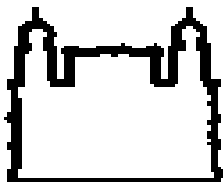


**Ministério de Saúde**



**FIOCRUZ**

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

**Pós - Graduação em Biologia Celular e Molecular**

**JORGE MANUEL LÚCIO**

**PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DE HEPATITE B (HBV), EM INDIVÍDUOS  
INFECTADOS PELO VÍRUS DE IMUNODIFICIÊNCIA HUMANA (HIV), ATENDIDOS NO  
CENTRO DE SAÚDE DE POLANA CANIÇO; MAPUTO – MOÇAMBIQUE**

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz  
como parte dos requisitos para obtenção do título de  
Mestre em Ciências de Saúde

Orientadores

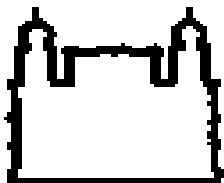
**Dra. Lia Laura Lewis Ximenez de Souza Rodrigues (IOC, FIOCRUZ)**

**Dr. Nilesh Bhatt (CISPOC, INS)**

**Maputo**

**2015**

**Ministério de Saúde**



**FIOCRUZ**

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

**Pós - Graduação em Biologia Celular e Molecular**

**JORGE MANUEL LÚCIO**

**PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DE HEPATITE B (HBV), EM  
INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO VÍRUS DE IMUNODIFICIÊNCIA HUMANA  
(HIV), ATENDIDOS NO CENTRO DE SAÚDE DE POLANA CANIÇO; MAPUTO –  
MOÇAMBIQUE**

**Orientadores:** Dra. Lia Laura Lewis Ximenez de Souza Rodrigues (Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ- Brasil)

Dr. Nilesh Bhatt (Centro de Investigação e Treino em Saúde da Polana Caniço, Instituto Nacional de Saúde)

**Aprovado em** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**EXAMINADORES:**

**Prof. Dr.**

**Prof. Dr.**

**Prof. Dr.**

**Prof. Dr.**

**Maputo, Março de 2015**

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

**L938      Lúcio, Jorge Manuel**

**Prevalência da infecção pelo vírus de Hepatite B (HBV), em indivíduos infectados pelo vírus de Imunodeficiência Humana (HIV), atendidos no Centro de Saúde de Polana Caniço, Maputo-Moçambique / Jorge Manuel Lúcio. – Maputo, 2015.**

**xiii, 93 f. : il. ; 30 cm.**

**Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, 2015.**

**Bibliografia: f. 63-71**

**1. Frequência. 2. HIV. 3. HBV. 4. Co-infecção. 5. Moçambique. I. Título.**

**CDD 616.3623**

## DEDICATÓRIA

*PAI e MÃE, tenho-vos no coração, em todo momento, na esperança de que, tudo o que faço  
seja resultado da vossa graça divina.  
“Manuel Lúcio e Lídia Emiliano Russumine, que tenham eterno descanso.”*

## AGRADECIMENTOS

O Meu agradecimento especial aos meus orientadores Doutor Nilesh Bhatt e Doutora Lia Laura Lewis Ximenez de Souza Rodrigues, pela paciência e confiança depositada na contribuição e apoio imensurável na elaboração deste projecto.

Ao Instituto Oswaldo Cruz, em especial aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde e o Pessoal do Laboratório do Ambulatório das Hepatites Virais da Fundação Oswaldo Cruz, que de certa forma auxiliaram-me na construção de conhecimento do presente estudo.

À coordenação do curso, através do Doutor Nilesh V. Jani, que se disponibilizou prontamente a contribuir para que este trabalho de mestrado fosse um sucesso, em todos momentos, o meu muito obrigado.

Aos meus colegas do curso mestrado, pelo companheirismo, espírito de camaradagem e boa disposição durante o período lectivo, quero expressar a minha eterna gratidão.

Ao Ministério de Saúde (MISAU), Direcção da Saúde de Cidade de Maputo e Direcção do Centro de Saúde de Polana Caniço por autorizarem a realização do estudo.

Agradeço ainda de forma muito pessoal, ao Dr. Ivan Manhiça (MISAU), ao Dr. Celso Khosa, a Dra. Bindiya Meggi, ao Sr. José Matavele e ao Sr. Nilzio Cavele do Centro de Investigação e Treino em Saúde da Polana Caniço (CISPOC) e a Dra. Helena Comissário (Centro de Saúde de Polana Caniço (CSPC) pelo apoio na implementação e condução deste trabalho.

À todo pessoal administrativos e técnicos do CISPOC, pela participação activa no processamento das amostras, análise de dados e pelas críticas e sugestões para a melhoria do presente trabalho.

À equipa do Centro de Saúde de Polana Caniço, médicos, enfermeiros, serventes e activistas, o meu muito obrigado, pelo espírito de hospitalidade e cooperação durante o período de realização do trabalho.

À direcção do Hospital Central de Maputo (HCM) e Banco de Sangue (BS), o meu muito obrigado por autorizar a continuação dos meus estudos.

Aos colegas do Laboratório, Dúrcilia Matimbe, Onélia Guiliche, Alberto Machaze, Maria Enosse, Emelva Manhiça e Nilzio Cavele (CISPOC), Cremildo Maueia e Nédio Mabunda (Dep. Plataformas Tecnológicas do INS), que de certa forma participaram em todo trabalho de Campo, processamento de amostras; foram para mim, uma equipa inesquecível.

Aos voluntários desta pesquisa, e seus responsáveis, por terem aceite o convite, pois sem eles o estudo não seria possível.

A minha companheira Amélia Daniel Nuvunga, que sempre compreensiva e generosa supriu minhas ausências com os meus queridos filhos; Emmanuel, Minelda da Sofelina e Jorge Manuel Lúcio Jr, e além disso, me deu força em vários momentos.

Aos meus irmãos (Silvestre, Luciano, Anastância e Rodriguês), e cunhados (Baltazar, Gilda, Sónia, Luís, Rosário, Gabriel e Celeste) o meu obrigado pelo apoio.

A todos que de certa forma contribuíram para a construção deste trabalho e não foram mencionados vai o meu muitíssimo obrigado.

Índice	Página
DEDICATÓRIA .....	4
AGRADECIMENTOS .....	5
ABREVIATURAS.....	10
LISTA DE FIGURAS.....	12
LISTA DE TABELAS .....	13
Resumo .....	14
Abstract.....	15
1. INTRODUÇÃO .....	16
1.1. Contextualização da infecção do HBV .....	16
2. CARACTERIZAÇÃO DO VÍRUS DE HEPATITE B .....	18
2.1. Epidemiologia .....	19
2.2. Transmissão .....	21
2.3. Marcadores da Infecção pelo HBV .....	22
2.4. Infecção Aguda .....	25
2.5. Infecção Crónica .....	25
2.6. Diagnóstico .....	26
2.7. Casos de Hepatite.....	26
2.8. Tratamento .....	28
2.9. Prevalência da infecção do HBV em Moçambique .....	28
3. O HIV.....	28
3.1. Caracterização do HIV .....	28
3.2. Epidemiologia .....	29
3.3. Transmissão e Sintomas.....	29
4. CO- INFECÇÃO HIV/HBV .....	30
5. HEPATITE OCULTA .....	30
6. JUSTIFICAÇÃO DO ESTUDO.....	31
7. OBJECTIVOS.....	32
7.1. Objectivo geral .....	32
7.2. Objectivos específicos.....	32
8. METODOLOGIA .....	33

8.1. Desenho de estudo.....	33
8.2. Local de estudo .....	33
8.3. Tamanho de amostra e população do estudo.....	34
8.4. Critérios de inclusão.....	34
8.5. Critérios de exclusão .....	35
8.6. Procedimento para recolha dos dados .....	35
8.7. Testes Laboratoriais. ....	36
8.7.1. Triagem da infecção activa pelo vírus da Hepatite B (HBV) .....	36
8.7.2. Sorologia do HBV.....	36
8.7.3. Testagem de HBV oculta .....	37
8.7.4. Imunofenotipagem das células TCD4+.....	37
8.7.5. Determinação do ALT e hemograma completo .....	37
8.7.7. PRINCÍPIO DE ANÁLISES REALIZADAS .....	38
8.7.7.1. Determinação do HBsAg .....	38
8.7.7.2. Determinação do Anti-HBc.....	38
8.7.7.3. Determinação do Anti-HBs.....	39
8.7.7.4. Determinação do HBeAg.....	39
8.7.7.5. Determinação do Anti-HBe.....	39
9. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	40
10. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS .....	41
11. RESULTADOS.....	43
11.1. Características da população de estudo.....	45
11.2. Características gerais da população com ou sem a presença de marcador HBsAg .	47
11.3. Factores de risco associados à presença de marcador HBsAg.....	49
11.4. Características biológicas e clínicas dos pacientes infectados pelo HIV com ou sem presença do marcador HBsAg.....	51
11.5. Níveis de células TCD4+, ALT e sua associação em pacientes infectados por HIV com ou sem presença do marcador HBsAg .....	51



11.6. Características dos pacientes com diferentes categorias de marcadores sorológicos de HBV .....	52
11.7. Níveis de detecção de HBV em diferentes grupos.....	53
11.8. Carga viral do HBV .....	53
11.9. Comparação de células TCD4+ em pacientes HIV, com ou sem HBsAg+ .....	54
12. DISCUSSÃO .....	56
13. CONCLUSÕES .....	61
14. RECOMENDAÇÕES .....	61
15. LIMITAÇÕES .....	62
16. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
ANEXOS .....	72
Anexo 1: Procedimento técnico para determinação do HbsAg .....	73
Anexo 2: Procedimento para determinação do Anti-HBc.....	75
Anexo 3: Procedimento para determinação do Anti-HBs.....	76
Anexo 4: Procedimento para determinação do HbeAg.....	77
Anexo 5: Procedimento para determinação do Anti-Hbe .....	79
Anexo 6: Consentimento Informado.....	81
Anexo 7: Questionário .....	85
Anexo 8: Requisição de teste rápido do HBsAg.....	85
Anexo 9: Requisições de Hemograma, Bioquímica e TCD4+ .....	89
Anexo 10: Carga viral de HBV.....	90
Anexo 11: Glossário.....	91
Anexo 12: Fluxograma e tratamento Laboratorial das amostras .....	92
Anexo 13: Carta de autorização do CNBS.....	93

## ABREVIATURAS

<b>AIDS</b>	Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
<b>ALT</b>	Alanina Aminotransferase
<b>Anti-HBc</b>	Anticorpos contra o antígeno de core do HBV
<b>Anti-HBe</b>	Anticorpos contra o antígeno primário do HBV
<b>Anti-HBs</b>	Anticorpo de superfície do HBV
<b>C</b>	gene C do HBV
<b>CDC</b>	Centro de Controlo de Doenças e Prevenção
<b>cél</b>	Células
<b>CHC</b>	Carcinoma Hepático Celular
<b>CISPOC</b>	Centro de Investigação e Treino em Saúde da Polana Caniço
<b>CHP</b>	Carcinoma Hepatocelular Primário
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonúcleico
<b>ELISA</b>	Ensaio Imunoenzimático Ligado a Enzima
<b>FDA</b>	<i>Food and Drug Administration</i>
<b>HAART</b>	Terapia Anti-retroviral altamente Activa
<b>HBcAg</b>	Antígeno do <i>core</i> do HBV
<b>HBeAg</b>	Antígeno <i>e</i> do HBV
<b>HBsAg</b>	Antígeno de <i>superfície</i> do HBV
<b>HBV</b>	Vírus de Hepatite B
<b>HBO</b>	Hepatite B Oculta
<b>HCV</b>	Vírus de Hepatite C
<b>HIV</b>	Vírus de Imunodeficiência Humana
<b>HRP</b>	<i>Horse- radish peroxidase</i> _enzima peroxidase
<b>INS</b>	Instituto Nacional de Saúde
<b>IRIS</b>	Síndrome Inflamatório de Reconstituição Imune
<b>LD</b>	Limite de detecção
<b>MISAU</b>	Ministério de Saúde

<b>nm</b>	Nanómetros
<b>OD</b>	Densidade óptica
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>PAV</b>	Programa Alargado de Vacinação
<b>Pb</b>	Pares de Bases
<b>PCR</b>	Reacção em Cadeia da Polimerase
<b>PNTS</b>	Programa Nacional de Transfusão de Sangue
<b>S</b>	gene S do HBV
<b>S</b>	Proteína pequena do HBV
<b>S+ Pré -s2-</b>	Proteína média do HBsAg
<b>S+Pré -S2+ Pré -s1</b>	Proteína grande do HBsAg
<b>SNS</b>	Serviço Nacional de Saúde
<b>SPSS</b>	Statistical Package for the Social Sciences
<b>TARV</b>	Terapia Anti-Retroviral
<b>TCD4+</b>	Linfócitos TCD4
<b>µL</b>	Microlitros
<b>TDF</b>	Tenofovir Disoproxil Fumarate
<b>TMB</b>	Tetrametilbenzidina
<b>UI/mL</b>	unidade internacional por mililitro
<b>X</b>	gene X do HBV

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Partícula do HBV .....	19
Figura 2: Distribuição mundial do vírus de hepatite B (HBV).....	20
Figura 3: Representação de eventos de hepatite B agudo.....	24
Figura 4: Representação de eventos de hepatite B crónico .....	24
Figura 5: Fluxograma de testagem.....	44
Figura 6: TCD4+ em pacientes com ou sem HBsAg+ .....	55

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Frequência do HBsAg em Moçambique.....	17
Tabela 2: Prevalência de HBsAg e marcadores de HBV na população adulta da África Subsaariana .....	21
Tabela 3: Definição de casos de infecção pelo vírus de hepatite (HBV).....	27
Tabela 4: Características demográficas da população do estudo.....	46
Tabela 5: Características demográficas dos pacientes com ou sem HBsAg+ .....	48
Tabela 6. Factores de risco associados a presença do marcador HBsAg+ .....	50
Tabela 7: Parâmetros imunológicos e biológicos em pacientes com ou sem HBsAg+.....	51
Tabela 8: Prevalência dos diferentes marcadores do HBV .....	52
Tabela 9: Diferentes marcadores de HBV em relação aos níveis de detecção do HBV-DNA.....	53
Tabela 10: HBV DNA em pacientes com marcadores HBsAg+ .....	54

## Resumo

A infecção pelo HBV é um problema de saúde pública em muitos países, principalmente nos países em desenvolvimento. Esta infecção pode levar à doença crónica hepática, a cirrose e o cancro do fígado. A co-infecção com o HIV, tem agravado o peso da doença pois esses vírus compartilham o mesmo modo de transmissão e ambos são endémicos na África Subsaariana. Moçambique é um país endémico para infecção por hepatite B crónica. No entanto, há pouca informação disponível sobre a frequência de infecção pelo HBV entre indivíduos infectados por HIV. Um total de 618 pacientes ambulatoriais adultos infectados pelo HIV, foram consecutivamente recrutados entre Setembro de 2013 e Fevereiro de 2014 no Centro de Saúde de Polana Caniço na cidade de Maputo. Todos os pacientes foram testados para infecção activa pelo HBV no local com um teste rápido, determine HBsAg (Alere, Japão). Vinte mililitros de sangue venoso de cada paciente foram colhidos e usados para determinar os marcadores sorológicos (HBsAg, anti-HBs, anti-HBc total, HBeAg e anti-HBe) usando kit MPDiagnostics 4.0, Singapore. Amostras HBsAg reactivas foram novamente testadas usando kit de ELISA tipo sanduíche para HBsAg. O Anti-HBs, anti-HBc total, HBeAg e anti-HBe, foram determinados utilizando um ELISA de tipo sanduíche. As amostras HBsAg negativas e anti-HBc positivas foram testadas para HBV DNA usando PCR em tempo real para diagnosticar infecção oculta pelo HBV. PCR em tempo real foi realizado utilizando COBAS Ampliprep/COBAS® TaqMan® HBV Teste, v2.0 (Roche Diagnostics, Alemanha). A imunofenotipagem das células TCD4+ foi realizada utilizando PIMA, o hemograma foi realizado usando SYSMEX KX 21 em amostras de sangue fresco. A alanina aminotransferase foi determinada usando SELECT JUNIOR em amostras de soro fresco. No presente estudo, 68.3% dos participantes eram do sexo feminino e a idade média entre homens e mulheres foi 38.5 anos. A prevalência do HBsAg foi de 7.4% (IC 95%: 4.4 – 11.2). O HBV DNA foi detectado em 80,0% (37/46) das amostras positivas para o HBsAg e em 8,7% (18/206) das amostras anti-HBc positivas, resultando em uma taxa de infecção pelo HBV oculto de 8,7 %. Entre os pacientes com contagens de CD4 <200 células/uL 7.3% (n = 21) foram co-infectados com HBV e HIV. O nosso estudo mostrou uma frequência relativamente alta de infecção pelo HBV entre indivíduos infectados pelo HIV. Assim, é recomendado o rastreio de HBV em indivíduos infectados pelo HIV para uma melhor optimização do tratamento antiretroviral nos pacientes.

**Palavras-chave:** Frequência, HIV, HBV, Co-infecção, Moçambique

## Abstract

Hepatitis B virus (HBV) infection is considered a major health concern in both developed and undeveloped countries. This infection can lead to chronic liver disease, cirrhosis and liver cancer. Co-infection with Human Immunodeficiency Virus (HIV) has aggravated the burden of the disease as these viruses share the same mode of transmission and both are endemic in sub-Saharan Africa. Mozambique is an endemic country for chronic hepatitis B infection. However, little information is available on the frequency of HBV infection among HIV infected individuals. A total of 618 HIV infected outpatient adults were consecutively recruited between September 2013 and February 2014 in Polana Caniço Health Center, Maputo city. All patients were screened for active HBV infection (HBsAg) at the site with a rapid test, Determine HBsAg (Alere, Japan). Twenty milliliters of venous blood were collected from each patient and used to determine anti-HBs, anti-HBc total, anti-HBe and HBeAg serological markers. HBsAg reactive samples were retested using the sandwich HBsAg ELISA-kit MPDiagnostics 4.0, Singapore. Anti-HBs, anti-HBc total anti-HBe, HBeAg testing were also performed using a sandwich ELISA-kit MPDiagnostics 4.0, Singapore. HBsAg negative but anti-HBc positive samples were screened for HBV DNA using real-time PCR to diagnose occult HBV infection. Real time PCR was performed using COBAS Ampliprep/COBAS® TaqMan® HBV Test, v2.0 (Roche Diagnostics, Germany). CD4+ cells immunophenotyping was performed using PIMA on fresh blood samples. Full blood count was performed using SYSMEX KX 21 and alanine aminotransferase was determined by using SELECT JUNIOR on fresh blood specimens. In this study, 68.1% of participants were women and the mean age among men and women was 38.5 years. The prevalence of HBsAg was 7.4% (95% CI 4.4 – 11.2). HBV DNA was detected in 80.0% (37/46) of HBsAg positive samples, and 8.7% (18/206) anti-HBc positive samples, resulting in an occult HBV infection rate of 8.7%. Among patients with CD4<200 cells/uL, 7.4% (n = 21) were co-infected with HBV and HIV. Our study showed a relatively high frequency of active HBV infection among HIV infected individuals. So is recommended screening of HBV in individuals infected by the HIV for better optimization of treatment.

Keywords: Frequency, HIV, HBV, co-infection, Mozambique

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Contextualização da infecção do HBV

A infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) é um problema de saúde pública em muitos países, principalmente nos países em desenvolvimento. O HIV e HBV compartilham as mesmas formas de transmissão no homem, o que contribui para um grande número de casos da co-infecção do HIV/HBV (1, 2).

Estima-se que um terço da população mundial já teve contacto com o HBV e mais de 350 milhões são portadores crónicos. A probabilidade de evolução da infecção para a forma crónica da doença em adolescentes e adultos é de 5 -10% (3). Porém a infecção activa pelo HBV, pode levar a lesões no fígado, tais como: fibrose, cirrose e carcinoma hepatocelular (4, 5). A África e Sudoeste da Ásia são dadas como regiões de alta endemicidade para a infecção por HBV, onde metade da população infectou-se em algum momento da sua vida, e mais de 8% da população geral são portadores crónicos (6-8). A prevalência da infecção crónica é classificada em alta ( $\geq 8\%$ ), intermédia (2-7%) e baixa ( $<2\%$ ).

Em Moçambique, a prevalência do HIV na população geral é de 11,5%, sendo maior nas mulheres (13.1%) do que nos homens (9,2%) e mais elevada na região sul (20.2%) quando comparada com a região centro (12.5%) e norte (5.6%) do país (9). Por outro lado, a prevalência de HBV situa-se entre 5 a 20% (10). Estudos anteriormente realizados nos bancos de sangue, mostram prevalência de HBsAg de 15.6 (11), 6.01% (12) na região sul, e 10.6% (13) na região centro. Porém, outros estudos realizados nas unidades sanitárias da cidade de Maputo em pacientes HIV positivos, indicam a prevalência de HBV activa de 16% (14) e 11.7% (15).

Alguns estudos realizados em Moçambique mostram frequências de HBsAg com números variáveis, como ilustra a Tabela 1 abaixo.



**Tabela 1:** Frequência de HBsAg activa encontrada em diferentes estudos em Moçambique

Referência	População	Prevalência (%)
Bonnet et al. (2013)	Pacientes co-infectados HIV/TB	21.0
Stockx J et al. (2011)	Dadores de Sangue	10.6
Semá C et al. (2011)	Pacientes HIV +	15.6
Samo Gudo E et al. (2009)	Dadores de Sangue	6.0
Ramanlal et al. (2008)	Pacientes HIV - /HIV +	11.7
Cunha et al. (2007)	Dadores de Sangue	4.5 Mulheres 10.6 Homens

Destes, cinco foram realizados na zona sul (Cunha L *et al*, 2007, Samo Gudo *et al*, 2009, Ramanlal *et al*, 2008, Semá C *et al*, 2011 e Bonnet *et al*, 2013), e um estudo realizado no Banco de Sangue do Hospital Provincial de Tete (Stockx J *et al*, 2011).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) estima-se que mais de 600 mil pessoas morrem anualmente devido a complicações da infecção do HBV (6). Em África mais de 50 milhões são portadores crónicos do HBV e 25% correm o risco de morte (4).

A probabilidade de tornar-se um portador crónico pelo HBV é inversamente proporcional à idade no momento da infecção. Em crianças recém-nascidas, a infecção do HBV leva quase sempre a um estado de portador crónico (16). A infecção crónica do HBV pode ocorrer em aproximadamente 90% das crianças que são nascidas de mães positivas para o antígeno de superfície do HBV (HBsAg) e do antígeno *e* de HBV (HBeAg) (16, 17).

A prevalência da co-infecção HIV/HBV é dada como elevada nos países onde o HBV é endémico ou intermediário (1, 2). Por outro lado, em países onde o vírus é altamente endémico a taxa pode ser tão alta, atingindo 25% (1, 2). O HIV e o HBV podem ser transmitidos pela via sexual no adulto.

Mais dados são necessários em relação à prevalência da infecção pelo HBV entre indivíduos infectados pelo HIV em Moçambique. A presença deste vírus em pacientes infectados por HIV favorece um pior prognóstico, acelerando a progressão da infecção pelo HBV, assim como pode pôr em causa o manuseio destes pacientes.

## 2. CARACTERIZAÇÃO DO VÍRUS DE HEPATITE B

O vírus da hepatite B (HBV) é um vírus DNA de 42 nm de diâmetro, pertencente a família *Hepadnaviridae* e género *Orthohepadnavirus* (18). Este vírus é constituído por uma partícula esférica de dupla camada, uma externa ou envelope e uma interna ou central (19). A sua replicação ocorre de preferência nos hepatócitos humanos. Apesar de ter preferências por hepatócitos, estudos mostram que, partículas de DNA do HBV podem ser observados em células mononucleares e rins (18).

O genoma viral é de 3.200 pares de bases (pb) (16, 19) e a replicação viral ocorre através da enzima transcriptase reversa. O genoma do HBV apresenta quatro genes; o gene de *envelope* (pré-S/S); o gene de *core* (pré-C/C); o gene *X* e o gene de *Polimerase* (P). A região *S* codifica proteínas de superfície do envelope e é composta pelas regiões pré-S1 (grande), pré-S2 (média) e *S* (pequena) onde é encontrado o HBsAg. O gene *C* e a região pré-C codificam a proteína *core*, o HBcAg, que é encontrado no tecido hepático. A região pré-core codifica a proteína HBeAg, presente no soro de pacientes com replicação do HBV. O gene *X* codifica o HBX, que está envolvido na hepatocarcinogênese, através de transativação de promotores celulares e virais (19), e o gene de polimerase (P), que codifica a polimerase, é importante para a replicação do HBV (17).

O genoma viral é cercado por uma capa de antígenos (HBcAg) e um envelope que contem antígenos de superfície lipoproteicos para hepatite B (HBsAg) (17, 18, 20-22) conforme mostra a figura 1.

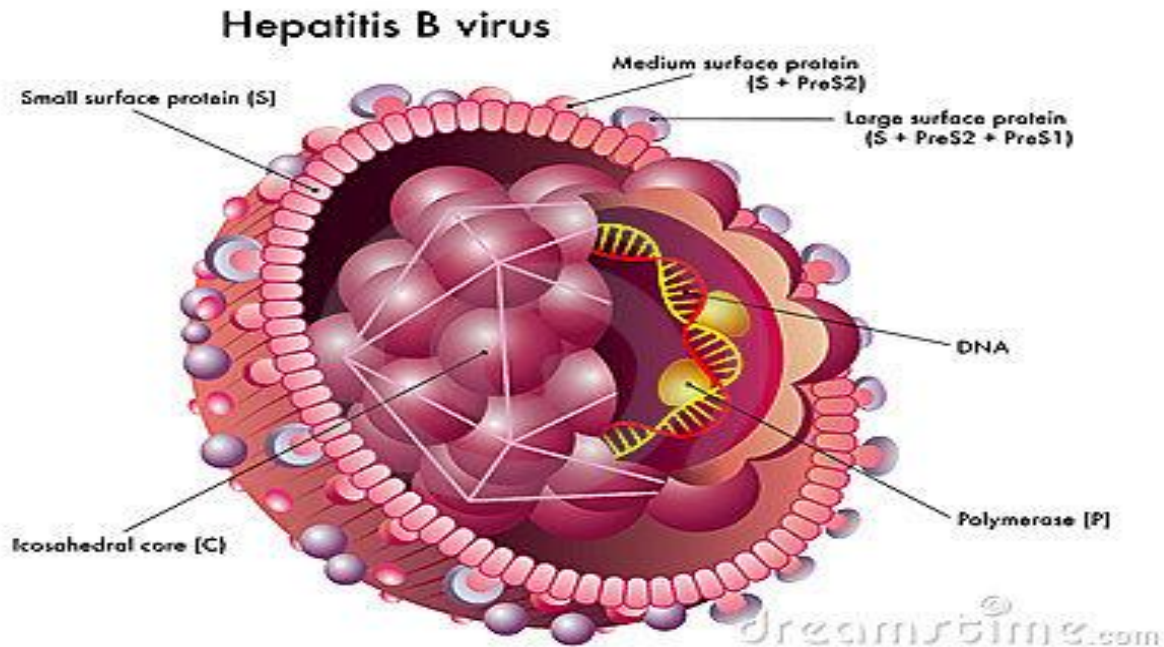


Figura 1: Estrutura do HBV. FONTE: <http://people.rit.edu/japfaa/infectious.html>

Devido à sua alta especificidade, o HBV infecta o homem, que constitui o seu reservatório natural (23). Este vírus não desenvolve em culturas de células artificiais, isto é, não cresce em meios de cultura (24), não sendo possível diagnosticá-lo através de cultivos nos laboratórios.

## 2.1. Epidemiologia

A nível mundial a distribuição geográfica da prevalência do HBsAg é classificada em alta, intermédia e baixa. Considera-se regiões de prevalência alta, aquelas que apresentam prevalência de HBsAg  $\geq 8\%$ , como África Subsaariana, Sudoeste Asiático, ilhas do pacífico e China. Regiões de prevalência intermédia, aquelas que apresentam prevalência de HBsAg entre 2-7%, como Europa de Leste, Japão, Mediterrâneo, centro e sul da Ásia, países da América Central e do Sul. Regiões de prevalência baixa, aquelas que apresentam prevalência de HBsAg  $< 2\%$  como, Austrália, Nova Zelândia, Europa Ocidental, Estados unidos e Canada (4, 15, 24, 25). Conforme mostra a figura 2.

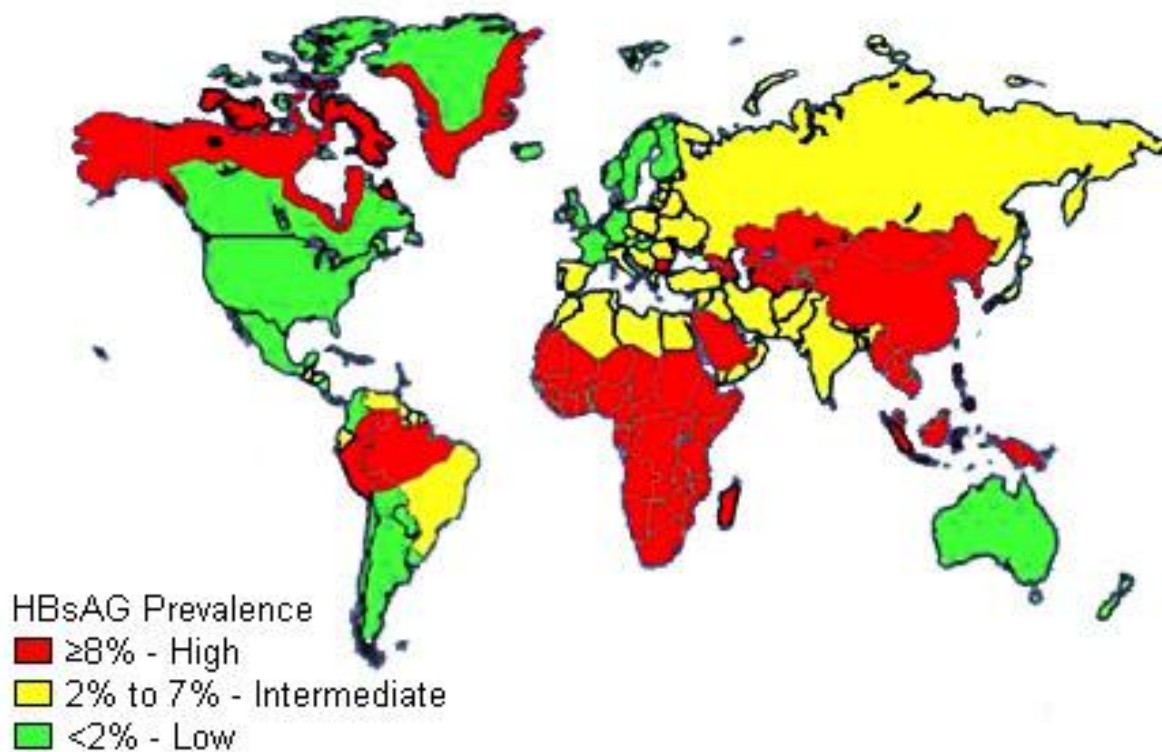


Figura 2: Distribuição mundial do vírus de hepatite B (HBV) pelas diferentes regiões endêmicas (OMS, 2009).

A Prevalência do HBsAg em população adulta da África Subsaariana varia entre 9.6%-20.0% e de outros marcadores serológicos de HBV (Anti.HBc e Anti.HBs) é de 56.0-98.0%, respectivamente (4), conforme mostra a Tabela 2.

Tabela 2: Prevalência de HBsAg e marcadores de HBV em População adulta da África Subsaariana (4).

<i>País</i>	<i>HBsAg + (%)</i>	<i>Marcadores HBV+ * (%)</i>
Etiópia	11.0	79.0
Kénia	11.4	56.2
Moçambique	14.6	75.2
Nigéria	10.0	72.5
África do Sul	9.6	76.0
Namibia	14.0	87.5
Zimbabwe	10.0	76.0
Senegal	11.8	91.0
Gambia	10.0	90.0
Zaire	20.0	78.9
Burundi	11.0	76.0
Mali	11.3	97.7

\*Marcadores de HBV incluindo HBsAg ou anti-HBc e anti-HBs

Actualmente, a nível mundial são conhecidos 10 genótipos do HBV (A - J) (19), sendo o genótipo E restrito à África e o F é o mais frequente na América Central e do Sul (16).

## 2.2. Transmissão

As formas de transmissão do HBV são semelhantes as do HIV. A transmissão perinatal é dada como a mais importante nos países em desenvolvimento, embora a maioria das infecções ocorre na infância e no início da idade adulta (26). A infecção pelo HBV nos países desenvolvidos é geralmente mais frequente em grupos sexualmente activos. Enquanto que em países em desenvolvimento esta infecção é geralmente adquirida no início da infância, resultando em uma grande proporção de pessoas infectadas nessa idade progredindo para cronicidade e consequente dano ao fígado (27).

O sangue e os fluidos corporais são considerados os primeiros veículos de transmissão do HBV. No entanto, estudos evidenciam que este vírus é termoestável, podendo propagar

através de contacto de secreções corporais como sémen, saliva, suor, lágrimas e leite materno de indivíduos infectados (17).

A transfusão de sangue e seus componentes, acidentes por picadas com agulhas entre profissionais de saúde, diálise, o uso de drogas endovenosas constituem as vias de transmissão para a aquisição da infecção por HBV. Nas áreas de alta endemicidade, como África e sudoeste Asiático, a transmissão ocorre de mãe para filho durante o trabalho de parto (transmissão vertical). As infecções em crianças recém-nascidas levam a um risco de portador crónico que pode atingir entre 60 à 90% (16, 17).

Estudos mostram que apesar do HBV e HIV terem as mesmas vias de transmissão, o HBV revela ser 100 vezes mais infeccioso que o HIV, e 10 vezes mais que HCV, o que confere maior poder infeccioso (17). A vida média do HBV no plasma pode variar de 1 á 2 dias, nos hepatócitos de 10 á 100 dias e fora do corpo humano o vírus pode sobreviver até 7 dias (16).

### **2.3. Marcadores da Infecção pelo HBV**

Durante o curso da infecção pelo HBV, o primeiro marcador sorológico que aparece é o antígeno de superfície (HBsAg). Este marcador pode ser detectado em média três semanas (1-10 semanas) após a infecção e permanece por três meses (curso normal de infecção). A sua presença indica a fase aguda da infecção (28). Indivíduos que permanecem positivos além do sexto mês após a infecção são classificados como portadores e esta positividade é indicativa da fase crónica (29). Com o desenvolvimento da imunidade, o anti-HBs aparece cerca de duas semanas após o desaparecimento do HBsAg e permanece positivo para toda a vida (17).

O segundo marcador é o HBeAg, que é um antígeno do nucleocapsídeo viral. Este marcador é associado à fase de replicação viral activa e de elevado risco de transmissão (16). Na infecção aguda o HBeAg permanece positivo entre 3-6 semanas (período em que há maior risco de transmissão) e a sua persistência está associada a hepatite crónica. Este marcador é particularmente útil para determinar o risco em crianças nascidas de mães infectadas (crianças nascidas de mães HBeAg positivas apresentam um risco de 90% para desenvolverem hepatite) (4, 17).

O anticorpo Anti-HBe é detectável em 90 à 95% dos pacientes HBeAg positivos entre 2 à 3 semanas após o desaparecimento deste antígeno. A presença do anti-HBe constitui o primeiro sinal de recuperação e indica redução do risco de contágio (30).

O terceiro marcador encontrado é o IgM anti-HBc, que indica infecção recente podendo permanecer positivo por até 6 meses. O IgG anti-HBc é o único marcador que aparece na janela imunológica, que indica o tempo decorrido entre o desaparecimento do HBsAg e o aparecimento do anti-HBs (16, 17, 23, 31-33). O IgG anti-HBc é considerado um importante marcador de infecção passada (17).

As figuras 3 e 4 mostram como evoluem os marcadores durante a infecção aguda e durante a infecção crónica pelo HBV.

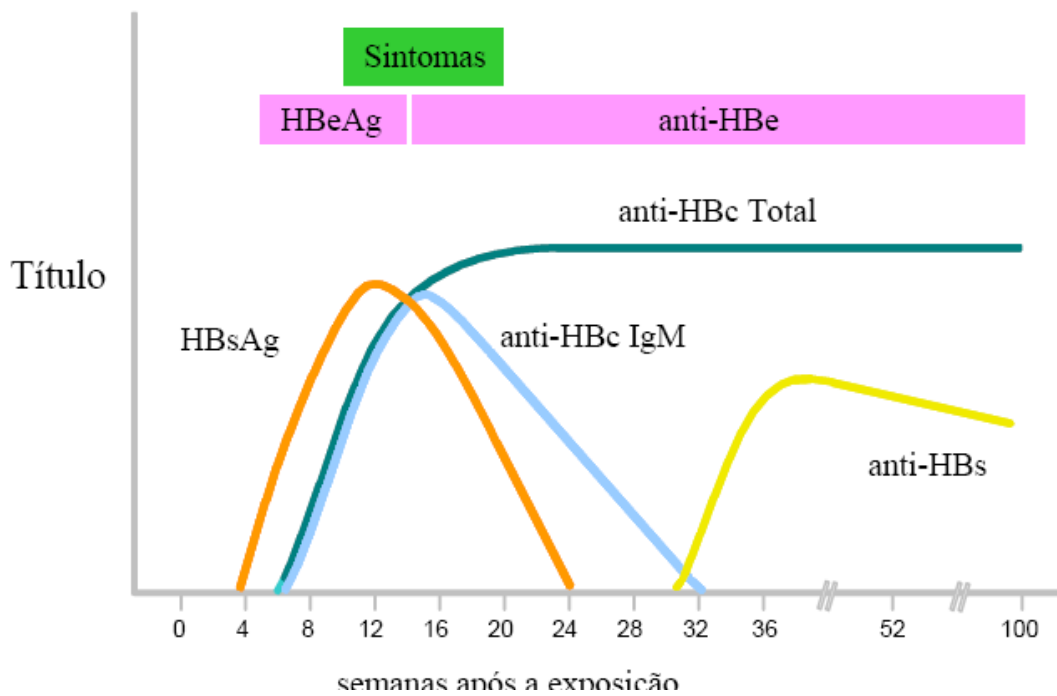


FIGURA 3: Representação dos eventos sorológicos na hepatite B aguda. **Fonte:** <http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/slideset>

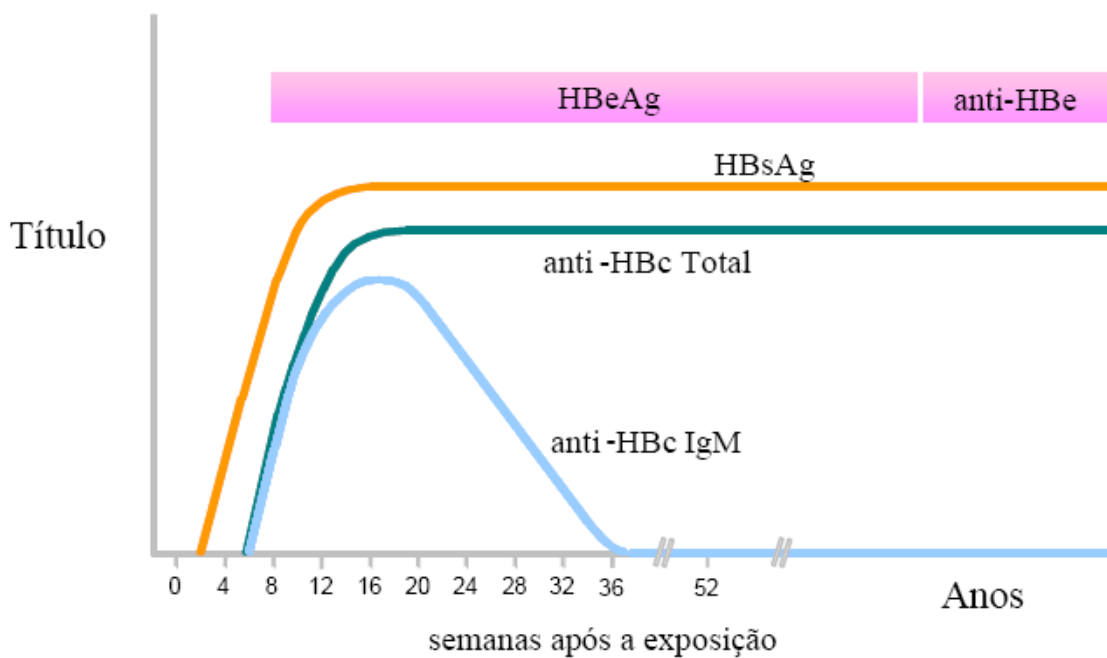


FIGURA 4: Representação dos eventos sorológicos na hepatite B Crônica **Fonte:** <http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/slideset>.



## **2. 4. Infecção Aguda**

A infecção aguda é caracterizada por um longo período de incubação variando entre quatro a 12 semanas (16). Os sintomas durante este período incluem febre, mal-estar e anorexia, seguidos por vômitos, náuseas, desconfortos abdominais e calafrios (17). Posteriormente, surgem os sintomas clássicos icterícos da lesão hepática (icterícia, urina escura, fezes claras).

Na infecção aguda, aparecem os marcadores: IgM anti-HBc que surge aproximadamente um mês após o aparecimento do HBsAg e do anticorpo IgG anti-HBc. O IgM anti-HBc, juntamente com a presença do antígeno de superfície HBsAg, constitui a chave do diagnóstico da infecção aguda, uma vez que a fracção IgG deste anticorpo serve apenas como marcador de contacto e que persiste por longo tempo independente da resolução ou da cronificação da hepatite (34).

## **2.5. Infecção Crónica**

A infecção crónica é definida pela persistência do HBsAg no soro por um período superior a 6 meses. A história natural da doença pode variar desde um portador assintomático até formas mais graves com falência hepática, sendo resultado das interações entre a replicação viral e a resposta imunológica do hospedeiro. Até 10 % dos pacientes crónicos podem desenvolver cirrose e insuficiência hepática (35).

Depois da progressão para hepatite crónica, o curso da infecção pode geralmente ser dividido em quatro fases: 1) imunotolerância; 2) imunoeliminação; 3) controle imunológica também designada inactiva de baixa replicação ou não replicativa; e 4) reactivação (17).

A probabilidade de uma infecção se tornar crónica encontra-se bastante associada à idade. As crianças encontram-se mais propensas a desenvolver hepatite crónica. Cerca de 90% são infectadas durante o primeiro ano de vida, 30-50% entre 1-4 anos, e sendo os adultos menos propensos, com taxas de infecção menor que 5%. (WHO fact sheet n° 204).

## 2.6. Diagnóstico

O diagnóstico diferencial das hepatites virais é determinado pela pesquisa dos marcadores, que ocorrem de forma variável no decurso da doença, uns na fase inicial, de forma passageira e outros aparecem por longos períodos de forma contínua (17).

O diagnóstico laboratorial baseia-se em três tipos de testes: sorológicos, nos quais se pesquisam marcadores imunológicos nas diferentes fases da infecção; testes moleculares que permitem a detecção direta, com alto grau de sensibilidade, de uma região do genoma viral (DNA ou RNA) no sangue ou em tecidos infectados; e testes bioquímicos que permitem avaliar o tipo e o grau de comprometimento hepático (23, 36).

Os marcadores serológicos de hepatite B mais utilizados para o diagnóstico são: antígenos de *superfície* contra a hepatite B (HBsAg), os anticorpos específicos contra os antígenos de *superfície* (anti-HBs), os anticorpos contra o antígeno do *core* (anti-HBc), que pode ser IgM ou IgG, e o antígeno pre-core ou “e” (HBeAg) e o seu anticorpo específico (anti-HBe).

## 2.7. Casos de Hepatite

A infecção pelo vírus de hepatite B pode ser definida baseado em marcadores serológicos como descrito na tabela 3.

Tabela 3: Definição de casos de infecção pelo vírus de hepatite B (HBV).

Marcador	Resultado	Interpretação
HBsAg Anti-HBc anti-HBs	Negativo Negativo Negativo	Susceptível
HBsAg Anti-HBc anti-HBs	Negativo Positivo Positivo	Imunidade Natural
HBsAg Anti-HBc anti-HBs	Negativo Negativo Positivo	Imunidade vacinal
HBsAg Anti-HBc IgM anti-HBc Anti-HBs	Positivo Positivo Positivo Negativo	Infecção Aguda
HBsAg Anti-HBc IgM anti-HBc Anti-HBs	Positivo Positivo Negativo Negativo	Infecção crônica
HBsAg Anti-HBc anti-HBs	Negativo Positivo Negativo	Quatro possibilidades: 1. Infecção Resolvida com anti-HBs não detectável. 2.Reacção inespecífica do anti-HBc 3. Infecção crónica (níveis baixos de HBV DNA) designada como infecção oculta 4. Transferência passiva de anticorpos em crianças nascidas de mães HBsAg reactivas.

Adaptado de: *Estratégia abrangente de Imunização para eliminar a transmissão da infecção pelo vírus hepatite B nos Estados Unidos: Recomendações da comunidade Consultiva em Práticas de Imunização. Parte I: A imunização de bebês, crianças e Adolescentes.MMWR2005; 54(No.RR-16).*

## **2.8. Tratamento**

Uma das formas de interromper a transmissão de hepatite B é a monitorização dos indivíduos recentemente infectados com o intuito de obter informações críticas sobre os factores de riscos comportamentais, sociais e biológicos para identificar e conseqüentemente prevenir a ocorrência novas transmissões (23, 36).

O desenvolvimento de campanhas educativas contra doenças sexualmente transmissíveis (DST), realização de triagem materna para prevenir a infecção perinatal, sobretudo profilaxia de recém-nascidos de mães com soropositividade ao HBsAg e rastreio das bolsas de sangue também são consideradas como formas de prevenção da infecção pelo HBV. No entanto, a forma mais segura e eficaz na prevenção da infecção pelo HBV continua sendo a vacinação (23, 36, 37).

## **2.9. Prevalência da infecção do HBV em Moçambique**

Em Moçambique, existem poucos trabalhos publicados sobre a real situação das infecções pelo HBV. Estudos realizados na região sul, particularmente na cidade de Maputo, em uma população vivendo com ou sem HIV mostram taxas elevadas de HBV. Contudo um outro estudo mostrou que a prevalência de marcador do HBV entre os refugiados moçambicanos que vivem em dois campos diferentes na Suazilândia foi de 66.0% e 65.0% (38).

## **3. O HIV**

### **3.1. Caracterização do HIV**

O HIV pertence à família *Retroviridae*, género *Lentivirinae*. A infecção por HIV é caracterizada por uma evolução lenta da doença, associado a doenças neurológicas e imunossupressoras (39).

O determinante na patogenia na doença causada pelo HIV é o seu tropismo aos macrófagos e linfócitos T *helper* (auxiliares) que expressam o marcador CD4+. A imunossupressão induzida pelo HIV resulta de uma redução no número de linfócitos TCD4+ que

destruam as funções auxiliares (39, 40). A perda dos linfócitos TCD4+ permite o desenvolvimento de infecções oportunistas associadas (39).

O HIV possui vários mecanismos para escapar do controle imunológico, sendo os mais significativos, a capacidade do vírus de alterar a sua antigenicidade, escapar a eliminação pelos macrófagos bem como a destruição das células TCD4+ (40).

### **3.2. Epidemiologia**

Moçambique continua nos dez países mais afectados pelo HIV no mundo. Estima-se que mais de um quarto de adultos nalgumas regiões estão infectados (9). Em 2013, aproximadamente um milhão e meio de moçambicanos viviam com o HIV, destes cerca de 800 mil eram mulheres e 200 mil crianças, com cerca de 120 mil novas infecções ocorrem por ano.

Em Moçambique, segundo os dados do Inquérito Nacional de Prevalência Riscos Comportamentais e Informação sobre o HIV e SIDA (INSIDA, 2009), 11.5% da população adulta dos 15-49 anos estão actualmente infectados pelo HIV, sendo a prevalência maior nas mulheres (13.1%) e mais elevada na zona sul do país (20.2%) (9).

### **3.3. Transmissão e Sintomas**

A transmissão do HIV pode ocorrer por várias formas, sendo as mais destacadas as seguintes: relações sexuais, transfusões de sangue e seus componentes e através de fluidos corporais. O vírus também pode ainda ser transmitido no período perinatal durante a gravidez ou aleitamento (3, 39). Este vírus ao infectar os linfócitos TCD4+, macrófagos e células dendríticas, causa uma disfunção maciça no sistema imunológico, o que conduz à uma descoordenação, levando a sua progressiva inoperância, devido à diminuição das células TCD4+ induzidas pelo HIV. Como consequência, o indivíduo infectado acaba por se tornar vulnerável a infecções oportunistas. Esta doença, o SIDA, pode-se manifestar de diversas formas, como por exemplo: o Sarcoma de Kaposi, Síndrome Caquético, e encefalopatia cujo mecanismo de desenvolvimento não é bem conhecido (39).

#### **4. CO- INFECCÃO HIV/HBV**

A co-infecção entre vírus hepatotrópicos e o HIV resulta numa interacção complexa, com uma imunossupressão induzida pelo HIV que altera a patogenia e o curso da infecção pelo HBV (17). O HIV estabelece uma infecção crónica e silenciosa que destrói gradualmente o sistema imune, diminuindo as células TCD4 e TCD8, levando a uma activação aberrante do sistema imune, alterando, portanto, intensamente, a resposta imunológica sobre o HBV (23).

#### **5. HEPATITE OCULTA**

A hepatite B oculta é uma situação clínica bem definida, caracterizada pela ausência HBsAg e detecção do HBV DNA no soro ou no fígado com ou sem presença de anticorpo do HBV (anti-HBc total isolado ou associado ao anti-HBs) (16). A infecção por HBV oculta surge quando o indivíduo se encontra entre a fase de portador inactivo e a fase de reactivação (41).

A detecção da infecção da hepatite B oculta tem aumentado significativamente em indivíduos infectados por HIV em todo o mundo, incluindo na África Subsariana, com alguns estudos a detectar cerca de 85% de padrão sorológico anti-HBc em indivíduos infectados por HIV e que se revelam igualmente positivos para HBV DNA (42).

Como resultado da co-infecção HBV/HIV, tem sido observada uma alta prevalência de hepatites ocultas, que causam sérios problemas no diagnóstico, tratamento e controlo do HIV. Um estudo realizado em 2006 na África do sul, mostrou que a prevalência de hepatites ocultas em pacientes HIV positivos foi de 22.1% (42).

Nas zonas de endemicidade elevada, o aumento da prevalência da infecção por HBV oculta devido a infecção por HIV poderá ter um impacto negativo na prevenção e controlo da infecção por HBV e com consequência epidemiológicas graves.

## 6. JUSTIFICAÇÃO DO ESTUDO

Em Moçambique, a triagem para a infecção pelo HBV não é rotineiramente implementada nas consultas de ambulatórios do Serviço Nacional de Saúde (SNS), incluindo nos indivíduos infectados pelo HIV. A realização deste estudo irá fornecer informações úteis sobre a frequência da infecção por HBV entre os indivíduos infectados pelo HIV. Como também, irá orientar o SNS na implementação de políticas baseadas em evidências científicas para o cuidado e tratamento dos indivíduos co-infectados por HIV/HBV. Além disso, com os resultados do presente estudo, pretende-se trazer recomendações para implementação em todo o país, de um sistema de vigilância da infecção por HBV entre indivíduos infectados pelo HIV.

A co-infecção tem contribuído para aumento da morbidade e mortalidade quando comparado aos mono-infectados. Alguns autores defendem que em pacientes co-infectados HIV-HBV, o nível de resposta ao tratamento e a vacina é considerada baixa (43).

A taxa de infecção por HBV tem sido actualmente a maior causa do cancro na África onde Moçambique se localiza, o que pressupõe que a infecção pelo HBV ocorre durante a infância e o HIV na adolescência através de práticas sexuais, o que pode contribuir para a dinâmica da co-infecção (44).

Dos poucos estudos publicados sobre a prevalência de HBV em indivíduos com infecção por HIV, mostram que ambos vírus são prevalentes, havendo uma necessidade de compreender quais os factores de risco associados, e as características virológicas, imunológicas e que medidas devem ser tomadas para o tratamento.

## **7. OBJECTIVOS**

### **7.1. Objectivo geral**

- ✓ Determinar a prevalência do vírus de hepatite B (HBV) em indivíduos infectados com o vírus de imunodeficiência humana (HIV) atendidos nas consultas de triagem das doenças crónicas no Centro de Saúde de Polana Caniço, Cidade de Maputo - Moçambique.

### **7.2. Objectivos específicos**

- ✓ Determinar a frequência de infecção activa por vírus da hepatite B (HBV) (HBsAg reactivo) em indivíduos infectados por vírus de imunodeficiência humana (HIV).
- ✓ Descrever as características sócio-demográficas, clínicas, imunológicas e virológicas dos indivíduos infectados por HIV com e sem co-infecção por HBV.
- ✓ Descrever alguns factores de riscos associados a co- infecção HIV/HBV.
- ✓ Descrever a proporção dos diferentes marcadores sorológicos (AgHBs, anti-HBc, anti-HBs, AgHBe e anti-HBe) em indivíduos infectados por HIV.
- ✓ Descrever a proporção de portadores de HBV oculto (AgHBs não reactivo e anti-HBc reactivo).



## **8. METODOLOGIA**

### **8.1. Desenho de estudo**

O presente estudo é descritivo transversal, onde foram feitas colheitas de amostras para a determinação da prevalência do HBV em indivíduos infectados com HIV atendidos nas consultas de doenças crónicas na unidade sanitária do estudo.

### **8.2. Local de estudo**

O estudo decorreu no Centro de Saúde da Polana Caniço, Cidade de Maputo, entre os meses de Setembro de 2013 à Fevereiro de 2014.

Este centro se encontra localizado numa região suburbana da cidade de Maputo com uma cobertura de saúde cerca de 95,000 habitantes e presta cuidados de saúde primário e serviços de tratamento para a população adjacente e próxima ao local. Em 2012, estavam inscritos 16,885 pacientes no serviço de HIV neste serviço. Destes, 37.7% estavam em TARV com mais de 99% dos pacientes em tratamento da primeira linha com regimes contendo inibidores não nucleosídeos e nucleosídeos da transcriptase reversa que excluem o TDF.

Actualmente, em média, cerca de 170 novos pacientes com HIV são recém-inscritos por mês na consulta TARV para o seguimento e 68 novos pacientes iniciam TARV mensalmente. Estima-se que pelo menos 22 pacientes HIV positivos atendem a consulta médica de HIV nesta unidade sanitária por dia.

A escolha deste local para a condução do presente estudo foi devido ao fluxo que é relativamente elevado de pacientes HIV positivos que procuravam os serviços para o diagnóstico, tratamento das doenças crónicas e monitoria do seu estado de saúde. Dos participantes incluídos no estudo, 64.2% (n=397) estavam em TARV contra 35.8% (n=221) sem TARV.

### 8.3. Tamanho de amostra e população do estudo

Foram estimados 618 pacientes adultos com critérios de elegibilidade a serem incluídos no estudo. O tamanho da amostra foi calculado considerando a prevalência de HBsAg activa de 16% em indivíduos infectados por HIV e virgens ao TARV, com um erro máximo de 5% (INS, 2011) e poder de 80% com base na fórmula. A população do estudo foi constituída por pacientes HIV positivos de ambos os sexos que procuravam os serviços de triagem e consultas de doenças crónicas.

$$n = \frac{Z^2 P(1-P)}{d^2}$$

Onde: n = tamanho de amostra

Z = nível de confiança desejado

P = prevalência esperada

d = precisão

### 8.4. Critérios de inclusão

Foram incluídos neste estudo pacientes com idade igual ou superior a 18 anos, com sorologia positiva para HIV e que aceitaram participar do estudo assinando o Termo de Consentimento Informado.

## **8.5. Critérios de exclusão**

Foram excluídos do estudo os pacientes com idade inferior a 18 anos, com sorologia negativo para HIV.

## **8.6. Procedimento para recolha dos dados**

Foi efectuado um recrutamento consecutivo no qual todos os pacientes que foram às consultas de triagem e de seguimento eram convidados a uma palestra. Após a palestra, os pacientes, eram convidados para uma sala para participar no estudo assinando um consentimento informado. Após obter-se o consentimento informado, era aplicado um questionário com informação sócio-demográfica contendo perguntas sobre factores de risco associados à infecção por HBV. Em todos os participantes era colhida uma amostra de 20 mL de sangue venoso sendo 15 mL em tubos com anticoagulante EDTA K<sup>3</sup> e 5 mL em tubo seco. No local era realizado o teste de diagnóstico rápido (TDR) do HBV cujo resultado era revelado a cada participante no mesmo dia. Os pacientes com resultados positivos, terminado o processo de colheita, eram encaminhados para uma consulta médica mediante uma guia de referência, para o melhor seguimento. No final do processo, todos os participantes eram convidados a regressar 8 semanas após a colheita de amostras biológicas, para proceder o levantamento dos resultados laboratoriais sobre o diagnóstico de outros marcadores sorológico do HBV.

Todas as amostras eram transportadas para o Laboratório do Centro de Investigação e Treino em Saúde da Polana Caniço (CISPOC) para processamento e realização de exames CD4, hemograma, bioquímica (ALT) em menos de 6 horas após a colheita. Após a realização dos exames clínicos, as amostras colhidas em tubos EDTA K<sup>3</sup> eram centrifugadas, separadas e alicotadas e o plasma conservado em 5 viais de 1.5mL (4 viais para determinação das cargas virais de HBV e HIV e 1 vial de 1.5 mL para arquivo).

As amostras colhidas em tubos secos, após a retracção de coágulo, eram centrifugadas, separadas e alicotadas e o soro conservado em 2 viais de 2mL para determinação dos marcadores de HBV. Todas as amostras eram congeladas à -80°C no Laboratório de CISPOC. As amostras foram transportadas para os Laboratórios de Sorologia e Virologia Molecular do Instituto Nacional de Saúde (INS) para determinação dos testes de sorologia do HBV e de carga viral do HBV. As amostras foram transportadas em condições adequadas de biossegurança no interior de

uma caixa térmica contendo gelo e um suporte apropriado para os tubos e sem qualquer contacto das amostras com o exterior.

## **8.7. Testes Laboratoriais.**

### **8.7.1. Triagem da infecção activa pelo vírus da Hepatite B (HBV)**

Todos os participantes seleccionados foram testados para infecção activa por HBV (HBsAg) com teste de diagnóstico rápido (TDR), Determine HBsAg (Alere<sup>TM</sup>, Japão). Este teste possui uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 99.8%, respeitando os padrões da FDA.

### **8.7.2. Sorologia do HBV**

Para a determinação dos diferentes marcadores sorológicos do HBV, foi usada amostra de sangue venoso (soro). As amostras biológicas foram testadas no Laboratório de Referência de Sorologia do INS. Para todos os marcadores sorológicos do HBV (HBsAg, anti-HBs, anti-HBc, HBeAg, anti-HBe) foi realizado o teste ELISA do tipo sanduíche (MPDiagnostics ELISA 4.0, Singapore).

O kit MPDiagnostics ELISA 4.0, apresenta uma sensibilidade de 100% (sensibilidade analítica de 0,1 UI/mL de HBsAg) e uma especificidade de 99.8%, e, é um teste qualitativo de fase sólida, pelo método de sanduíche, para detecção do antígeno ou anticorpos do HBV. Durante o teste, as amostras dos indivíduos e o conjugado enzimático são adicionados às cavidades da placa sensibilizada com anticorpos ou antígeno. De seguida, é feita uma incubação e, se a amostra contiver o antígeno, estes se ligam aos anticorpos fixados na placa ou vice-versa. Após a incubação inicial a microplaca é lavada para remoção de todo material não ligado. De seguida é adicionado o substrato e, a placa é novamente incubada, produzindo uma cor azul indicando a presença do antígeno ou anticorpo na amostra. A adição de uma solução de ácido sulfúrico paralisa a reacção e produz uma cor amarela. Para o teste de HBsAg, HBeAg, anti-HBs, a intensidade de cor formada é proporcional à concentração do agente presente na amostra, sendo inversamente proporcional para o teste anti-HBc e anti-HBe (Prospectos do Kit MPD HBsAg, HBeAg, anti.HBe, anti-HBs, e anti.HBc ELISA 4.0).

Todas as análises foram feitas com amostras de soro controle positivo e negativo para os respectivos marcadores sorológicos conforme as instruções do fabricante. Com base na densidade óptica (D.O) dos soros após validação e cálculo de *Cut off*, os valores da D.O para a pesquisa de antígenos e anticorpos foram convertidos numa variável qualitativa, com duas categorias: negativo e positivo para sua interpretação.

### **8.7.3. Testagem de HBV oculta**

As amostras de HBsAg negativas e com anti-HBc positivas foram testados para DNA-HBV, utilizando PCR em tempo real para o diagnóstico de infecção oculta por HBV. O DNA foi extraído usando QIAmp Sangue DNA Mini Kit (QIAGEN, Hilder, Alemanha). O PCR em tempo real foi feito usando COBAS Ampliprep / COBAS ® TaqMan ® HBV Test v2.0 (Roche Diagnostics, Alemanha). O teste permite a preparação automatizada das amostras do soro e plasma humano, seguida da amplificação e detecção automatizada por PCR do DNA alvo para o HBV e do DNA do padrão de quantificação do HBV. Tem um limite detecção de 20 UI/mL.

### **8.7.4. Imunofenotipagem das células TCD4+**

A imunofenotipagem das células foi realizada em amostras de sangue fresco utilizando a técnica de PIMA no Laboratório do CISPOC em Maputo.

### **8.7.5. Determinação do ALT e hemograma completo**

A determinação de alanina aminotransferase (ALT) foi feita usando um analisador automático, Selectra Júnior, em amostras de soro. O hemograma: glóbulos vermelhos, hemoglobina, plaquetas, glóbulos brancos foram determinados em todos os participantes utilizando um analisador hematológico automático Sysmex KX-21. As amostras foram processadas no Laboratório CISPOC em amostra de sangue fresco. As amostras eram enviadas para este Laboratório em menos de 6 horas após a colheita para o Laboratório.

## **8.7.7. PRINCÍPIO DE ANÁLISES REALIZADAS**

### **8.7.7.1. Determinação do HBsAg**

O método imunoenzimático para a determinação qualitativa de HBsAg é um teste directo do tipo sanduíche, baseado na técnica de ELISA. A presença de HBsAg permite que o conjugado enzimático ligue-se à fase sólida. A actividade enzimática é proporcional à concentração de HBsAg presente nas amostras ou nos controlos e é medida pela adição de uma solução incolor de cromógeno/substrato.

A acção da enzima no cromógeno (substrato) produz uma coloração medida por espectrofotómetro, coloração observada nos controlos positivos, e nas amostras positivas do presente estudo. O procedimento técnico para a determinação do HBsAg encontra-se em anexo 1.

### **8.7.7.2. Determinação do Anti-HBc**

Foi realizado o teste de ELISA baseado no princípio de inibição competitiva. Depois de terminar o teste de ensaio, o desenvolvimento de cor sugere a ausência do anti-HBc, enquanto ausência de cor sugere a presença de anti-HBc. Os poços de reacção estão revestidos com antígeno *core* do HBV. O anticorpo para o HBcAg (anti-HBc humano) interligado à enzima peroxidase de rábano serve de conjugado.

A amostra do teste ou os respectivos controlos são incubados nos poços de reacção juntamente com o conjugado. Na ausência de anti-HBc, forma-se um complexo de anticorpos marcado com uma fase sólida de HBcAg/anti-HBc. Após a lavagem e a incubação com o substrato TMB, ocorre desenvolvimento de cor azul. A reacção da enzima é interrompida após a adição de uma solução de ácido sulfúrico, que muda a cor para amarelo de forma intensa. No entanto, na presença de anti-HBc, este compete com o conjugado de anticorpos marcados para o HBcAg da fase sólida e evita o surgimento de qualquer coloração após a adição do substrato. O procedimento técnico para a determinação do Anti-HBc encontra-se em anexo 2.

### **8.7.7.3. Determinação do Anti-HBs**

Trata-se de um método imunoenzimático directo, do tipo sanduíche, no qual as amostras foram incubadas em poços de reacção em microplaca recobertos com HBsAg altamente purificado. Se a amostra continha anticorpos anti-HBs, estes se ligavam especificamente ao HBsAg que recobria o poço de reacção. Após a lavagem para extrair a amostra residual, adicionou-se HBsAg conjugado com peroxidase, que reagiu com o complexo antígeno-anticorpo formado na primeira incubação. Após a segunda incubação, procede-se à adição do substrato enzimático /cromógeno, o que resultou na aparição de cor azul, evidenciando positividade para anti-HBs, assim sendo, a intensidade da cor foi proporcional à concentração de anti-HBs na amostra. O procedimento técnico para a determinação do Anti-HBs encontra-se em anexo 3.

### **8.7.7.4. Determinação do HBeAg**

O método imunoenzimático para a determinação qualitativa de HBeAg é um teste directo do tipo *sanduíche*, baseado na técnica de ELISA. A presença de HBeAg permite que o conjugado enzimático ligue-se à fase sólida. A actividade enzimática é proporcional à concentração de HBeAg presente nas amostras ou nos controles e é medida pela adição de uma solução incolor de cromógeno/substrato.

A acção da enzima no cromógeno (substrato) produz uma coloração medida por espectrofotómetro, coloração observada nos controles positivos, e nas amostras positivas durante o presente estudo. O procedimento técnico para a determinação do HBeAg encontra-se em anexo 4.

### **8.7.7.5. Determinação do Anti-HBe**

Teste de ELISA baseado no princípio de inibição competitiva. Depois de terminar o teste de ensaio, o desenvolvimento de cor sugere a ausência do anti-HBe, enquanto que ausência de cor sugere a presença de anti-HBe. Os poços de reacção estão revestidos com antígeno primários da hepatite B. O anticorpo para o HBeAg (anti-HBe humano) interligado à enzima peroxidase de rábano serve de conjugado.

A amostra do teste ou os respectivos controlos são incubados nos poços de reacção juntamente com o conjugado. Na ausência de anti-HBe, forma-se um complexo de anticorpos marcado com uma fase sólida de HBeAg/anti-HBe. Após a lavagem e a incubação com o substrato TMB, ocorre desenvolvimento de cor azul. A reacção da enzima é interrompida após a adição de uma solução de ácido sulfúrico 1N, que muda a cor para amarelo de forma intensa. No entanto, na presença de anti-HBe, este compete com o conjugado de anticorpos marcados para o HBeAg da fase sólida e evita o surgimento de qualquer coloração após a adição do substrato. O procedimento técnico para a determinação do Anti-HBe encontra-se em anexo 5.

## **9. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados foram digitados usando o software Microsoft Access 2010. Após digitação a precisão foi comparada para procurar qualquer erro e discrepâncias através da função Epi-Info versão 3.3.2. Todos dados foram exportados para o programa SPSS versão 17 para a análise estatística. As variáveis qualitativas foram descritas com base em frequências e percentagens. Foi usado um intervalo de confiança (IC) de 95%, para a descrição das mesmas. Para as variáveis quantitativas foram efectuadas análises estatísticas descritivas. O teste qui – quadrado foi usado para avaliar a interdependência entre as variáveis categóricas. Foi empregue o teste não paramétrico Mann-Whitney para comparação das médias.

Para cada resultado, um modelo logístico foi construído com base no procedimento, tendo em conta o nível de significância de 5%. Para cada variável, o modelo inicial logístico foi construído utilizando todas as variáveis com um valor  $p < 0.05$ , para análise bivariada, considerados estatisticamente significativos.



## 10. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O estudo teve autorização administrativa da sua Excia Ministro de Saúde de Moçambique, após aprovação com o número IRB 00002657, Ref: 455CNBS/12 pelo Comité Nacional de Bioética para à Saúde (CBNS) e pela Direcção de Saúde da Cidade de Maputo.

O recrutamento dos participantes para o presente estudo foi de carácter voluntário. Todos os participantes tiveram informação sobre o estudo através das consultas e palestras realizadas no local. Para os voluntários iletrados, foi lido formulário de consentimento e foi usada a impressão digital do voluntário para confirmação e assinatura do testemunho colhidas. Os voluntários foram informados sobre o pequeno desconforto durante a picada da agulha para colheita de amostra de sangue. Todos os voluntários que aceitaram participar do estudo foram convidados a regressar oito semanas depois para obterem os resultados relativos à testagem do HBV. Os voluntários que apresentaram reactividade para o HBV foram encaminhados a uma consulta de modo a receberem orientação para o seguimento.

Durante o estudo, os voluntários foram explicados que o estudo era de carácter voluntário e que podiam retirar-se do estudo a qualquer momento. As amostras de sangue foram colhidas após o consentimento obtido dos voluntários. As respostas ao questionário administrado foram obtidas de forma não forçada permitindo ao voluntário a opção de recusar a questão. Explicações escritas e verbais da finalidade e natureza do estudo foram dadas antes da participação.

Para os voluntários que não entendiam português e falavam línguas locais o consentimento e questionário foram administrados na língua que o voluntário compreendia. Os voluntários com resultados positivos para a hepatite B e todos os outros resultados de testes de sangue patológicos, foram enviados, ao Centro de Saúde para o devido seguimento. As medidas de biosegurança universal durante a colheita de sangue foram seguidas para diminuir o risco de infecção dos profissionais de saúde envolvidos no estudo.

Os materiais colhidos durante o estudo (incluindo arquivos e questionários) foram armazenados no CISPOC, Maputo, Moçambique, em armários com segurança devida. Os dados foram armazenados em arquivos electrónicos. Além disso, todas as amostras de sangue foram

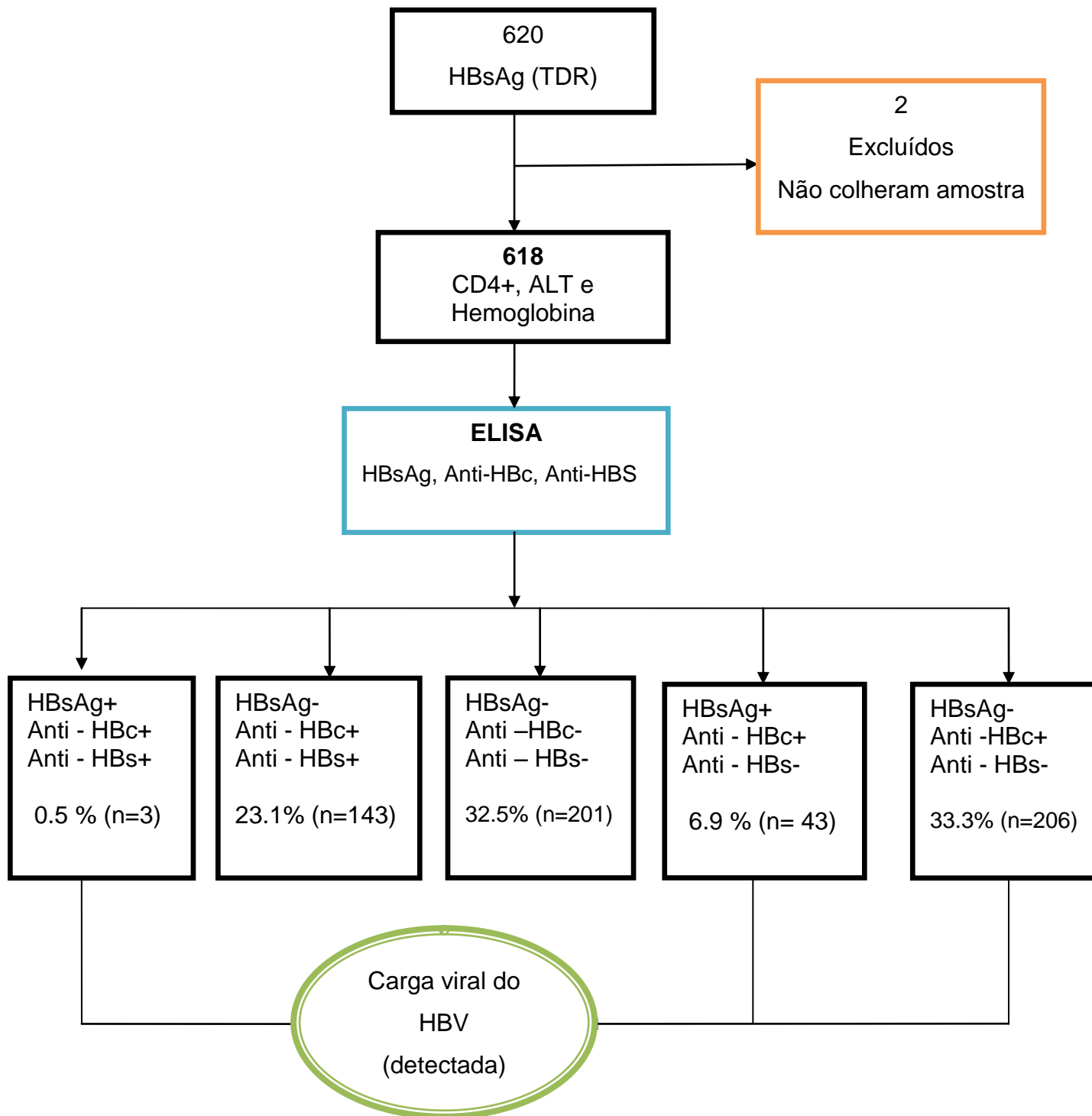
congeladas à  $-80^{\circ}\text{C}$  no Laboratório de CISPOC. A confidencialidade dos dados dos participantes foi assegurada pela equipa de pesquisa.

## 11. RESULTADOS

Foram recrutados 620 pacientes infectados pelo HIV. Destes, dois foram excluídos do estudo por não terem colhido amostras de sangue. Deste modo, participaram 618 pacientes HIV positivos neste estudo.

Do total dos pacientes incluídos 68.3% (n=422) eram do sexo feminino e 31.7% (n=196) eram do sexo masculino. A idade média dos participantes foi de 38.5 anos com o desvio padrão 11.3. A idade mínima foi de 18 anos e a máxima de 83 anos. Para os indivíduos do sexo feminino a idade média foi de 36 anos. A idade mínima foi de 18 anos e a máxima foi de 79 anos. Para os indivíduos do sexo masculino a idade média foi 37 anos. A idade mínima foi de 18 anos e máxima foi de 83 anos.

Todos 618 pacientes incluídos, foram testados para células TCD4+, ALT, hemoglobina (HgB) e marcadores de HBV (HBsAg, Anti-HBs, anti-HBc). Os marcadores HBeAg, anti-HBe foram testados em apenas 252 amostras (43 HBsAg+/anti-HBc+/anti-HBs-, 3 HBsAg+/anti-HBc+/anti-HBs+ e 206 HBsAg-/anti-HBc+/ anti-HBs-). A carga viral de HBV foi determinada para amostras com HBsAg-/anti-HBc+/anti-HBs- e HBsAg+ (Figura 5).



**Figura 5:** Esquema de testagem dos pacientes do estudo

### **11.1. Características da população de estudo**

As características da população do estudo encontram-se descritas na tabela 4. De forma sumária, 93.0% (575/618) dos pacientes incluídos apresentavam a idade igual ou superior a 25 anos e 52.2% (324/618) tinham o seu estado civil como união de fato. Adicionalmente, 43.7% (270/618) da população do estudo tinha sexta à décima classe e 29.1% (180/618) apresentavam o grau de escolaridade entre primeira à quinta classe. Em relação à habitação, 74.1% (458/618) dos participantes do estudo residiam em casas de blocos cobertas de chapas de zinco e 22.2% (137/618) em casas de construção precária. Em relação ao vínculo laboral, 43.2% (267/618) eram desempregados e 36.4% (225/618) reportaram ter um emprego informal.

Tabela 4: Características demográficas da população de estudo

Características	<i>N = 618</i>	%
<b>Sexo</b>		
Masculino	196	31.7
Feminino	422	68.3
<b>Faixa etária</b>		
(anos)		
18 - 24	43	7.0
25 - 34	224	36.2
35 - 44	200	32.4
> 44	151	24.4
<b>Estado civil</b>		
Solteiro	119	19.3
Casado	50	8.1
União de fato	324	52.2
Viúvo	72	11.7
Divorciado	53	8.6
<b>Nível de escolaridade</b>		
Nenhum	111	17.9
1 - 5 classe	180	29.1
6 - 10 classe	270	43.7
11 - 12 classe	38	6.1
Técnico	7	1.1
Universitário	12	1.9
<b>Tipo de Habitação</b>		
Precária	137	22.2
Melhorada *	458	74.1
Alvenaria	23	3.7
<b>Tipo de emprego</b>		
Desempregado	267	43.3
Emprego informal	225	36.4
Emprego Formal	126	20.3

\* Habitação melhorada casa feita de blocos com cobertura de chapas de zinco

## **11.2. Características gerais da população com ou sem a presença de marcador HBsAg**

Na tabela 5 estão descritas as características demográficas dos pacientes HIV+ com e sem HBsAg positivo. No estudo, 67.4% (31/46) dos pacientes com resultado positivo do HBsAg eram do sexo feminino, 36.9% (17/46) apresentavam a faixa etária entre os 25-34 anos. Estas características eram similares aos pacientes HBsAg negativos.

Adicionalmente, 56.5% (26/46) dos pacientes com resultado positivo do HBsAg tinham o seu estado civil como união de fato, 45.7% (21/46) tinham o grau de escolaridade de sexta à décima classe, 67.4% (31/46) residiam em casas de blocos cobertas de chapas de zinco e 43.5% (n=20/46) tinham emprego informal. Estas características também eram similares aos pacientes HBsAg negativos.

Tabela 5: Características demográficas dos pacientes infectados por HIV com ou sem marcador HBsAg positivo.

<b>Características</b>	<b>HBsAg – n (%)</b>	<b>HBsAg + n (%)</b>	<b>Valor p</b>
<b>Sexo</b>			<b>0.3</b>
Masculino	181 (31.9%)	15 (32.6%)	
Feminino	391 (68.1 %)	31 (67.4%)	
<b>Faixa etária (anos)</b>			<b>0.355</b>
18 – 24	37 (6.4%)	6 (13.0%)	
25 – 34	207 (36.1%)	17 (36.9%)	
35 – 44	184 (32.1%)	16 (34.8%)	
> 44	144 (25.1%)	7 (15.2%)	
<b>Estado civil</b>			<b>0.561</b>
Solteiro	108 (18.8%)	11 (23.9%)	
Casado	46 (8.0%)	4 (8.7%)	
União de fato	298 (52.1%)	26 (56.5%)	
Viúvo	69 (12.1%)	3 (6.5%)	
Divorciado	51 (8.9%)	2 (4.3%)	
<b>Nível de escolaridade</b>			<b>0.812</b>
Nenhum	101 (17.7%)	10 (21.7%)	
1 - 5 classe	170 (29.7%)	10 (21.7%)	
6 - 10 classe	249 (43.5%)	21 (45.7%)	
11 - 12 classe	35 (6.1%)	3 (6.5%)	
Técnico	6 (1.0%)	1 (2.2%)	
Universitário	11 (1.9%)	1 (2.2%)	
<b>Tipo de Habitação</b>			<b>0.355</b>
Precária	125 (21.8%)	12 (26.1%)	
Melhorada	427 (74.7%)	31 (67.4%)	
Alvenaria	20 (3.5%)	3 (6.5%)	
<b>Tipo de emprego</b>			<b>0.526</b>
Desempregado	250 (43.7%)	17 (36.9%)	
Emprego informal	205 (35.8%)	20 (43.5%)	
Emprego formal	117 (20.5%)	9 (19.6%)	



### **11.3. Factores de risco associados à presença de marcador HBsAg**

Nos pacientes com presença do marcador HBsAg, 34.8% (n=16) afirmaram serem consumidores de álcool, (OR=0.9; p=0.799), 2.2% (n=1) usava drogas ilícitas (OR=1.4; p=0.711), 8.3 % (n=8) possuíam história de transfusão sanguínea (OR=1.1, p=0.705) e 2.2% (n=1) apresentavam antecedentes de infecção por HBV (OR=6.2;p=0.136) (Tabela 6).

No mesmo grupo de pacientes 47.5% (n=21) apresentavam uma exposição prévia a alguma ITS, (OR=0.5;p=0.174), 47.8% (n=22) afirmaram ter usado lâmina no curandeiro (OR=0.9;p=0.702), 21.7% (n=10) faziam sempre sexo sob efeito do álcool, 47.8% (n=22) faziam sexo sob efeito de álcool em algumas vezes (p=0.300) e 34.8% (n=16) não usavam preservativos nas suas relações sexuais (p=0.631) (Tabela 6).

Tabela 6: Factores de risco associados à presença do marcador de HBsAg

<b>Características</b>	<b>HBsAg (-)</b> <b>N=572</b>	<b>HBsAg (+)</b> <b>N=46</b>	<b>Odds ratio</b> <b>(IC 95%)</b>	<b>Valor p</b>
<b>História de consumo de álcool</b>			<b>0.9 (0.4 - 1.7)</b>	<b>0.799</b>
Não	363 (63.5%)	30 (65.2%)		
Sim	209 (36.5%)	16 (34.8%)		
<b>História de Transusão</b>			<b>1.1 (0.5 -2.5)</b>	<b>0.705</b>
Não	481 (84.1%)	38 (82.6%)		
Sim	88 (15.4%)	8 (17.4%)		
Não sabem	3 (0.5%)	-		
<b>Outras infecções ou ITS</b>			<b>0.5 (0.4 -1.4)</b>	<b>0.174</b>
Não	324 (56.6%)	25 (54.3%)		
Sim	248 (43.4%)	21 (45.7%)		
<b>Uso de lâmina no curandeiro</b>			<b>0.9 (0.3 -2.5)</b>	<b>0.702</b>
Não	316 (55.2%)	24 (52.2%)		
Sim	256 (44.8%)	22 (47.8)		
<b>Uso de drogas endovenosas</b>			<b>1.4 (0.2- 9.4)</b>	<b>0.711</b>
Não	566 (98.9%)	45 (97.8%)		
Sim	6 (1.0%)	1 (2.2%)		
<b>História de HBV</b>			<b>6.2 (0.5- 7.0)</b>	<b>0.136</b>
Não	569 (99.5%)	45 (97.8%)		
Sim	3 (0.5%)	1 (2.2%)		
<b>Uso de preservativo</b>			<b>1.3 (0.3 – 8.2)</b>	<b>0.631</b>
Não	240 (41.9%)	16 (34.8%)		
Sim	332 (58.1%)	30 (65.2%)		
<b>Frequência de fazer sexo sob efeito de álcool</b>				<b>0.3</b>
Sempre	92 (16.1%)	10 (22.0%)		
Algumas vezes	312(54.6%)	22 (48.0%)		
Nunca	165 (28.8%)	14 (30.0%)		
Sem resposta	3 (0.5%)	0 (0.0%)		

#### 11.4. Características biológicas e clínicas dos pacientes infectados pelo HIV com ou sem presença do marcador HBsAg

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas em relação à altura (1.6 metros vs 1.6 metros), peso (63.9 Kg vs 62.0 Kg) e hemoglobina (12.2 gr/dl vs 12.0 gr/dl) quando comparados pacientes infectados pelo HIV, com e sem presença de marcador de HBsAg (Tabela 7).

#### 11.5. Níveis de células TCD4+, ALT e sua associação em pacientes infectados por HIV com ou sem presença do marcador HBsAg

Em relação a contagem absoluta das células TCD4+, a média da contagem das células TCD4+ nos pacientes HBsAg positivos foi de 390 cél/μL com um desvio padrão de 230 cél/μL. Nos pacientes HBsAg negativos a média da contagem de células TCD4+ encontrada foi de 394 cél/μL. Não se verificou uma diferença estatisticamente significativa no nível de contagem de células TCD4+ entre estes grupos ( $p > 0.05$ ) (Tabela 7).

A média de ALT encontrada foi de 23.8 UI/L nos pacientes HBsAg negativos e 24.8 UI/L nos pacientes HBsAg positivos, e não foi observada uma diferença estatisticamente significativa ( $p > 0.05$ ). (Tabela 7).

**Tabela 7.** Associação entre os parâmetros imunológicos e biológicos em pacientes HIV positivos com ou sem presença do marcador HBsAg.

Características	HBsAg negativo	HBsAg positivo	Valor p
Peso (Kg)	62.0	63.9	0.289
Altura (metro)	1.6	1.6	0.071
ALT(UI/L)	23.8	24.8	0.951
HgB (gr/dL)	12.0	12.2	0.781
Células TCD4+ (cél/μL)	394	390	0.957

Nota: valores apresentados na tabela 7 são médias.

### 11.6. Características dos pacientes com diferentes categorias de marcadores sorológicos de HBV

A prevalência de positividade para HBsAg encontrada no estudo foi de 7.4% (46/618) (IC 95%: 4.4 -11.2). O marcador anti-HBc foi reactivo de forma isolada em 33.3% (n=206) pacientes. O anti.HBc quando associado ao HBsAg foi positivo em 6.9% (n=43) quando associado ao anti-HBs foi positivo em 23.1% (n=143) e quando associado ao HBsAg e anti-HBs foi positivo em 0.5% (n=3). Em 3.6% (n=22) dos pacientes, encontramos positividade de forma isolada ao anti-HBs. No presente estudo, 32.5% (n=201) dos pacientes foram caracterizados pela ausência de positividade aos marcadores do HBV (susceptíveis a infecção pelo HBV) (Tabela 8). Adicionalmente, a presença dos marcadores HBeAg e anti-HBe foi encontrada em 1.6% (n=4) e 13.4% (n=34) dos participantes, respectivamente.

**Tabela 8:** Prevalência de diferentes marcadores sorológicos de HBV em pacientes infectados por HIV.

Categoria	Marcador	Positivo		IC 95%
		n	%	
	Total HBsAg +(TDR)	46	7.4	4.4 -11.2
	HBsAg-/ anti-HBc+/anti-HBs+	143	23.1	19.9 - 26.4
	HBsAg+/ anti-HBc+/anti-HBs-	43	6.9	3.7 - 10.3
	HBsAg+/ anti-HBc+/anti-HBs+	3	0.5	0.2 - 3.2
	HBsAg-/ anti-HBc+/anti-HBs-	206	33.3	30.1 - 36.7
<b>Imunes</b>	HBsAg-/ anti-HBc-/anti-HBs+	22	3.6	0.4 - 6.8
	Total	417	67.5	64.3 -70.8
<b>Susceptíveis</b>	HBsAg-/ anti-HBc-/anti-HBs-	201	32.5	29.3 - 36-2

IC: Intervalo de Confiança.

### 11.7. Níveis de detecção de HBV em diferentes grupos

A tabela 9, faz a descrição dos grupos de marcadores do HBV em relação a detecção do HBV DNA. O HBV DNA foi detectado em 81.4% (35/43) dos pacientes com marcador anti-HBc positivos associados ao HBsAg positivo. Adicionalmente, 66.7% (2/3) dos pacientes com marcador anti-HBc associado ao HBsAg e anti-HBs, apresentavam HBV DNA detectável. O HBV DNA foi detectável em 8.7% (18/206) dos pacientes com o marcador Ant-HBc positivo de forma isolada (Tabela 9).

Tabela 9: Categorias dos diferentes marcadores em relação HBV DNA

Grupo de Marcadores de HBV	HBV DNA	HBV DNA
	Detectado %	Não Detectado %
HBsAg-/ anti-HBc+/anti-HBs+	*NT	*NT
HBsAg+/ anti-HBc+/anti-HBs-	81.4% (35/43)	18.6% (8/43)
HBsAg+/ant-HBc+/anti-HBs+	66.7% (2/3)	33.3% (1/3)
HBsAg-/ anti-HBc+/anti-HBs-	8.7 (18/206)	91.3% (188/206)

\*NT: Não Testado

### 11.8. Carga viral do HBV

Os valores de carga viral HBV (HBV DNA) dos pacientes HBsAg positivos foram agrupados em 5 intervalos. Nos pacientes com HBsAg+/anti-HBc+/anti-HBs-, 32.6% (n=14) apresentaram valores de HBV DNA <20 UI/mL e 7.0% (n=3) apresentaram valores entre  $10^4$  -  $10^6$  UI/mL. No mesmo grupo de pacientes 30.2% (n=13) apresentaram valores entre  $20 - 10^4$  UI/mL e 11.6% (n=5) possuíam valores  $> 10^6$  UI /mL (Tabela 10).

Nos pacientes com HBsAg-/anti-HBc+/ anti-HBs-, 5.8% (n=12) apresentaram valores de carga viral de HBV entre  $20-10^4$  UI/mL e 2.9% (n=6) com valores  $< 20$  UI/mL. Não foram encontrados pacientes com valores de HBV DNA entre  $10^4-10^6$  UI/mL e  $> 10^6$  UI/mL (Tabela 10). No grupo de pacientes com HBsAg+/anti-HBc+/anti-HBs+, 33.3% (n=1) apresentaram HBV DNA com valores entre  $20-10^4$  UI/mL e 33.3% (n=1) entre  $10^4 - 10^6$  UI/mL (Tabela 10).

Tabela 10: Quantificação do HBV DNA nos pacientes do estudo

<b>Carga viral do HBVDNA (UI/mL)</b>	<b>HBsAg+/anti-HBc+ (n=43)</b>	<b>HBsAg+/anti-HBc+/ Anti-HBs- (n=206)</b>	<b>HBsAg+/anti-HBc+/ Anti-HBs+ (n=3)</b>
<b>Não detectada</b>	8 (18.6%)	188 (91.3%)	1 (33.3)
<b>&lt;20</b>	14 (32.6%)	6 (2.9%)	–
<b>20-10<sup>4</sup></b>	13 (30.2 %)	12 (5.8%)	1 (33.3%)
<b>10<sup>4</sup> - 10<sup>6</sup></b>	3 (7.0%)	-	1 (33.3%)
<b>&gt; 10<sup>6</sup></b>	5 (11.6%)	-	-

### 11.9. Comparação de células TCD4+ em pacientes HIV, com ou sem HBsAg+

Os valores de células TCD4+ em pacientes com ausência ou presença do marcador de HBsAg foram agrupados em três categorias, nomeadamente: <200 cél/μL, 200-499 cél/μL e ≥ 500 cél/μL. Nos pacientes co-infectados HBV/HIV, 7.3 % (n=21) apresentaram valores de células TCD4+ <200 cél/μL, 8.0% (n=9) entre 200 – 499 cél/μL e 7.4% (n=16) valores ≥ 500 cél/μL. Nos pacientes mono-infectados por HIV, 92.7% (n=268) apresentaram os valores das células TCD4+ < 200 cél/ μL, 92.0% (n=104) entre 200 – 499 cél/μL e 92.6% (n=200) ≥ 500 cél/ μL (Figura 6).

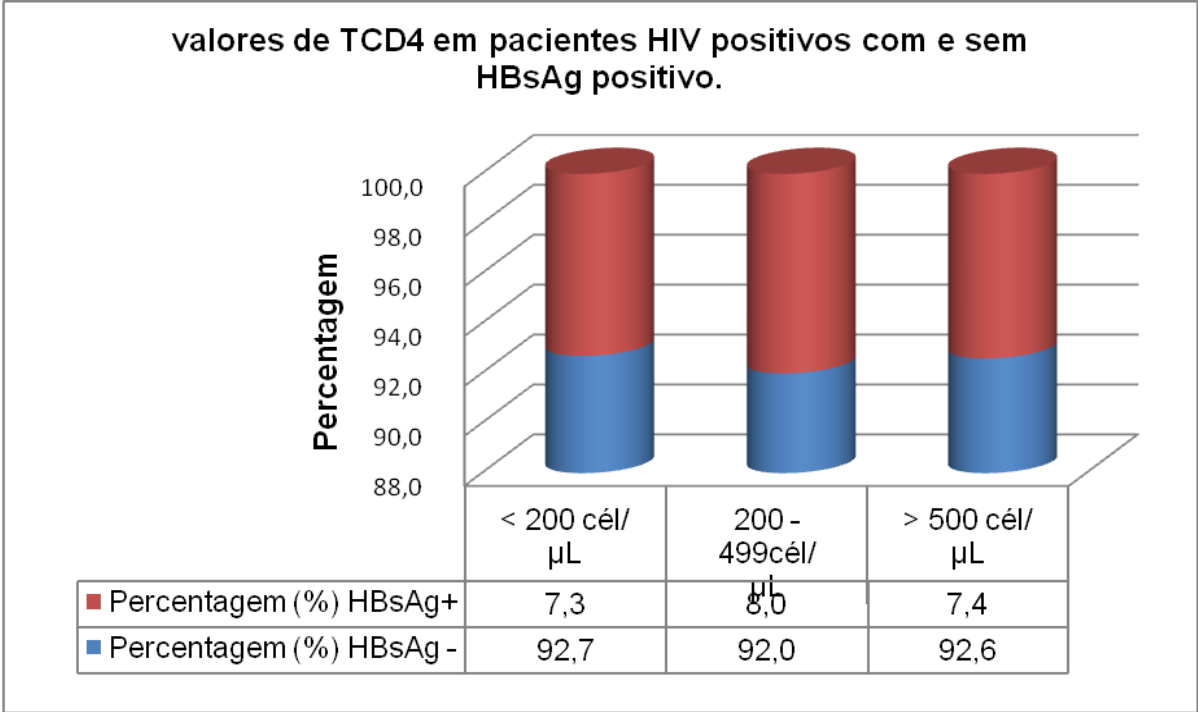


Figura 6: TCD4+ em relação aos pacientes com ou sem HBsAg +

## 12. DISCUSSÃO

A prevalência de HBsAg encontrada neste estudo em pacientes HIV positivos foi 7,4% (IC95: 4.4-11.2). A prevalência encontrada é menor que aquela encontrada nos estudos anteriormente realizados em Moçambique onde a prevalência reportada foi de 15.5% (14), 11.7% (15), 21.0% (45). Em outros estudos realizados em Quênia e em Nigéria, a prevalência encontrada foi de 11.4% (4) e 7.9% (46), respectivamente. No entanto, os resultados do nosso estudo demonstram uma prevalência superior à encontrada num estudo realizado na África do Sul em pacientes infectados por HIV onde a prevalência encontrada foi de 3.4% (47).

Apesar dos resultados da prevalência encontrada neste estudo serem inferiores aos estudos anteriormente realizados em Moçambique, estes confirmam que a população Moçambicana encontra-se numa zona endémica para o HBV. Contudo, há necessidade de reforçar as medidas de prevenção do HBV com reforço das medidas de prevenção, nomeadamente, a não partilha de lâminas e promover o uso de preservativo nas relações sexuais, entre outras (48).

Os resultados do nosso estudo também confirmam a necessidade de reforçar acções de prevenção de HBV que incluem a imunização contra hepatite B na população alvo (recém-nascidos, população de risco e as mulheres em idade fértil). Estas medidas poderão educar a população sobre o modo de transmissão e prevenção do HBV bem como permitir a indução de níveis de anticorpos protectores contra HBV (49, 50, 51).

Neste estudo não foram encontradas associações entre o marcador HBsAg e o sexo. Resultados similares foram encontrados nos estudos realizados pela Sema et al (14) e Ramanlal et al (15), Portanto, as mulheres e os homens apresentaram a mesma susceptibilidade para a aquisição da infecção pelo HBV.

Dois estudos realizados nas unidades sanitárias da região sul, nomeadamente no Centro de Saúde do Alto Maé (14) e Centro de saúde 1º de Maio (15), não encontraram associação entre a positividade do HBsAg e a idade. O mesmo foi observado neste estudo. Os indivíduos co-infectados apresentaram-se na faixa etária entre 25 - 34 anos, que é considerada de maior risco, o



que provavelmente pode ter influenciado no aumento da infecção do HBV encontrados no nosso estudo.

No nosso estudo, a maior percentagem de indivíduos co-infectados apresentavam ter o seu estado civil como união de fato. Estes resultados são similares aos encontrados no estudo realizado por Sema et al (14) e diferentes aos encontrados no estudo Souza et al (3), onde este constatou maior percentagem nos solteiros. Contudo, o nosso estudo não encontrou associação entre a união de fato com a infecção pelo HBV, apesar dos resultados confirmarem que a maioria dos co-infectados viviam maritalmente.

O elevado nível de escolaridade, segundo a literatura, contribui positivamente para as medidas de prevenção e tratamento. No nosso estudo, o nível de escolaridade não esteve associado a co-infecção, o mesmo foi observado num estudo realizado por Sema et al (14). No estudo realizado por Ramanlal et al (15), encontrou uma associação nos indivíduos com nível de escolaridade baixo (primário). Estes achados demonstram que o nível de escolaridade pode influenciar no acesso aos cuidados de saúde e informação, aumentando a vulnerabilidade para a aquisição das doenças.

Em África a transmissão da infecção pelo HBV ocorre pela transmissão horizontal na infância com a maioria dos casos de infecção a ocorrer até aos cinco anos de idade (52, 53). Em países desenvolvidos a transmissão de HBV ocorre em indivíduos de alto risco (trabalhador de sexo, homens que fazem sexo com homens, entre outros) onde a exposição ocorre em simultâneo (16, 17, 54).

As baixas condições socioeconómicas, as práticas clínicas não seguras por falta observância de medidas adequadas como o uso de agulhas não esterilizadas, tatuagem, escarificação e perfuração, estão associadas a riscos de adquirir o HBV (16, 17). Porém no nosso estudo, os factores de risco analisados não tiveram influência directa em relação ao risco de aquisição do HBV. Apesar de existirem indivíduos que afirmaram terem sido expostos a infecção através de uso de lâmina durante o tratamento tradicional e o não uso de preservativo nas relações sexuais.

A transfusão de sangue tem sido considerada um dos factores de risco associado à transmissão do HBV. Estudos realizados em Ghana por Mutocheluh et al (55), na China por Huang et al (56) e por Onakewhor et al (57), reportaram a transfusão como factor de risco associados à transmissão do HBV. No nosso estudo, não foi encontrada uma associação entre a transfusão e o risco para a infecção pelo HBV (16).

O consumo do cigarro e do álcool também tem sido referido como factores que contribuem para infecção do HBV, e são factores de risco associados ao desenvolvimento de cancro hepático (58, 59). No nosso estudo, não foi possível demonstrar a relação entre o consumo de álcool e a presença de hepatite B activa. O mesmo resultado foi encontrado no estudo do Ramanlal et al (15).

Tem sido relatado que o aumento do número de ITSs e o não uso de preservativo, são factores de risco para a infecção do HIV e HBV. No nosso estudo, não observamos qualquer associação entre esses factores de risco com a infecção por HBV. Provavelmente, a infecção dos pacientes tenha ocorrido na infância, pelo uso de práticas médicas não seguras e tradicionais, como reporta Hoffmann et al (41).

A vacina contra o vírus de hepatite B em Moçambique, segundo dados do Programa Alargado de Vacinação (PAV), foi introduzida em Julho de 2001, no Programa Nacional de vacinação. Neste estudo, 3.6% (22/618) dos pacientes é que tiveram um histórico de vacinação contra o HBV. O que representa uma fracção menor, demonstrando que ainda tem muitas pessoas que necessitam de imunização. Uma vez que a imunização ocorre no 2º mês de vida, há um período em que a criança está em risco de contrair a doença.

Por outro lado neste estudo observou-se índice baixo de imunização contra o HBV, e elevada susceptibilidade de aquisição do HBV. Estes dados aliados aos comportamentos e factores de riscos, sugerem a necessidade de intervenções efectivas e regulares que visam a prevenção e controlo do HBV nos pacientes HIV positivos, como também a imunização contra o HBV.

A reactividade do marcador anti-HBc associado com anti-HBs sugere infecção do HBV resolvida e aquisição da imunidade natural contra a reinfecção (17). No nosso estudo, 23.1% dos pacientes tinham imunidade natural, porém este grupo é considerado não elegível à vacinação contra o HBV. No entanto neste grupo de pacientes há necessidade de reforçar o controlo sistemático das medidas de prevenção para o HBV, nomeadamente, como não compartilhar lâminas e promover o uso de preservativos nas relações sexuais para evitar a reinfecção.

Neste estudo a menor percentagem dos pacientes apresentaram reactividade à três marcadores do HBV (HBsAg +, anti-HBc+ e anti-HBs+) em simultâneo. Facto raro, mas que pode ocorrer devido a sensibilidade do ensaio em detectar resultados de títulos de HBsAg e anti-HBs elevados ou resultados falsos positivos para marcadores de antígeno ou anticorpo. Como também nos casos de deficiência do sistema imunológico que mesmo produzindo elevados títulos de anti-HBs não consegue neutralizar o HBsAg (60).

Adicionalmente, 33,3% (206/618) dos pacientes apresentaram o marcador anti.HBc positivo de forma isolada. Estes resultados indicam que estes indivíduos já entraram em contacto com HBV ou pode representar infecção crónica pelo HBV, com baixo nível de detecção de HBsAg no período de janela de hepatite B aguda em resolução, como também uma infecção passada com um nível indetectável de anti-HBs ou devido a uma reactivação da infecção por causa da imunossupressão pelo HIV ou como um resultado falso positivo. Como também pode tratar-se de hepatite B oculta (61, 62).

Os indivíduos com reactividade de anti-HBc+ isolado devem ser seguidos e testados com ensaios de elevada sensibilidade, como por exemplo, o PCR o que irá eliminar a probabilidade de presença de infecção activa do HBV. Para alguns casos relatados a presença de hepatite B oculta no indivíduo é caracterizada por presença do marcador serológico "anti-HBc isolado"(16, 42, 61).

Dos pacientes com marcador anti-HBc positivo isolado, anti-HBc positivo associado ao HBsAg positivo e anti-HBc positivo associado aos dois marcadores, foram submetidos ao teste

de amplificar HBV DNA, tendo demonstrado níveis detectáveis do HBV DNA. O que pode influenciar levar à complicações hepáticas em caso de não observação de medidas preventivas, como seguimento e tratamento, como reporta Franco et al (2012) (8), e Croagh et al (2014) (17).

O HBV DNA tem sido detectado na ausência do marcador HBsAg (infecção oculta) (63). Neste estudo a prevalência de HBO foi de 8.7% em pacientes anti-HBc positivo, sendo diferente com os resultados observado por Mphahlele et al, (22.1%) (17) em pacientes HIV positivos na África do Sul, utilizando os mesmos métodos serológicos e moleculares. Havendo necessidade de termos em conta a transmissão de Hepatite B oculta, visto que é difícil diagnosticar (62, 64, 65, 66, 67).

Pacientes mono-infectados por HIV e co-infectados HIV/HBV, tiveram valores absolutos de contagem de TCD4<sup>+</sup> <200 cél/  $\mu$ L. Estes achados foram similares com observado num estudo realizado por Sema et al (14). Contudo pacientes com níveis baixos de células TCD4<sup>+</sup> podem desenvolver carcinoma hepático celular e cirrose, devido a uma fraca resposta imunológica (68, 69, 70, 71). O que pode levar ao aumento da replicação de HBV e HIV, em consequência da diminuição das células TCD4<sup>+</sup> desencadeando uma aceleração na progressão da doença do HIV (40).

### 13. CONCLUSÕES

- A prevalência do HBsAg em indivíduos infectados por HIV, atendidos nas consultas de triagem das doenças crônicas no CSPC foi de 7.4%.
- Os participantes do estudo foram na sua maioria mulheres entre 25 - 34 anos de idade, e a imunossupressão severa (TCD4+ <200 cél/μL) continua ser a forma mais frequente de apresentação dos pacientes mono-infectados por HIV e co-infectados por HIV/HBV.
- Os factores de riscos analisados no presente estudo não estiveram directamente associados à infecção pelo HBV.
- A maioria dos participantes do estudo apresentaram susceptibilidade à infecção pelo HBV.
- A frequência da hepatite B oculta encontrada neste estudo foi 8.7% nos pacientes com co-infecção por HIV/HBV.

### 14. RECOMENDAÇÕES

- Há necessidade de introduzir o rastreio sistemático para o HBV em indivíduos infectados pelo HIV de forma a garantir optimização de tratamento TARV.
- Há necessidade de introduzir-se um programa de imunização para o HBV em indivíduos de alto risco susceptíveis para a aquisição de infecção por HBV, em particular nos pacientes HIV positivos.
- Há necessidade de introduzir o sistema de vigilância do HBV a nível nacional para melhor seguimento da dinâmica da infecção ao longo de tempo, medir o risco de

resistência do HBV aos fármacos comumente usados para o tratamento do HIV e para medir o peso da co-infecção na saúde da população.

## **15. LIMITAÇÕES**

- Devido a limitação financeira não foi possível comparar a carga viral de HIV dos pacientes HBV positivos.
- Não foi possível determinar o IgM anti-HBc para definição dos casos de infecção aguda.

## 16. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Stabinski L, Reynolds SJ, Ocama P, Laeyendecker O, Serwadda D, Gray RH, et al. Hepatitis B virus and sexual behavior in Rakai, Uganda. *Journal of medical virology*. 2011;83(5):796-800.
2. Ionescu B, Mihaescu G. Hepatitis B, C and D coinfection in HIV-infected patients: prevalence and progress. *Roumanian archives of microbiology and immunology*. 2011;70(3):129-33.
3. Souza MG, Passos AD, Machado AA, Figueiredo JF, Esmeraldino LE. [HIV and hepatitis B virus co-infection: prevalence and risk factors]. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2004;37(5):391-5.
4. Kiire CF. The epidemiology and prophylaxis of hepatitis B in sub-Saharan Africa: a view from tropical and subtropical Africa. *Gut*. 1996;38 Suppl 2:S5-12.
5. Hoffmann CJ, Thio CL. Clinical implications of HIV and hepatitis B co-infection in Asia and Africa. *The Lancet Infectious diseases*. 2007;7(6):402-9.
6. Spearman CW, Sonderup MW, Botha JF, van der Merwe SW, Song E, Kassianides C, et al. South African guideline for the management of chronic hepatitis B: 2013. *South African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde*. 2013;103(5 Pt 2):337-49.
7. Azmi AN, Tan SS, Mohamed R. Practical approach in hepatitis B e antigen-negative individuals to identify treatment candidates. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2014;20(34):12045-55.
8. Franco E, Bagnato B, Marino MG, Meleleo C, Serino L, Zaratti L. Hepatitis B: Epidemiology and prevention in developing countries. *World journal of hepatology*. 2012;4(3):74-80.

9. MISAU, Inquérito Nacional de Prevalência, Riscos Comportamentais e Informação sobre o HIV e SIDA em Moçambique INSIDA. [www.ins.gov.mz](http://www.ins.gov.mz): MISAU-INS, 2009.
10. ONUSIDA, Assembleia geral para as Nações Unidas sobre o HIV/SIDA [www.ins.gov.mz](http://www.ins.gov.mz): MISAU, 2008.
11. Baptista AA, Prevalence of hepatitis B virus in blood donors in Maputo Central Hospital and General Hospital José Macamo [monografia]. [www.gov.mz](http://www.gov.mz): universidade Eduardo Mondlane; 2001.
12. Gudo ES, Abreu CM, Mussa T, Augusto Ado R, Otsuki K, Chambo E, et al. Serologic and molecular typing of human T-lymphotropic virus among blood donors in Maputo City, Mozambique. *Transfusion*. 2009;49(6):1146-50.
13. Stokx J, Gillet P, De Weggheleire A, Casas EC, Maendaenda R, Beulane AJ, et al. Seroprevalence of transfusion-transmissible infections and evaluation of the pre-donation screening performance at the Provincial Hospital of Tete, Mozambique. *BMC infectious diseases*. 2011;11:141.
14. Semá CA. Estudo de aspectos seroepidemiológicos e imunológicos da infecção pelo vírus da hepatite B em pacientes infectados pelo HIV atendido no Centro de Saúde do Alto-Mae, Maputo [Dissertação]. [www.ins.gov.mz](http://www.ins.gov.mz): Fundação Oswaldo Cruz; 2011.
15. Ramanlal NA, Serological markers of Hepatitis B and C virus among HIV infected and high risk uninfected individuals attending the Voluntary Counselling and Testing centre for HIV in Maputo, Mozambique [Dissertação]: University of Sydney; 2008.
16. Fonseca JC. [Natural history of chronic hepatitis B]. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2007;40(6):672-7.



17. Croagh CM, Lubel JS. Natural history of chronic hepatitis B: phases in a complex relationship. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2014;20(30):10395-404.
18. Gerlich WH. Medical virology of hepatitis B: how it began and where we are now. *Virology journal*. 2013;10:239.
19. Emekdas G, Tezcan S, Aslan G, Serin MS, Sezgin O, Ucbilek E, et al. [Determination of hepatitis B virus genotypes in chronic hepatitis B patients in Mersin province, Turkey]. *Mikrobiyoloji bulteni*. 2012;46(3):432-45.
20. Mello FC, Lago BV, Lewis-Ximenez LL, Fernandes CA, Gomes SA. Detection of mixed populations of wild-type and YMDD hepatitis B variants by pyrosequencing in acutely and chronically infected patients. *BMC microbiology*. 2012;12:96.
21. Delicio AM, Abati PA, Vigani AG. Hepatitis B virus surface antigen seroconversion in HIV-infected individual after pegylated interferon-alpha treatment: a case report. *The journal of venomous animals and toxins including tropical diseases*. 2013;19(1):31.
22. Soriano V, Vispo E, Bottecchia M, Sheldon J, Tuma P, Garcia-Samaniego J, et al. Management of hepatitis B virus co-infection on and off antiretroviral therapy. *Current HIV/AIDS reports*. 2008;5(2):86-93.
23. Junaid SA, Agina SE, Abubakar KA. Epidemiology and associated risk factors of hepatitis e virus infection in plateau state, Nigeria. *Virology : research and treatment*. 2014;5:15-26.
24. Ranjbar R, Davari A, Izadi M, Jonaidi N, Alavian SM. HIV/HBV Co-Infections: Epidemiology, Natural History, and Treatment: A Review Article. *Iranian Red Crescent medical journal*. 2011;13(12):855-62.
25. Liaw YF, Brunetto MR, Hadziyannis S. The natural history of chronic HBV infection and geographical differences. *Antiviral therapy*. 2010;15 Suppl 3:25-33.

26. Xu H, Zeng T, Liu JY, Lei Y, Zhong S, Sheng YJ, et al. Measures to reduce mother-to-child transmission of Hepatitis B virus in China: a meta-analysis. *Digestive diseases and sciences*. 2014;59(2):242-58.
27. Kwon SY, Lee CH. Epidemiology and prevention of hepatitis B virus infection. *The Korean journal of hepatology*. 2011;17(2):87-95.
28. Salawu L, Adegoke AO, Aboderin AO, Huraina HA. Hepatitis B viral markers in surface antigen negative blood donors: the need to look beyond antibody negativity. *West African journal of medicine*. 2011;30(4):292-5.
29. Lu J, Zhang S, Liu Y, Du X, Ren S, Zhang H, et al. Effect of Peg-interferon alpha-2a combined with Adefovir in HBV postpartum women with normal levels of ALT and high levels of HBV DNA. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2014.
30. Gust ID. Epidemiology of hepatitis B infection in the Western Pacific and South East Asia. *Gut*. 1996;38 Suppl 2:S18-23.
31. Botelho MAO . Prevalência de Soropositividade de marcadores de Hepatite B( HBsAg e Anti.HBc) em Gestantes do Programa de Protecção de Mato Grosso do Sul [Dissertação de Mestrado.]. Brasília -DF: Universidade de Brasília; 2008.
32. Hernandez BY, Zhu X, Kwee S, Chan OT, Tsai N, Okimoto G, et al. Viral hepatitis markers in liver tissue in relation to serostatus in hepatocellular carcinoma. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2013;22(11):2016-23.

33. Liang X, Bi S, Yang W, Wang L, Cui G, Cui F, et al. Reprint of: Epidemiological serosurvey of Hepatitis B in China--declining HBV prevalence due to Hepatitis B vaccination. *Vaccine*. 2013;31 Suppl 9:J21-8.
34. Raymundo Parana MIS, Manual clínico para o manuseio, terapia e prevenção de Hepatite B: Diagnostico e Monitorização da Hepatite B. In: Araujo ESAd, editor. São Paulo: Bristol-Myers Squibb. Divisao Virologia. [http: www.juntoscontrahepatiteb.com.br](http://www.juntoscontrahepatiteb.com.br); 2008.
35. Barone AA . Manual Clínico para manuseio, terapia e prevenção de Hepatite B: Hepatite B crônica. editor. Bristol - Myres Squibb - Sao Paulo: [www.bristol.com.br](http://www.bristol.com.br) ou [http:www.juntoscontrahepatiteb.com.br](http://www.juntoscontrahepatiteb.com.br); 2008. p. .
36. Ramos JM, Belda S, Reyes F, Rodriguez JC, Royo G, Gutierrez F. Prevalence of HIV, HBV, HCV, HTLV and Treponema pallidum among patients attending a rural hospital in Southern Ethiopia. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2012;53(3):268-9.
37. Jia W, Song LW, Fang YQ, Wu XF, Liu DY, Xu C, et al. Antibody to hepatitis B core antigen levels in the natural history of chronic hepatitis B: a prospective observational study. *Medicine*. 2014;93(29):322.
38. Van Rensburg EJ, Lemmer HR, Joubert JJ. Prevalence of viral infections in Mozambican refugees in Swaziland. *East African medical journal*. 1995;72(9):588-90.
39. Abbas AK, *Imunologia Celular e Molecular*. In: RJ sneddl, editor. 6<sup>a</sup> edição. p 487 ed. WWW. studentconsult.com2007.
40. Douek DC, Brenchley JM, Betts MR, Ambrozak DR, Hill BJ, Okamoto Y, et al. HIV preferentially infects HIV-specific CD4+ T cells. *Nature*. 2002;417(6884):95-8.
41. Hoffmann CJ, Seaberg EC, Young S, Witt MD, D'Acunto K, Phair J, et al. Hepatitis B and long-term HIV outcomes in coinfecting HAART recipients. *Aids*. 2009;23(14):1881-9.

42. Mphahlele MJ, Lukhwareni A, Burnett RJ, Moropeng LM, Ngobeni JM. High risk of occult hepatitis B virus infection in HIV-positive patients from South Africa. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2006;35(1):14-20.
43. Soriano V, de Mendoza C, Pena JM, Barreiro P. Advances in treating drug-resistant hepatitis B virus in HIV-infected patients. *Expert opinion on pharmacotherapy*. 2015;16(2):179-86.
44. Mayaphi SH, Roussow TM, Masemola DP, Olorunju SA, Mphahlele MJ, Martin DJ. HBV/HIV co-infection: the dynamics of HBV in South African patients with AIDS. *South African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde*. 2012;102(3 Pt 1):157-62.
45. Bonnet M, Bhatt N, Baudin E, Silva C, Michon C, Taburet AM, et al. Nevirapine versus efavirenz for patients co-infected with HIV and tuberculosis: a randomised non-inferiority trial. *The Lancet Infectious diseases*. 2013;13(4):303-12.
46. Tremeau-Bravard A, Ogbukagu IC, Ticão CJ, Abubakar JJ. Seroprevalence of hepatitis B and C infection among the HIV-positive population in Abuja, Nigeria. *African health sciences*. 2012;12(3):312-7.
47. Andersson MI, Maponga TG, Ijaz S, Barnes J, Theron GB, Meredith SA, et al. The epidemiology of hepatitis B virus infection in HIV-infected and HIV-uninfected pregnant women in the Western Cape, South Africa. *Vaccine*. 2013;31(47):5579-84.
48. Cunha L, Plouzeau C, Ingrand P, Gudo JP, Ingrand I, Mondlane J, et al. Use of replacement blood donors to study the epidemiology of major blood-borne viruses in the general population of Maputo, Mozambique. *Journal of medical virology*. 2007;79(12):1832-40.

49. Zhou YH, Yao ZH, Liu FL, Li H, Jiang L, Zhu JW, et al. High prevalence of HIV, HCV, HBV and co-infection and associated risk factors among injecting drug users in Yunnan province, China. *PloS one*. 2012;7(8): e42937.
50. Peliganga LB, Prevalência das hepatites B e C em doadores de sangue e da hepatite B em gestantes no Kuito, Biê, Angola. Rio de Janeiro, [Dissertação ]. Instituto Oswaldo Cruz Fundação Oswaldo Cruz; 2008.
51. Mansour AK, Aly RM, Abdelrazek SY, Elghannam DM, Abdelaziz SM, Shahine DA, et al. Prevalence of HBV and HCV infection among multi-transfused Egyptian thalassemic patients. *Hematology/oncology and stem cell therapy*. 2012;5(1):54-9.
52. Kiire CF. Hepatitis B infection in sub-Saharan Africa. The African Regional Study Group. *Vaccine*. 1990;8 Suppl:S107-12; discussion S34-8.
53. Nur YA, Groen J, Elmi AM, Ott A, Osterhaus AD. Prevalence of serum antibodies against bloodborne and sexually transmitted agents in selected groups in Somalia. *Epidemiology and infection*. 2000;124(1):137-41.
54. Lewis-Ximenez LL, do OK, Ginuino CF, Silva JC, Schatzmayr HG, Stuver S, et al. Risk factors for hepatitis B virus infection in Rio de Janeiro, Brazil. *BMC public health*. 2002;2:26.
55. Mutocheluh M, Owusu M, Kwofie TB, Akadigo T, Appau E, Narkwa PW. Risk factors associated with hepatitis B exposure and the reliability of five rapid kits commonly used for screening blood donors in Ghana. *BMC research notes*. 2014;7:873.
56. Huang Y, Guo N, Yu Q, Lv Y, Ma H, Yun Z, et al. Risk factors for hepatitis B and C infection among blood donors in five Chinese blood centers. *Transfusion*. 2015;55(2):388-94.

57. Onakewhor JU, Olagbuji BN, Okpere EE. Pattern and risk factors for partner infection with hepatitis B virus in a prevention of mother-to-child transmission programme. *West African journal of medicine*. 2013;32(2):110-4.
58. Zhang XF, Wei T, Liu XM, Liu C, Lv Y. Impact of cigarette smoking on outcome of hepatocellular carcinoma after surgery in patients with hepatitis B. *PloS one*. 2014;9(1):e85077.
59. Campo J, Cano J, del Romero J, Hernando V, Rodriguez C, Bascones A. Oral complication risks after invasive and non-invasive dental procedures in HIV-positive patients. *Oral diseases*. 2007;13(1):110-6.
60. Chen CH, Wang TL, Ji H, Hung CF, Pardoll DM, Cheng WF, et al. Recombinant DNA vaccines protect against tumors that are resistant to recombinant vaccinia vaccines containing the same gene. *Gene therapy*. 2001;8(2):128-38.
61. Alizadeh Z, Milani S, Sharifi Z. Occult hepatitis B virus infection among Iranian blood donors: a preliminary study. *Archives of Iranian medicine*. 2014;17(2):106-7.
62. Martinez MC, Kok CC, Baleriola C, Robertson P, Rawlinson WD. Investigation of occult hepatitis B virus infection in anti-hbc positive patients from a liver clinic. *PloS one*. 2015;10(3):e0117275.
63. Han Z, Liu Y, Pan J, Bi Y, Liu J, Zhou YH. Occult hepatitis B virus infection with positive hepatitis B e antigen. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2015;438:266-8.
64. Covolo L, Pollicino T, Raimondo G, Donato F. Occult hepatitis B virus and the risk for chronic liver disease: a meta-analysis. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2013;45(3):238-44.

65. Lukhwareni A, Burnett RJ, Selabe SG, Mzileni MO, Mphahlele MJ. Increased detection of HBV DNA in HBsAg-positive and HBsAg-negative South African HIV/AIDS patients enrolling for highly active antiretroviral therapy at a Tertiary Hospital. *Journal of medical virology*. 2009;81(3):406-12.
66. Xie Y, Zhao H, Dai WS, Xu DZ. HBV DNA level and antigen concentration in evaluating liver damage of patients with chronic hepatitis B. *Hepatobiliary & pancreatic diseases international : HBPD INT*. 2003;2(3):418-22.
67. Hsu YN, Pan CQ, Abbasi A, Xia V, Bansal R, Hu KQ. Clinical presentation and disease phases of chronic hepatitis B using conventional versus modified ALT criteria in Asian Americans. *Digestive diseases and sciences*. 2014;59(4):865-71.
68. Soriano V, Mocroft A, Rockstroh J, Ledergerber B, Knysz B, Chaplinskas S, et al. Spontaneous viral clearance, viral load, and genotype distribution of hepatitis C virus (HCV) in HIV-infected patients with anti-HCV antibodies in Europe. *The Journal of infectious diseases*. 2008;198(9):1337-44.
69. Konopnicki D, Mocroft A, de Wit S, Antunes F, Ledergerber B, Katlama C, et al. Hepatitis B and HIV: prevalence, AIDS progression, response to highly active antiretroviral therapy and increased mortality in the EuroSIDA cohort. *Aids*. 2005;19(6):593-601.
70. Thio CL. Hepatitis B and human immunodeficiency virus coinfection. *Hepatology*. 2009;49(5 Suppl):S138-45.
71. Clifford GM, Rickenbach M, Polesel J, Dal Maso L, Steffen I, Ledergerber B, et al. Influence of HIV-related immunodeficiency on the risk of hepatocellular carcinoma. *Aids*. 2008;22(16):2135-41.

## **ANEXOS**



## **Anexo 1: Procedimento técnico para determinação do HbsAg**

1. Distribuiu-se 50µL de controlo negativo, 50µL de controlo positivo e 50µL de soro dos voluntários nos respectivos poços de reacção;
2. Distribuiu-se 50µL de conjugado enzimático (anticorpo anti- HBs (carneiro), conjugado com peroxidase de rábano (HRP), tampão fosfato, soro humano, soro de carneiro, albumina sérica bovina, estabilizantes e conservantes) em todos os poços de reacção, excepto no branco.
3. Logo após a distribuição aplicou-se o adesivo autocolante na placa de reacção para evitar a evaporação do reagente e, gentilmente, os poços foram agitados para eliminar qualquer bolha de ar no líquido;
4. Incubou-se a placa com os poços por uma hora  $\pm 5$  minutos a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  em câmara húmida;
5. Após a incubação, removeu-se o adesivo autocolante;
6. Lavou-se os poços de reacção com 0,35mL de tampão de lavagem (tampão PBS, Tween® 20 e conservantes) na lavadora Auto Wash, por 5 vezes com intervalos de 30 segundos no máximo;
7. Inverteram-se as tiras com os poços de reacção sobre papel filtro absorvente para retirada do excesso de tampão de lavagem;
8. Em seguida foram distribuídos 100µL cromógeno/substrato previamente reconstituído da solução do Cromógeno A 50 µL + 50 µL cromógeno B (derivado de tetrametilbenzidina em solução tampão de citrato / peróxido de hidrogênio em tampão de citrato) em todos os poços de reacção.
9. Incubou-se durante 15 minutos à  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , ao abrigo da luz.
10. Distribuiu-se 50µL de solução de paragem (solução de ácido sulfúrico 1N) em todos os poços na mesma ordem usada para dispensar o cromógeno/substrato com intervalos de tempo semelhante.

11. Realizou-se a medida da absorbância da solução (coloração) contida em cada poço de reacção em comprimento de onda de 450nm a 630nm dentro de uma hora após a adição da solução de paragem.

12. Após realizou-se a o cálculo do valor de *cut-off* e a interpretação dos resultados obtidos.

## **Anexo 2: Procedimento para determinação do Anti-HBc**

1. Distribuiu-se 50µL de controlo negativo, 50µL de controlo positivo e 50µL de soro dos voluntários nos respectivos poços de reacção;
2. Adicionou-se 50µL de anticorpo conjugado em todos os poços de reacção
3. Aplicou-se o adesivo para vedação; e incubou-se a 37°C ±1°C em câmara húmida por 1 hora ± 5 minutos;
4. Colocou-se a placa na lavadora AutoWash, a qual lavou os poços de reacção cinco vezes com tampão de lavagem;
5. Em seguida foram distribuídos 100µL cromógeno/substrato reconstituído da solução do Cromógeno A 50 µL + 50 µL Cromógeno B (derivado de tetrametilbenzidina em solução tampão de citrato / peróxido de hidrogênio em tampão de citrato) em todos os poços de reacção.
6. Incubou-se durante 15 minutos à 37°C ±1°C, ao abrigo da luz.
7. Distribuiu-se 50µL de solução de paragem (solução de ácido sulfúrico 1N) em todos os poços na mesma ordem usada para dispensar o cromógeno/substrato com intervalos de tempo semelhante.
8. Realizou-se a medida da absorbância da solução (coloração) contida em cada poço de reacção em comprimento de onda de 450nm a 630nm dentro de uma hora após a adição da solução de paragem.
9. Após realizou-se a o cálculo do valor de *cut-off* e a interpretação dos resultados obtidos.

### **Anexo 3: Procedimento para determinação do Anti-HBs**

1. Pipetou-se 50µL de cada controle, positivo e negativo, para os poços de reacção, além de 50µL de soro dos voluntários nos poços respectivos;
2. Distribuiu-se 50µL de conjugado enzimático (antígeno HBsAg), conjugado com peroxidase de rábano (HRP), tampão fosfato, soro humano, soro de carneiro, albumina sérica bovina, estabilizantes e conservantes) em todos os poços de reacção, excepto no branco
3. Aplicou-se o adesivo para vedação;
4. Incubou-se a 37°C ±1°C em câmara úmida por 1 hora ± 5 minutos;
5. Após a incubação, removeu-se o adesivo autocolante, e lavou se os poços de reacção com 0,35mL de tampão de lavagem na lavadora Auto Wash, por 5 vezes;
6. Inverteu-se a placa de reacção sobre papel filtro absorvente para retirada do excesso de tampão de lavagem;
7. Em seguida foram distribuídos 100µL cromógeno/substrato reconstituído da solução do Cromógeno A 50 µL + 50 µL cromógeno B (derivado de tetrametilbenzidina em solução tampão de citrato / peróxido de hidrogénio em tampão de citrato) em todos os poços de reacção.
8. Incubou-se durante 15 minutos à 37°C ±1°C, ao abrigo da luz.
9. Distribuiu-se 50µL de solução de paragem (solução de ácido sulfúrico 1N) em todos os poços na mesma ordem usada para dispensar o cromógeno/substrato com intervalos de tempo semelhante.
10. Realizou-se a medida da absorbância da solução (coloração) contida em cada poço de reacção em comprimento de onda de 450nm a 630nm dentro de uma hora após a adição da solução de paragem.
11. Após realizou-se a o cálculo do valor de *cut-off* e a interpretação dos resultados obtidos

#### **Anexo 4: Procedimento para determinação do HbeAg**

1. Distribuiu-se 50µL de controlo negativo, 50µL de controlo positivo e 50µL de soro dos voluntários nos respectivos poços de reacção;
2. Distribuiu-se 50µL de conjugado enzimático (anticorpo anti - HBe (carneiro), conjugado com peroxidase de rábano (HRP), tampão fosfato, soro humano, soro de carneiro, albumina sérica bovina, estabilizantes e conservantes) em todos os poços de reacção, excepto no branco.
3. Logo após a distribuição aplicou-se o adesivo autocolante na placa de reacção para evitar a evaporação do reagente e, gentilmente, os poços foram agitados para eliminar qualquer bolha de ar no líquido;
4. Incubou-se a placa com os poços por uma hora  $\pm 5$  minutos a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  em câmara húmida (estufa).
5. Após a incubação, removeu-se o adesivo autocolante;
6. Lavou-se os poços de reacção com 0,35mL de tampão de lavagem (tampão PBS, Tween® 20 e conservantes) na lavadora Auto Wash, por 5 vezes com intervalos de 30 segundos no máximo;
7. Inverteram-se as tiras com os poços de reacção sobre papel filtro absorvente para retirada do excesso de tampão de lavagem;
8. Em seguida foram distribuídos 100µL cromógeno/substrato reconstituído da solução do Cromógeno A 50 µL + 50 µL cromógeno B (derivado de tetrametilbenzidina em solução tampão de citrato / peróxido de hidrogénio em tampão de citrato) em todos os poços de reacção.
9. Incubou-se durante 15 minutos à  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , ao abrigo da luz.
10. Distribuiu-se 50µL de solução de paragem (solução de ácido sulfúrico 1N) em todos os poços na mesma ordem usada para dispensar o cromógeno/substrato com intervalos de tempo semelhante.

11. Realizou-se a medida da absorbância da solução (coloração) contida em cada poço de reacção em comprimento de onda de 450nm a 630nm dentro de uma após a adição da solução de paragem.

12. Após realizou-se a o cálculo do valor de cut-off e a interpretação dos resultados obtidos.

## **Anexo 5: Procedimento para determinação do Anti-Hbe**

1. Pipetou-se 50µL de cada controle, positivo e negativo, para os poços de reacção, além de 50µL de soro dos voluntários nos poços respectivos;
2. Distribuiu-se 50µL de conjugado enzimático (antígeno HBeAg), conjugado com peroxidase de rábano (HRP), tampão fosfato, soro humano, soro de carneiro, albumina sérica bovina, estabilizantes e conservantes) em todos os poços de reacção, excepto no branco
3. Aplicou-se o adesivo para vedação;
4. Incubou-se a 37°C ±1°C em câmara húmida (Incubadora) por 1 hora ± 5 minutos;
5. Após a incubação, removeu-se o adesivo autocolante, e lavou-se os poços de reacção com 0,35mL de tampão de lavagem na lavadora Auto Wash, por 5 vezes;
6. Inverteu-se a placa de reacção sobre papel filtro absorvente para retirada do excesso de tampão de lavagem;
7. Em seguida foram distribuídos 100µL cromógeno/substrato reconstituído da solução do Cromógeno A 50 µL + 50 µL cromógeno B (derivado de tetrametilbenzidina em solução tampão de citrato / peróxido de hidrogénio em tampão de citrato) em todos os poços de reacção.
8. Incubou-se durante 15 minutos à 37°C ±1°C, ao abrigo da luz.
9. Distribuiu-se 50µL de solução de paragem (solução de ácido sulfúrico 1N) em todos os poços na mesma ordem usada para dispensar o cromógeno/substrato com intervalos de tempo semelhante.
10. Realizou-se a medida da absorbância da solução (coloração) contida em cada poço de reacção em comprimento de onda de 450nm a 630nm dentro de uma hora após a adição da solução de paragem.

11. Após realizou-se a o cálculo do valor de *cut-off* e a interpretação dos resultados obtidos.



## **Anexo 6: Consentimento Informado**

**Instituto Nacional de Saúde**

**Centro de Investigação e Treino em Saúde de Polana Caniço**

**(CISPOC)**

**Formulário de Consentimento Informado**

### **Introdução**

Obrigado pelo seu interesse neste estudo intitulado “*Prevalência da infecção do Vírus da Hepatite B em indivíduos infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), atendidos no Centro de Saúde de Polana*”. Este estudo será realizado na área de saúde Mavalane, cidade de Maputo, com um grupo de adultos que tem pelo menos 18 anos de idade. Antes de decidir sobre se deve ou não fazer parte deste estudo, gostaríamos de explicar a finalidade do estudo, como este pode ajudar a si ou outras pessoas, os riscos, e o que é esperado de si.

É importante que saiba o seguinte:

- A sua participação é completamente voluntária.
- Pode decidir não participar no estudo.
- Pode decidir deixar o estudo a qualquer momento.
- Se decidir não participar, não vai perder os benefícios que normalmente recebe do seu provedor de cuidados em qualquer unidade sanitária.

Por favor, faça perguntas sobre qualquer coisa que não entender. A equipa do INS irá discutir consigo a informação contida neste formulário. Poderá levar quanto tempo que precisar para avaliar este formulário. Uma cópia deste formulário de consentimento será fornecida a você.

### **Informação sobre a infecção pelo vírus hepatite B**

O vírus da hepatite B (HBV) é considerado um grave problema de saúde, tanto em países desenvolvidos e subdesenvolvidos. Pessoas que sofrem de infecção crônica pelo HBV podem mesmo não saber que eles têm. Mas a infecção pode causar danos ao fígado ao longo do tempo se não for tratada.

As informações que temos mostram que Moçambique tem provavelmente muitas pessoas com infecção crónica por hepatite B. No entanto, não se sabe o quanto é comum pessoas com HIV também ter HBV. Também não se sabe quantas pessoas têm um tipo de HBV que é resistente a drogas.

### **Razão para a realização deste estudo de vigilância**

Não é rotina em Moçambique testar as pessoas para HBV. Este estudo nos dará informações importantes sobre quantas pessoas com HIV também têm HBV. É importante porque os cuidados e tratamento de pessoas com ambas as infecções é diferente do que das pessoas somente com HIV. Este estudo ajudará o Sistema Nacional de Saúde para tomar decisões sobre políticas de cuidados e tratamento.

### **Número de voluntários**

Estamos pedindo 618 adultos a serem incluídos neste estudo. Está sendo convidado, porque tem idade igual ou superior a 18 anos e tem um teste de HIV positivo. Estamos convidando a todos os adultos que atendem a estes critérios e que concordam em participar do programa para fazer parte deste estudo, até chegar a 616 pessoas

### **Procedimentos**

Existem duas visitas agendadas:

#### **A Primeira visita:**

Se concordar em participar neste estudo, hoje, durante esta visita, vamos fazer algumas questões sobre a sua idade, nível de escolaridade, história médica, comportamentos sexuais e outros itens. Estas questões não levarão mais do que 20 minutos para terminar.

Depois, vamos usar uma agulha para dar uma pequena amostra de sangue de seu braço. Vamos usar um pouco deste sangue para fazer um teste para o vírus da hepatite B. O teste leva apenas 10-15 minutos para terminar. Iremos revelar o resultado do seu teste assim que estiver concluído. Se o teste for positivo, será encaminhado para uma consulta médica de modo que receba o atendimento correcto para alguém com HIV e HBV.

Vamos em seguida, enviar o resto da mesma amostra de sangue para o Laboratório do Instituto Nacional de Saúde. O Laboratório vai testar seu sangue para níveis de HIV e HBV em seu corpo, e também para os níveis de suas próprias células do sistema imunológico. Também vamos testar para ver se o HBV em seu corpo é resistente a alguns tipos de medicamentos.

Será agendada que volte em cerca de 8 semanas para uma segunda visita. Na segunda visita, vamos explicar-lhe os resultados dos testes de laboratório.

### **Confidencialidade**

A sua privacidade será protegida, o tanto quanto possível. Só o pessoal da clínica e os membros da equipa de estudo serão capazes de ver os seus processos médicos. Não iremos registar o seu nome nos restantes formulários do estudo ou amostra de sangue. Em vez de isso vamos usar um número de participante. Apenas os membros da equipa de estudo é que vão saber de quem é cada número. O seu nome nunca vai ser dito a alguém de fora da equipa de estudo.

### **Riscos**

Há o risco de algumas questões serem desconfortáveis para responder. Não tem que responder a qualquer pergunta que não queira responder. As agulhas que usaremos para tirar uma pequena amostra de sangue vão beliscar um pouco. Há o risco de poder sofrer uma contusão no local onde tirou o sangue. Existe o risco de que alguém de fora do estudo irá aperceber que são uma parte do estudo. Faremos tudo o que pudermos para evitar isto e para proteger sua privacidade.

### **Benefícios**

Não há pagamento por fazer parte deste estudo. O benefício por fazer parte deste estudo é que você vai descobrir se está infectado pelo HBV e será encaminhado para atendimento adequado se estiver infectado pelo HBV. Se está infectado, receberá exames laboratoriais que irão nos dizer mais sobre a sua saúde e as melhores formas de tratá-lo.

### **Declaração dos voluntários do estudo**

Pediram-me para participar neste estudo de vigilância das hepatites em adultos HIV positivos moçambicanos. Foi-me dada a oportunidade de fazer perguntas sobre este estudo. Todas as minhas perguntas foram respondidas e entendo a informação que foi dada a mim. Estou assinando abaixo com o meu nome, marca ou impressão digital, para mostrar que eu consenti para participar neste programa. Eu concordo em seguir os requisitos do estudo, o tanto quanto possível.

Foi-me explicado que eu posso abandonar este estudo a qualquer momento, e não vou perder nenhum benefício nem vou receber qualquer penalização. Se eu abandonar este estudo, ainda posso ser examinado antes de sair do estudo, e me foi dada uma cópia assinada do formulário de consentimento assinado.

Eu concordo em participar neste estudo.

Sim

Não


Assinaturas pelo nome:

_____	_____	_____
Assinatura ou impressão digital do Voluntário	Data	Hora
_____		
Nome Legível do voluntário		

_____	_____	_____
Assinatura da pessoa que administra o consentimento	Data	Hora
_____		
Nome Legível da pessoa que administra o consentimento		

_____	_____	_____
Assinatura da testemunha (se o voluntário é incapaz de ler)	Data	Hora
_____		
Nome Legível da testemunha (se o voluntário é incapaz de ler)		

## Anexo 7: Questionário

	<b>INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE</b> <b>CENTRO DE INVESTIGAÇÃO E TREINO EM SAÚDE DE POLANA CANIÇO</b> <b>(CISPOC)</b>	
	<b>2012 HBV Surveillance of Hepatitis B Virus Infection among Human Immunodeficiency Virus Infected Individuals and HBV Drug Resistance Testing</b>	Version 1.2 8 <sup>th</sup> April 2013


**Local:** Centro de Saúde de Polana Caniço, Maputo, Moçambique

1. N° do Participante  _ _ _ _	2. N° do registo do Participante:  _ _ _ _ _ _ _ _ _	
<b>Características socio demográficas</b>		
3. Data de nascimento (dd/mm/aaaa)	_ _  -  _ _  -  _ _ _ _	Idade (aa)  _ _
4. Sexo	Masculino <input type="checkbox"/> Feminino <input type="checkbox"/>	
5. Estado civil	Solteiro <input type="checkbox"/> casado <input type="checkbox"/> união de factos <input type="checkbox"/> viúvo(a) <input type="checkbox"/> Divorciado(a) <input type="checkbox"/>	
6. Nível de ensino	Nenhum <input type="checkbox"/> 1-5 Classe <input type="checkbox"/> 6-10 Classe <input type="checkbox"/> 11-12 Classe <input type="checkbox"/> Técnico <input type="checkbox"/> Universitário <input type="checkbox"/>	
7. Renda mensal (n° de salários mínimos, 2.800,00 MZM)	< 1 <input type="checkbox"/> >1 e < 2 <input type="checkbox"/> > 2 e < 5 <input type="checkbox"/> > 5 <input type="checkbox"/>	
8. Profissão	Desempregado <input type="checkbox"/> Emprego formal <input type="checkbox"/> Emprego Informal <input type="checkbox"/>	Se for empregado Formal especificar: _____
9. Endereço	Bairro _____	
10. Tipo de residência	Precária <input type="checkbox"/> melhorada <input type="checkbox"/> Alvenaria <input type="checkbox"/>	
11. Contacto telefónico (Se tiver)	Fixo  _ _ _ _ _ _ _ _	Celular  _ _ _ _ _ _ _ _
<b>Comportamento de risco nos últimos 6 meses</b>		
12. Teve relações sexuais?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
13. Com quem teve relações sexuais? (Assinale todas respostas aplicáveis)	<input type="checkbox"/> Cónjuge/ parceiro sexual primário <input type="checkbox"/> Namorada <input type="checkbox"/> Namorado <input type="checkbox"/> Desconhecido <input type="checkbox"/> Trabalhador de sexo <input type="checkbox"/> Colega <input type="checkbox"/> Empregador / superior hierárquico <input type="checkbox"/> Empregado <input type="checkbox"/> Colega da escola <input type="checkbox"/> Professor	

	<input type="checkbox"/> Provedor <input type="checkbox"/> Relativo diferente do cônjuge <input type="checkbox"/> Outros não parentes <input type="checkbox"/> Parceiro forçado <input type="checkbox"/> Outros (especifique) _____  <input type="checkbox"/> Recusou dar resposta		
14. Qual o sexo dos seus parceiros sexuais?	Masculino <input type="checkbox"/>	Feminino <input type="checkbox"/>	Ambos <input type="checkbox"/>
15. Actualmente tem tido relações sexuais com seu cônjuge ou parceiro sexual primário?	Sim <input type="checkbox"/>		Não <input type="checkbox"/>
16. Se sim, com que frequência você ou seu cônjuge/parceiro sexual primário usam o preservativo durante as relações sexuais?	Sempre <input type="checkbox"/>	Algumas vezes <input type="checkbox"/>	Nunca <input type="checkbox"/>
17. Actualmente tem parceiro sexual secundário?	Sim <input type="checkbox"/>		Não <input type="checkbox"/>
18. Quantos parceiros sexuais têm?	_ _		
19. Alguma vez fez sexo em troca de dinheiro, bens, presentes ou favores?	Sim <input type="checkbox"/>		Não <input type="checkbox"/>  (passar para Q 17)
20. Das vezes que fez sexo em troca de dinheiro, bens, presentes ou favores, com que frequência você ou seu parceiro usaram o preservativo?	Sempre <input type="checkbox"/>	Algumas vezes <input type="checkbox"/>	Nunca <input type="checkbox"/>
21. Alguma vez foi forçado a participar de uma actividade sexual que envolveu penetração? (Forçado: involuntário)	Sim <input type="checkbox"/>		Não <input type="checkbox"/>
22. Teve alguma escarificação, tatuagem tradicional ou corte de pele para fins estéticos, terapêuticos o culturais?	Sim <input type="checkbox"/>		Não <input type="checkbox"/>
23. Se sim, você usou a sua própria lâmina ou uma agulha esterilizada para corte tradicional da pele ou tatuagem?	Sim <input type="checkbox"/>		Não <input type="checkbox"/>
24. Usou drogas injectáveis?	Sim <input type="checkbox"/>		Não <input type="checkbox"/>
25. História de consumo de álcool?	Sim <input type="checkbox"/>		Não <input type="checkbox"/>  (Saltar para antecedentes médicos)

26. Número de drinks consumidos regularmente por semana (Segundo guião do CDC)	_ _ _		
27. Número de drinks regularmente consumidos em uma ocasião (Segundo guião do CDC)	_ _		
28. Com que frequência fez sexo sob efeito de álcool?	Sempre <input type="checkbox"/>	Algumas vezes <input type="checkbox"/>	Nunca <input type="checkbox"/>
<b>Antecedentes Médicos</b>			
29. Transusão de sangue	Sim <input type="checkbox"/>		Não <input type="checkbox"/>
30. Hepatite	Sim <input type="checkbox"/>		Não <input type="checkbox"/>
31. Outras infecções sexualmente transmissíveis	Sim <input type="checkbox"/>		Não <input type="checkbox"/>
<b>Dados Clínicos</b>			
32. Peso (Kg)  _ _ _ .  _ _	33. Altura (cm)  _ _ _		
34. Estádio clínico da OMS para HIV	I <input type="checkbox"/>	II <input type="checkbox"/>	III <input type="checkbox"/> IV <input type="checkbox"/>
35. CD4+ inicial antes do início de TARV	_ _ _   cel/mm3		_ _ %
36. Data de início de TARV (dd/mm/aaaa)	_ _ - _ _ - _ _ _ _		
37. Linha de início de TARV	_____ + _____ + _____		
38. Mudança de linha de TARV?	Sim <input type="checkbox"/>		Não <input type="checkbox"/>
39. Se sim, data de mudança (dd/mm/aaaa)	_ _ - _ _ - _ _ _ _		
40. Linha de TARV apos mudança	_____ + _____ + _____		
41. Qualquer sintoma ou sinal actual sugestivo de hepatite	Sim <input type="checkbox"/>		Não <input type="checkbox"/>
42. Se sim, por favor mencione	_____ _____		
<b>Data (dd/mm/aaaa):</b> ___/___/___		<b>Nome e assinatura</b> _____	

## Anexo 8: Requisição de teste rápido do HBsAg

	<b>Instituto Nacional de Saúde</b> <b>Centro de Investigação e Treino em Saúde da Polana Caniço</b> <b>(CISPOC)</b>	
<b>HBV Rapid Test Form</b>	<b>2012 HBV Surveillance of Hepatitis B Virus Infection among Human Immunodeficiency Virus Infected Individuals and HBV Drug Resistance Testing</b>	Version 1.2 8 <sup>th</sup> April 2013

Local: Centro de Saúde Polana Caniço, Maputo, Moçambique

### Formulário de Teste Rápido de HBV

<b>N° de participante</b>  _ _ _ _			
Sexo:	<input type="checkbox"/> Masculino <input type="checkbox"/> Feminino	Idade (aa):__ __	Data de nascimento (dd/mm/aa): ____ / ____ / ____
Nome do clínico: _____			
Assinatura do clínico: _____			
Data de colheita de amostra (dd/mm/aa): ____ / ____ / ____		Hora de colheita de amostra (hh:mm) ____ : ____	

### RESULTADO

<b>HBsAg (hepatite B)</b>	<input type="checkbox"/> Não reactivo <input type="checkbox"/> Reactivo <input type="checkbox"/> Não realizado <input type="checkbox"/> Indeterminado
---------------------------	--

Nome e assinatura do Técnico

\_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_



## Anexo 9 : Requisições de Hemograma, Bioquímica e CD4

Mod 1	INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE CENTRO DE INVESTIGAÇÃO E TREINO EM SAÚDE DE POLANA CANIÇO - CISPOC	<b>REQUISIÇÃO DE TESTES LABORATORIAIS</b> HEMOGRAMA, BIOQUÍMICA E CD4
	2012 HBV Surveillance of Hepatitis B Virus Infection among Human Immunodeficiency Virus Infected Individuals and HBV Drug Resistance Testing	

Nome do Técnico : _____ Assinatura do Técnico _____ Data ____/____/____							
<b>Nº de participante</b>  __ __ __							
Sexo: <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F Idade _____ anos Iniciais do paciente  __ __  Hora de colheita ____:____							
Hemograma <input type="checkbox"/> Bioquímica <input type="checkbox"/> CD4 <input type="checkbox"/> .							
<b>1. HEMOGRAMA</b>							
PARÂMETROS	RESULTADO	VALORES REFERÊNCIA	UN	PARÂMETROS	RESULTADO	VALORES REFERÊNCIA	UN
WBC	.   (x103/ $\mu$ L)	3.98 10 04	/mm <sup>3</sup>	BASO	.   (x103/ $\mu$ L)	0,00 – 0,2	
NEUT	.   (x103/ $\mu$ L)	0.00 – 69.7	%	HGB	.   (x103/ $\mu$ L)	11.2 – 17.5	
Lymph	.   (x103/ $\mu$ L)	0.00 – 20.0	%	MCV	.	79.0 – 94 8	
MONO	.   (x103/ $\mu$ L)	0.00 – 10.1	%	MCH	.	25.6 – 32.2	
EO	.   (x103/ $\mu$ L)	0,00 – 00,0	%	PLT	.   (x103/ $\mu$ L)	163 – 369	
DATA PROCESSAMENTO ____/____/____ HORA ____:____							
NOME DO TÉCNICO DE LABORATÓRIO _____ ASSINATURA _____							
COMENTÁRIOS _____							
<b>2. BIOQUÍMICA</b>							
ALT : _____ U/L ( 5-40)							
DATA DO PROCESSAMENTO ____/____/____ HORA ____:____							
NOME DO ENFERMEIRO _____ ASSINATURA _____							
COMENTÁRIOS _____							
<b>3. CD4</b>							
CD4 _____ Células/ $\mu$ L ( 410-1590) CD4 (%) _____ % ( 27-57)							
DATA DO PROCESSAMENTO ____/____/____ HORA ____:____							
NOME DO TÉCNICO DE LABORATÓRIO _____ ASSINATURA _____							
COMENTÁRIOS _____							

## Anexo 10: Carga viral e HBV

Mod 2	INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE CENTRO DE INVESTIGAÇÃO E TREINO EM SAÚDE DE POLANA CANIÇO - CISPOC	<b>REQUISIÇÃO DE TESTES LABORATORIAIS</b> CARGA VIRAL DE HIV, HBV E GENOTIPAGEM
	2012 HBV Surveillance of Hepatitis B Virus Infection among Human Immunodeficiency Virus Infected Individuals and HBV Drug Resistance Testing	

Nome do Enfermeiro : \_\_\_\_\_ Assinatura do Enfermeiro \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Nº de participante** |\_\_| |\_\_| |\_\_| |\_\_|

Sexo:  M  F Idade \_\_\_\_\_ anos Iniciais do paciente |\_\_| |\_\_| Hora de colheita \_\_\_\_: \_\_\_\_

CARGA VIRAL DE HIV  CARGA VIRAL DE HBV  SEROLOGIA HEPATITE B  GENOTIPAGEM de HBV

**4. CARGA VIRAL DE HIV**

\_\_\_\_\_ cópias/mL

DATA DA CENTRIFUGAÇÃO \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ HORA \_\_\_\_:\_\_\_\_ DATA DO PROCESSAMENTO \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ HORA \_\_\_\_:\_\_\_\_

NOME DO T. DE LABORATÓRIO \_\_\_\_\_ ASSINATURA \_\_\_\_\_

COMENTÁRIOS \_\_\_\_\_

**5. CARGA VIRAL DE HBV**

\_\_\_\_\_ cópias/mL

DATA DA CENTRIFUGAÇÃO \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ HORA \_\_\_\_:\_\_\_\_ DATA DO PROCESSAMENTO \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ HORA \_\_\_\_:\_\_\_\_

NOME DO T. DE LABORATÓRIO \_\_\_\_\_ ASSINATURA \_\_\_\_\_

COMENTÁRIOS \_\_\_\_\_

**6. SEROLOGIA DE HEPATITE B**

Ag/AC	HBsAg	Anti-HBs	Anti-HBc	HBeAg	Anti-Hbe
REACTIVO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
NÃO REACTIVO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
INDETERMINADO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
NÃO REALIZADO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Amostras conservadas

DATA DE SEPARAÇÃO DO PLASMA \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ HORA \_\_\_\_:\_\_\_\_ NOME T. LABORATÓRIO \_\_\_\_\_ ASSINATURA \_\_\_\_\_

DATA DE PROCESSAMENTO \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ NOME T. LABORATÓRIO \_\_\_\_\_ ASSINATURA \_\_\_\_\_

COMENTÁRIOS \_\_\_\_\_

**7. GENOTIPAGEM HBV**

Amostras conservadas para GENOTIPAGEM (Envio)

DATA DE CONSERVAÇÃO \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ HORA \_\_\_\_:\_\_\_\_

NOME DO T. DE LABORATÓRIO \_\_\_\_\_ ASSINATURA \_\_\_\_\_

## **Anexo 11: Glossário**

**Carcinoma hepato- celular** – cancro originário de células epiteliais do fígado;

**Cirrose hepática** – doença degenerativa do fígado caracterizado pela substituição do parenquima funcional por tecido fibroso e adiposo;

**Co-infecção** - infecção simultânea com dois agentes biológicos;

**Cut-off** – valor limite de corte usado na interpretação de testes imunoenzimáticos;

**Estádios imunológicos da infecção do HBV** – intervalos pré-determinados caracterizados pelos números linfócitos T auxiliares CD4<sup>+</sup>;

**Estado do portador inactivo** – infecção persistente do fígado pelo HVB sem doença;

**Rastreamento** – investigação;

**Hepatite** – Inflamação do fígado;

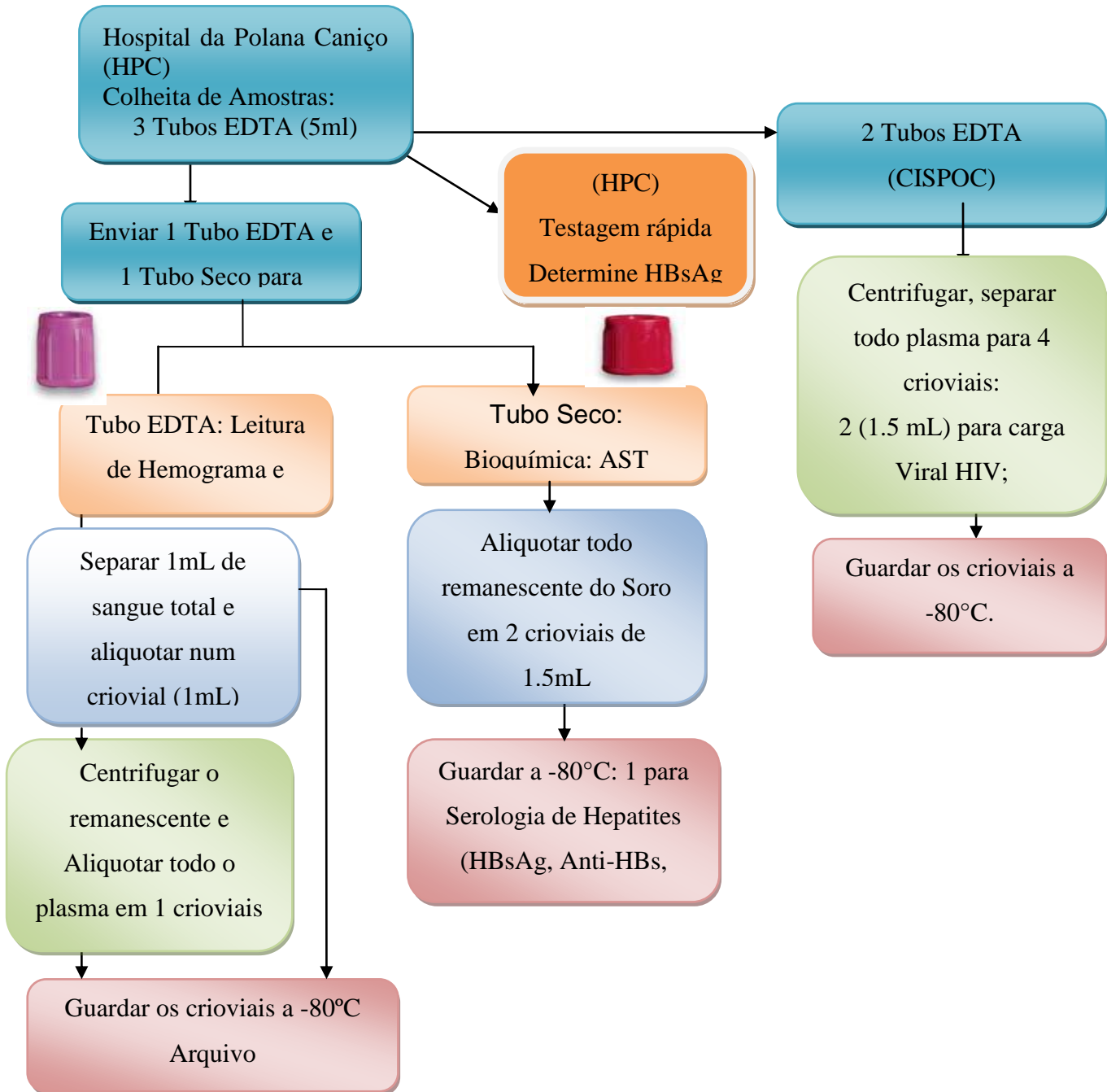
**Imunodepressão** – diminuição das células do sistema imunitário;

**Imunossupressão** – supressão na produção das células do sistema imunitário devido a vários factores;

**Janela imunológica** – período em que imunologicamente, o individuo infectado não manifesta sinais e sintomas da doença;

**Linfócitos Auxiliares** – classe de pequenos agranulócitos, produzidas na médula óssea, que nos primeiros dias da vida colonizam o Timo (denominados T). Coordenam a imunidade celular e humoral;

## Anexo 12: Fluxograma e tratamento Laboratorial das amostras



Anexo 13: Carta de autorização do CNBS



REPÚBLICA DE MOÇAMBIQUE

MINISTÉRIO DA SAÚDE

COMITÉ NACIONAL DE BIOÉTICA PARA A SAÚDE  
IRB00002657

Exmo Senhor  
Dr. Nilesh Bhatt  
CIBS-INS

Ref: 455/CNBS/12

Data 17 de Dezembro de 2012

**Assunto:** *Aprovação do protocolo " 2012 HBV Surveillance of Hepatitis B Virus Infection among Human immunodeficiency Virus Infected Individuals and HBV Drug Resistance testing."*

No dia 17 de Dezembro de 2012, o Comité Nacional de Bioética para a Saúde (CNBS) analisou as correcções efectuadas no protocolo intitulado: "**2012 HBV Surveillance of Hepatitis B Virus Infection among Human immunodeficiency Virus Infected Individuals and HBV Drug Resistance testing**", sobre o mesmo, o CNBS chegou a seguinte conclusão:

O CNBS não vê nenhum inconveniente de ordem ética que impeça a aprovação do estudo pelo que, dá a sua devida aprovação.

Contudo, recomenda aos investigadores que o mantenham informado do decurso do estudo.

Faz notar que a aprovação ética não substitui a autorização administrativa.

Sem mais de momento, queiram aceitar as nossas cordiais saudações.

O Presidente



Dr. João Fernando Lima Schwalbach

EN JERUJO  
MINISTÉRIO DA SAÚDE  
C. POSTAL 254  
Av. Eduardo Mondlane/Salvador Allende  
MAPUTO – MOÇAMBIQUE

Tel/Fax: 49981492713144  
Telex: 6 226 MESAU MO  
FAX: 258 (1) 426147  
258 (1) 43330