) 0- NEGATIVO 1- POSITIVO  
ANTI-HBS: ( ) 0- NEGATIVO 1- POSITIVO  
VACINA PARA HBV COMPLETA: ( ) 0-NÃO 1-SIM  
VACINA PARA HBV INCOMPLETA: ( ) 0-NÃO 1-SIM  
ANTI-HCV: ( ) 0- NEGATIVO 1- POSITIVO  
TARV: \_\_\_\_\_  
USO REGULAR DE TARV: ( ) 0-NÃO 1-SIM  
USO DE LAM ( ) 0- NÃO 1- SIM. TEMPO DE USO DE LAM: \_\_\_\_\_MESES  
USO DE TDF:( ) 0- NÃO 1- SIM .TEMPO DE USO DE TDF: \_\_\_\_\_MESES  
CARGA VIRAL DO HBV: \_\_\_\_\_