

Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO
CHAGAS
MESTRADO EM PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇAS
INFECCIOSAS

CAROLINA TRIGO PEREIRA

INFECÇÃO OCULTA PELO VÍRUS DA HEPATITE B
EM PACIENTES COM TUBERCULOSE:
PREVALÊNCIA E IMPLICAÇÕES CLÍNICAS

Rio de Janeiro

2016

**INFECÇÃO OCULTA PELO VÍRUS DA HEPATITE B
EM PACIENTES COM TUBERCULOSE:
PREVALÊNCIA E IMPLICAÇÕES CLÍNICAS**

CAROLINA TRIGO PEREIRA

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, para obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientadores: Prof. Dr. Pedro Emmanuel Alvarenga Americano do Brasil; Profa. Dra. Liane de Castro

Rio de Janeiro

2016

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

P436 Pereira, Carolina Trigo

Infecção oculta pelo vírus da Hepatite B em pacientes com
Tuberculose: prevalência e implicações clínicas / Carolina Trigo Pereira.
– Rio de Janeiro, 2016.
xiii, 77 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Nacional de Infectologia Evandro
Chagas, Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas,
2016.
Bibliografia: f. 59-68.

1. Vírus da Hepatite B. 2. Infecção oculta pelo vírus da Hepatite B. 3.
OBI. 4. Tuberculose. 5. Hepatotoxicidade. I. Título.

CDD 616.3623

INFECÇÃO OCULTA PELO VÍRUS DA HEPATITE B EM PACIENTES COM TUBERCULOSE: PREVALÊNCIA E IMPLICAÇÕES CLÍNICAS

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, para obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientador(es): Prof. Dr. Pedro Emmanuel Alvarenga Americano do Brasil

Profa. Dra. Liane de Castro

Aprovada em / /

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Marli Jane Martins Costa (Presidente e Revisora)

Doutora em Medicina Interna

Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas/FIOCRUZ

Dra. Maria de Lourdes Aguiar Oliveira (Membro)

Doutora em Biologia Celular e Molecular

Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ

Dra. Cláudia Vera Pizzini (Membro)

Doutora em Ciências

Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas/FIOCRUZ

Dra. Jennifer Braathen Salgueiro (Suplente)

Doutora em Ciências Biológicas

Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas/FIOCRUZ

Grata a Deus por me permitir mais este desafio.

Aos meus pais, Soraia e Emidio, pela orientação, educação e amor.

AGRADECIMENTOS

Início agradecendo à Dra. Liane de Castro por não ter exercido apenas sua função de docente. Sua dedicação e prontidão fez com que me sentisse segura e apta para caminhar por entre as diversas esferas que circundam em meio à profissão que escolhi executar. Ter tido, ainda durante o percurso da graduação, o privilégio de integrar sua equipe certamente foi e permanece sendo uma grande honra. A cada passo, cada novo desafio, pude constatar o quanto ama verdadeiramente o que faz e o quanto importa-se em não somente ensinar conteúdos, mas compartilhar vivências e experiências. O êxito de cada um dos projetos desenvolvidos não compete somente a mim, mas a nós. Agradeço não exclusivamente à brilhante orientação, mas também por todo o seu profissionalismo, compreensão e amizade. Ainda que passem os anos, não poderia jamais esquecer o tempo dedicado a mim e ser grata, eternamente grata. Sua competência e idoneidade são admiráveis e fazem com que eu queira me espelhar e trilhar uma linda carreira. Após cinco anos de uma linda parceria, só posso agradecer toda partilha, toda honestidade, toda confiança depositada e todo carinho que sempre me serviu como incentivo. Às vezes em que me senti desacreditada, pude sentir sua mão amiga me amparando e impulsionando a nunca desistir. Obrigada por ter acreditado em meu potencial e, por conseguinte, ter feito com que eu mesma passasse a acreditar e evoluir.

Ao Dr. Pedro Emmanuel, que caminhou ao meu lado, cedendo seus saberes e enriquecendo os meus. Não poderia deixar de citá-lo, tendo em vista sua participação no meu processo de aprendizagem. Que fique registrada toda minha gratidão e alegria por ter sido agraciada com a sua extensa paciência e dedicação.

Aos amigos do Laboratório de Pesquisa em Farmacogenética e também àqueles que já fizeram parte de nossa equipe. Todos os dias com vocês foram especiais, cada extração de DNA, cada PCR, cada almoço no Burger King. Tenho orgulho de ter pertencido a essa família. A exaustão física e psicológica foi, sem sombra de dúvida, aliviada muitas vezes através das palavras amigas e dos incentivos que nunca nos faltaram. A palavra união nos define. Obrigada pelas gargalhadas, lágrimas e conquistas. Encontraremos-nos mais adiante, triunfando juntos!

Agradeço aos meus amigos do Mestrado que foram grandes aliados e muito contribuíram para o meu progresso. Juntos construímos a melhor turma que o INI já consagrou. Valeu a pena nossos grupos de estudos, toda tensão e noites mal dormidas devido à preocupação com estatística, epidemio e tantas outras disciplinas. Juntos, fomos mais fortes. Construímos uma história que ficará eternizada em nossas memórias e corações.

Com toda minha emoção, agradeço especialmente aos meus pais, Soraia e Emidio, que sempre se esforçaram e priorizaram o meu acesso à educação. Concluo mais uma etapa acadêmica na certeza de que nada seria possível sem seus esforços e crença no meu potencial. Não pouparei energia e farei sempre o possível para retribuir os estímulos e incentivos que nunca me deixaram faltar. Saber que sou motivo de orgulho e honra me faz querer prosseguir em minha caminhada e alcançar mais e mais vitórias. Obrigada por permanecerem firmes ao meu lado nessa árdua batalha. Obrigada por serem os meus maiores exemplos de amor e respeito e por me ampararem a cada queda, ensinando-me a levantar e não desistir nunca. Sinto-me forte e confiante em um futuro repleto de realizações, porque vocês ensinaram-me que, ainda que haja infortúnios, somos capazes de superá-los e que o primeiro passo para a superação encontra-se num simples e valioso abraço. Agradeço a Deus todos os dias em oração por ter a melhor família do mundo.

Ao meu irmão Tiago Trigo, por toda preocupação e amor dedicados a mim. Somos a continuidade da nossa família e tenho certeza que iremos trilhar um caminho tão iluminado e belo como o que os nossos pais construíram. Ainda que não façamos grandes exposições de amor e carinho um pelo outro diariamente, sabemos o quanto podemos contar um com o outro. Não escolheria outro alguém para partilhar de momentos fraternais. Obrigada pelo carinho incondicional.

“Tenha coragem. Vá em frente. Determinação, coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Não importa quais sejam os obstáculos e as dificuldades. Se estamos possuídos por uma inabalável determinação, conseguiremos superá-los independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho.”

Dalai Lama

Trigo, C. **Infecção oculta pelo Vírus da Hepatite B em pacientes com tuberculose: prevalência e implicações clínicas**. Rio de Janeiro, 2016. 90 f. Dissertação [Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.

RESUMO

A infecção oculta pelo vírus da hepatite B (OBI na sigla em inglês) é caracterizada pela persistência do genoma do vírus (HBV- DNA) no tecido hepático e/ou sangue de pacientes com sorologia negativa para o antígeno de superfície (HBsAg). Isto pode ocorrer após a resolução de uma infecção aguda ou após longo tempo na infecção crônica, sendo o anticorpo contra o core viral (anti-HBc) considerado um marcador sentinela para a OBI. Mais de 20% dos pacientes com história pregressa de infecção pelo HBV (vírus da hepatite B) não apresentam marcadores sorológicos, tornando o HBV-DNA o único marcador da infecção. Diversas implicações clínicas estão associadas à OBI; transmissibilidade, reativação viral em indivíduos imunocomprometidos e, o desenvolvimento de doenças crônicas do fígado. No Brasil e no mundo poucos estudos analisam a prevalência da OBI e suas implicações clínicas em pacientes com tuberculose (TB). Tem-se registro de apenas um estudo no Brasil que descreve uma prevalência de 14.4% de OBI nesses pacientes, porém não analisam seus possíveis impactos clínicos. Geralmente o tratamento da TB é eficaz e seguro, entretanto, a hepatotoxicidade induzida por drogas anti-TB é um dos mais graves eventos adversos. Esse evento pode levar a interrupção ou o abandono do tratamento, contribuindo para o aumento da resistência adquirida, falência do tratamento, aumento do número de casos de tuberculose e, até mesmo o número de óbitos. Vários estudos associam a infecção ativa pelo HBV ao desenvolvimento da hepatotoxicidade. Nesse sentido, é possível que a OBI também esteja associada à hepatotoxicidade. Este estudo teve como objetivo investigar a prevalência da OBI em pacientes sob tratamento para tuberculose co-infectados ou não pelo HIV e, analisar a OBI como possível preditor da hepatotoxicidade. Este foi um estudo prospectivo com 100 pacientes que receberam tratamento para TB no período de 2008 a 2015, no INI, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil. A OBI foi caracterizada pela detecção do HBV-DNA através da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em pacientes positivo para o marcador anti-HBc acompanhado ou não pelo anti-HBs. Dados laboratoriais, clínicos e demográficos foram obtidos a partir dos prontuários clínicos e armazenados em banco de dados. Os resultados mostraram uma prevalência de 12.0% de OBI, quase metade (41.7%) desses pacientes apresentavam sorologia positiva para o anti-HBc e anti-HBs. Entre os pacientes com OBI co-infectados pelo HIV (75.0%), a baixa contagem de células CD4⁺ (≤ 50 células/ μ l) foi significativa ($p=0.036$), sugerindo ser indicador de OBI. A taxa de hepatotoxicidade foi de 41.0%. Através da regressão de Cox, a OBI (HR 2.98, 95% IC 1.30-6.86) foi identificada como o preditor mais forte para hepatotoxicidade quando ajustada para células CD4⁺ (HR 0.38, 95% IC 0.17-0.90); ALT antes do tratamento para TB (HR 1.37, 95% IC 0.81-2.32) e, forma clínica da TB (HR 2.91, 95% IC 1.75-7.21). A elevada prevalência de OBI e a associação com a hepatotoxicidade em pacientes com TB aponta a importância do rastreamento do HBV-DNA como uma estratégia para o monitoramento da hepatotoxicidade além de outras implicações clínicas associadas à OBI, contribuindo para redução da morbidade e mortalidade.

Palavras-chave: Vírus da Hepatite B; Infecção oculta pelo vírus da Hepatite B; OBI; Tuberculose; Hepatotoxicidade

Trigo, C. **Occult hepatitis B virus infection in patients with tuberculosis: prevalence and clinical implications**. Rio de Janeiro, 2016. 90 p. Dissertation [Master of Science in Infectious Disease Clinical Research Program] – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.

ABSTRACT

Occult hepatitis B virus infection (OBI) is characterized by the persistence of the virus genome (HBV-DNA) in the liver tissue and/or blood of patients who test negative for the hepatitis B surface antigen (HBsAg). It may occur after resolution of acute infection or after long time in chronic infection, and HBV core antigen antibodies (anti-HBc) considered as a sentinel marker for OBI. Over 20% of patients with a history of HBV infection have no serum markers, thus, the HBV-DNA becomes the single marker of infection. Several clinical implications have been associated with OBI; as its transmissibility, viral reactivation in immunocompromised individuals and development of chronic liver disease. In Brazil and in the world few studies have analyzed the prevalence of OBI and its clinical implications in patients with tuberculosis (TB). A single study in Brazil described an OBI prevalence of 14.4% among TB patients, but their potential clinical impact was not analyzed. Although TB treatment is generally effective and safe, hepatotoxicity induced by anti-tuberculosis drugs is one of the most serious adverse events. This event may lead to interruption or abandonment of treatment, contributing to the increase of acquired resistance, treatment failure, increased number of cases and even deaths. Several studies have associated the active HBV infection with development of hepatotoxicity. Therefore, it is possible that the OBI can also be associated with hepatotoxicity. This study aimed to investigate the OBI prevalence among TB patients under treatment co-infected or not with HIV, and analyze the OBI as a possible predictor of hepatotoxicity. This was a prospective study with 100 patients receiving treatment for TB from 2008 to 2015, in INI, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil. OBI was characterized by detection of HBV-DNA by the Polymerase Chain Reaction (PCR) in anti-HBc positive patients, with or without anti-HBs. Laboratorial, clinical and demographic data were obtained from medical records and stored in the database. The results showed that the OBI prevalence was 12.0%, almost half (41.7%) of these patients were seropositive for anti-HBc and anti-HBs. Among OBI patients co-infected with HIV (75.0%), low CD4⁺ counts (≤ 50 cells/ μ) was significant ($p = 0.036$), suggesting low CD4 cells counts as OBI indicator. Hepatotoxicity frequency was 41.0%. By Cox regression, the OBI (HR 2.98, 95% CI 1.30-6.86) was identified as the strongest predictor of hepatotoxicity when adjusted for CD4⁺ cells (HR 0.38, 95% CI 0.17-0.90); ALT before treatment to TB (HR 1.37, 95% CI 0.81-2.32), and clinical form of TB (HR 2.91, 95% CI 1.17-7.21). The high prevalence of OBI and the association with hepatotoxicity among TB patients points to the importance of screening for HBV-DNA as a strategy for monitoring hepatotoxicity and other clinical implications associated with OBI, contributing to reduce the morbidity and mortality.

Keywords: Hepatitis B virus; Occult Hepatitis B infection; OBI; Tuberculosis; Hepatotoxicity

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fases de leitura aberta do Vírus da Hepatite.....	5
Figura 2 - Vírus da Hepatite B.....	6
Figura 3 - Representação esquemática do ciclo de vida do HBV	7
Figura 4 - Curso sorológico da Hepatite B aguda.	9
Figura 5 - Curso sorológico da Hepatite B crônica.	10
Figura 6 - Distribuição geográfica da Hepatite B no mundo, 2012.....	11
Figura 7 - Casos de hepatite B por idade e região geográfica, Brasil, 2004-2014.	12
Figura 8 - Representação esquemática do perfil do HBV na OBI.....	15
Figura 9 - Mecanismo de infecção oculta pelo HBV através da metilação do HBV-DNA	17

LISTA DE FIGURAS E TABELAS DO MANUSCRITO

Figure 1: PCR for detection of HBV DNA in anti-HBc positive patients.	47
Table 1: Baseline characteristics risk and crude risk ratios for occult HBV infection.....	48
Table 2: Frequency of hepatotoxicity according to Grade and onset.	50
Table 3: Baseline characteristics risks, and crude risk ratios for DILI.....	51
Figure 2: Adjusted survival probability for liver toxicity regarding patients with or without OBI, plotted using the Kaplan-Meier method.	53
Figure 3: Hazard ratio of predictors of liver toxicity.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS

3TC	Lamivudina
ADV	Adefovir
ALT	Alanina aminotransferase
Anti-HBc	Anticorpo contra o core do HBV
Anti-HBe	Anticorpo contra o HBeAg
Anti-HBs	Anticorpo contra o HBsAg
CIOMS	da sigla em inglês “Conselho de Organizações Internacionais de Ciências Médicas”
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DNMT	DNA metiltransferase
ETV	Entecavir
HAART	da sigla em inglês “Terapia Antirretroviral Altamente Ativa”
HBcAg	Antígeno do core do HBV
HBeAg	Antígeno “e” do HBV
HBsAg	Antígeno de superfície do HBV
HBV	Vírus da Hepatite B
HCV	Vírus da Hepatite C
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IFN α	Interferon α
LdT	Telbivudina
LSN	Limite Superior da Normalidade
MS	Ministério da Saúde
NAT	Teste de Ácido Nucléico
OBI	da sigla em inglês “Infecção oculta pelo HBV”
OMS/WHO	da sigla em inglês “Organização Mundial de Saúde”
PCR	da sigla em inglês “Reação em Cadeia da Polimerase”
RNA	Ácido ribonucléico
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
SES	Secretaria Estadual de Saúde
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
TB	Tuberculose
TDF	Tenofovir

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 HEPATITE B	3
2.1.1 Histórico	4
2.1.2 Biologia molecular do Vírus.....	5
2.1.3 Replicação viral	6
2.1.4 Transmissão	7
2.1.5 Características clínicas da infecção pelo HBV.....	8
2.1.6 Marcadores sorológicos.....	9
2.1.7 Epidemiologia do HBV	11
2.1.8 Prevenção	12
2.1.9 Tratamento.....	13
2.2 HEPATITE B OCULTA	15
2.2.1 Causas da infecção oculta pelo HBV	16
2.2.2 Prevalência de Hepatite B oculta.....	19
2.2.3 Transmissão	20
2.2.4 Implicações Clínicas.....	22
2.2.5 Diagnóstico de infecção oculta pelo HBV	24
2.3 IMPLICAÇÕES DA <i>OBI</i> NO TRATAMENTO DA TUBERCULOSE	25
3. OBJETIVOS.....	28
3.1 OBJETIVO GERAL.....	28
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
4. RESULTADOS	29
5. ORIGINAL ARTICLE.....	30
6. CONCLUSÕES	55
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	56
8. REFERÊNCIAS	59
ANEXO 1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	70
ANEXO 2: Aprovação do CEP	72
ANEXO 3: Formulário para coleta de dados	73

1. INTRODUÇÃO

A infecção oculta pelo vírus da hepatite B (*OBI*) é definida pela persistência do genoma do vírus (HBV-DNA) no tecido hepático, com ou sem detecção no sangue de indivíduos com sorologia negativa para o antígeno de superfície do Vírus da Hepatite B (HBsAg) (Raimondo et al. 2013). Pode ocorrer após a resolução de uma infecção aguda autolimitada ou após longo tempo na infecção crônica, sem que haja qualquer evidência clínica ou alteração bioquímica da função hepática, tornando estes indivíduos portadores do vírus, com potencial risco para a transmissão da infecção (Raimondo et al. 2013; Zobeiri e Zobeiri 2013; Sowole et al. 2015). Nesse contexto, o anticorpo contra o core viral (anti-HBc) pode ser considerado um marcador sentinela para a *OBI* (Vitale et al. 2008; Urbani et al. 2010).

Todavia, mais de 20% dos indivíduos com *OBI* não apresentam marcadores sorológicos, seja pela queda dos títulos de anticorpos ao longo do tempo que se tornam indetectáveis, ou porque nunca houve soroconversão (Torbenon e Thomas 2002). Sendo assim, a *OBI* pode ser encontrada tanto em indivíduos soropositivos (com a presença de anti-HBc acompanhado ou não pelo anti-HBs), quanto em soronegativos, tornando o HBV-DNA o único marcador de infecção pelo HBV, detectável em baixos níveis (<200 UI/mL) (Raimondo et al. 2013).

A prevalência da *OBI* é variável e depende diretamente da prevalência do HBV em determinadas populações (Bréchet et al. 2001; Raimondo et al. 2013). No Brasil, estima-se que cerca de 14 milhões de pessoas (aproximadamente 7.0% da população) podem ter sido expostos ao HBV. Cerca de 17 mil casos são confirmados a cada ano no Brasil. Nos últimos anos (2013 e 2014), foram notificados 17.814 e 17.940 casos, respectivamente (Ministério da Saúde 2015a). A prevalência tem variação regional, apresentado taxas de endemicidade alta ($\geq 8\%$), intermediária (2-4%; 5-7%) e de baixa endemicidade (<2%) (Ott et al. 2012).

Entre os anos de 2005 a 2012, o Estado do Rio de Janeiro apresentou uma média de 4,1 casos/100.00 habitantes confirmados. Em 2011, foram confirmados 5,9 casos/100.000 habitantes (SINAN/SES-RJ, 2014).

Em um estudo conduzido pelo nosso grupo em pacientes com tuberculose (TB) (1999-2002) no Rio de Janeiro, encontramos uma taxa de prevalência de anti-HBc de 14.6%, sendo ainda maior em pacientes co-infectados com o HIV (35.8%) (Blal et al. 2005). Achados similares foram observados em anos posteriores (2003-2005), prevalência de anti-HBc de

20.2% em pacientes imunocompetentes com TB e de 50.6% em co-infectados pelo HIV (deCastro et al. 2010). Diante desse cenário epidemiológico, a expectativa é que exista também uma alta taxa de prevalência de *OBI* nessa população.

Estudos sobre a prevalência da *OBI* em pacientes com TB são escassos não só no Brasil, mas em todo o mundo. Até o momento apenas um estudo no Brasil registrou uma prevalência de 14.4% na região Centro-Oeste (Aires et al. 2012).

Pouco se sabe quanto aos fatores de risco, o significado clínico e os efeitos da *OBI* nos pacientes sob terapia anti-tuberculose, associada ou não aos antiretrovirais.

O surgimento da infecção pelo HIV trouxe como consequência o aumento de risco para o desenvolvimento da TB ativa, com um desfecho de tratamento desfavorável, e evolução para o óbito (WHO 2015).

Estimativas apontam que a TB matou 1,5 milhão de pessoas em 2014, contra 1,2 milhão de vítimas do HIV. No mundo, foram relatados 9,6 milhões de novos casos em 2014, sendo que 12% dos pacientes também eram portadores do HIV (WHO 2015).

Apesar da queda expressiva na incidência de TB no Brasil a partir de 1999, o país ainda se encontra entre os 22 países responsáveis por 80% dos casos no mundo. De acordo com o último relatório da OMS, estima-se uma taxa de mortalidade de 2,6/100.000 habitantes, uma prevalência de 52/100.000 habitantes e incidência de 44/100.000 habitantes (WHO 2015). As regiões sul e centro-oeste apresentam as menores taxas de incidência, com uma média de 26,1 casos/100.000 habitantes, já nas regiões norte, nordeste e sudeste essa taxa sobe para aproximadamente 44,4, 32 e 36,2 casos /100.000 habitantes, respectivamente. Sendo o Rio de Janeiro o estado que apresenta a maior taxa da região sudeste (60,9 casos/100.000 habitantes) (Ministério da Saúde 2015b).

Em 2014, no Brasil, a taxa de associação da tuberculose com o HIV foi de 10.4%, sendo que o teste do HIV foi realizado em apenas 62.7% dos casos de TB/HIV (Ministério da Saúde 2015b). Se o teste fosse realizado em todos os casos de TB, certamente esse número duplicaria.

A reativação viral na *OBI* tem sido frequentemente descrita entre pacientes que possuem doenças que comprometam seu sistema imunológico, como o HIV. Possibilitando, dessa forma, o desencadeamento de quadros mais graves, gerando uma taxa de mortalidade de aproximadamente 20% (Raimondo et al. 2013; Sagnelli et al. 2014).

A SIDA e as hepatites virais (hepatites B e C) compartilham fatores de risco e vias de transmissão, sendo a tripla infecção HIV/HBV/HCV comum em pacientes infectados com o

HIV (Soriano et al. 2007; Dowell et al. 2009; Mo et al. 2014).

Vários estudos demonstram que a *OBI* pode favorecer ou acelerar a progressão para cirrose relacionada à infecção crônica pelo vírus da hepatite C (HCV) e também está relacionada ao desenvolvimento do hepatocarcinoma celular (HCC), tanto em pacientes infectados pelo HCV quanto em pacientes negativos para o HCV com outras doenças hepáticas crônicas (Shi et al. 2012).

O tratamento da tuberculose geralmente é eficaz e seguro. Entretanto, a hepatotoxicidade induzida por drogas é um dos mais frequentes e graves eventos adversos, levando à interrupção do tratamento em 11% dos pacientes em terapia combinada com isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol, alcançando uma taxa de mortalidade de até 5% (Tostmann et al. 2008).

As medicações para o tratamento do HIV, TB e outras infecções oportunistas geralmente são hepatotóxicas (Mo et al. 2014). Diversos estudos apontam o HBV como um potencial risco para a hepatotoxicidade (de Castro et al. 2010; Wang et al. 2011; Ramappa e Aithal 2013).

Sendo assim, a multi-infecção pelo TB, HIV, HBV ou HCV aumenta a complexidade do manejo clínico, e os desafios para o SUS. O presente estudo foi conduzido em uma coorte de pacientes sob tratamento para TB, a fim de analisar a prevalência de *OBI* e o impacto dessa e de outras co-infecções, tais como HIV e HCV na hepatotoxicidade como desfecho clínico do tratamento da TB.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HEPATITE B

A hepatite B, causada por um vírus hepatotrópico (HBV), é considerada um problema de saúde mundial, representando uma importante causa de morbidade e mortalidade através de hepatopatias como cirrose e hepatocarcinoma celular (Aspinall et al. 2011). Aproximadamente, dois bilhões de pessoas no mundo já tiveram contato com o HBV, entre essas, cerca de 240 milhões são portadoras crônicas desse vírus. Estima-se que 780.000 pessoas morrem a cada ano como consequência da infecção aguda ou crônica pelo HBV (WHO 2015).

2.1.1 Histórico

Antes da era Cristã, relatos de epidemia de icterícia já existiam, sendo inicialmente descritos por Hipócrates (400 a.C.). No final do século XIX, após a vacinação contra a varíola (preparada a partir de linfa humana) 15% dos 1829 trabalhadores de um estaleiro em Bremen, se tornaram ictericos. A presença de icterícia foi associada à um agente de transmissão parenteral (revisado por Gomes e Araujo 2011).

Durante a primeira metade do século XX, surtos de hepatite foram observados em diversos países e associados à transfusão sanguínea, uso de drogas injetáveis, utilização de seringas e agulhas não esterilizadas e administração de vacinas, reforçando a possibilidade de transmissão da doença pela via parenteral (revisado por Gomes e Araujo 2011).

Foi na década de 40 que se distinguiu a presença de mais de um agente viral como causa de icterícia. Em 1947, MacCallum designou os termos “vírus da hepatite A” (HAV) para as infecções com curto período de incubação (18-37 dias) e, “vírus da hepatite B” (HBV) para as de longo período de incubação (30-180 dias). Esta terminologia foi adotada pelo comitê de hepatites virais da Organização Mundial de Saúde, e permanece até os dias atuais (revisado por Gomes e Araujo 2011).

Em 1965, Blumberg e colaboradores publicaram a descoberta do antígeno Austrália. Com o objetivo de estudarem o polimorfismo protéico, esses pesquisadores examinaram milhares de amostras de soro de diferentes regiões demográficas do mundo. Durante as pesquisas, encontraram um antígeno em uma amostra de soro de um indivíduo australiano, que reagia especificamente com um anticorpo presente no soro de um paciente hemofílico norte-americano. Estudos posteriores mostraram que o antígeno Austrália era raro na América do Norte e Europa Ocidental, entretanto, freqüente na população africana e asiática e entres pacientes com leucemia, síndrome de Down e hepatite aguda (Blumberg et al. 1967; Bayer et al. 1968).

No ano de 1968, foi estabelecida a relação entre o antígeno Austrália e o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (Okochi e Murakami 1968; Prince 1968). Posteriormente, a purificação do HBV foi realizada a partir de soro de portadores do antígeno Austrália e o virion (partícula completa) foi detectado por microscopia eletrônica, sendo denominado partícula de Dane (Dane et al. 1970).

2.1.2 Biologia molecular do Vírus

O HBV pertence à família *Hepadnaviridae*, que compreende dois gêneros, o *Orthohepadnavirus* cujos representantes são os vírus de mamíferos que infectam o homem e primatas superiores (HBV), marmotas (WHV), esquilo (GSHV/ASHV) e macacos do novo mundo (WMHBV). O gênero *Avihepadnavirus* constituído por vírus que infectam patos (DHBV) e garças (HHBV) (Lok 2000).

O HBV é observado em três formas morfológicas distintas quando são preparadas lâminas com soro de paciente. Existem as partículas incompletas esféricas e filamentosas, essas são consideradas não infecciosas e vazias, contêm apenas HBsAg e apresentam aproximadamente 22 nm de diâmetro. Já as partículas completas e infecciosas, denominadas virions ou partículas de Dane, possuem 42 nm de diâmetro sendo compostas pelo núcleo, nucleocapsídeo (HBcAg) e envelope viral (HBsAg).

O seu genoma é composto por DNA circular de fita parcialmente dupla com aproximadamente 3.200 pares de bases. Apresenta um genoma compacto, formado por quatro fases de leitura aberta: pré-S/S, pré-C/C, P e X (Ganem e Prince 2004) (Figura 5).

O gene S codifica as três proteínas de superfície que correspondem ao HBsAg, sendo composto pela proteína “large S” sintetizada pela região pré-S1, a região pré-S2 sintetizará a proteína “middle S” e, a proteína “small S”, onde estão localizados os epítomos específicos (determinante antigênico), será sintetizada pela região S deste gene (Ganem e Prince 2004).

As partículas completas do vírus são ricas em proteínas L, já que são essas que possuem os sítios de ligação do HBV aos receptores nas células hepáticas. A proteína S que promove a indução da resposta imunológica (síntese de anti-HBs) contra o HBV, sendo esse antígeno utilizado na produção de vacinas (Ganem e Prince 2004).

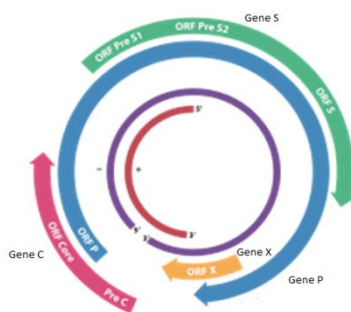


Figura 1 - Fases de leitura aberta do Vírus da Hepatite

Fonte: Adaptado de Ganem&Prince, 2004.

A região do Core viral é descrita como a mais conservada do HBV entre variantes virais humanas (Miller e Robinson 1986; Keum et al. 1998; Wynne et al. 1999; Tuteja et al. 2014). É responsável pela síntese do antígeno solúvel o HBeAg (pré-Core), que pode ser detectado na corrente sanguínea. As proteínas HBcAg, também produzidas por esse gene, se ligam para formarem o nucleocapsídeo viral. O HBcAg é capaz de induzir a síntese de anticorpos (anti-HBc).

O gene P codifica a proteína terminal e a polimerase viral, que apresenta três funções: atividade de DNA-polimerase-DNA-dependente, transcriptase reversa e, RNase H. A região X sintetiza a proteína X reguladora, que é fundamental para a replicação viral e é uma proteína transativadora de diversos genes virais e celulares (Ganem e Prince 2004) (Figura 6).

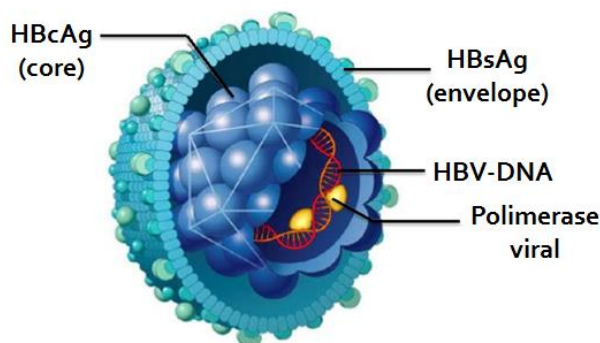


Figura 2 - Vírus da Hepatite B
Fonte: Adaptado de Ganem&Prince, 2004

2.1.3 Replicação viral

A replicação do HBV ocorre nos hepatócitos, através da ligação do vírus a um receptor de membrana específico que irá reconhecê-lo, permitindo, então, que a partícula viral penetre na célula. Dentro do hepatócito, o HBV perde o capsídeo, e o DNA viral é direcionado para o núcleo da célula infectada, onde ocorre a conversão do genoma em um DNA circular covalentemente fechado (cccDNA) (Beck e Nassal 2007).

O cccDNA serve como molde para transcrição pela RNA polimerase do hospedeiro em diversos RNA mensageiros (RNAm), incluindo o RNA pré-genômico (pgRNA). Os RNAm são translocados para o citoplasma, onde podem ser utilizados na tradução de proteínas do core viral (nucleocapsídeo), ou, o pgRNA pode ser envolto pelo nucleocapsídeo junto com a DNA polimerase viral, ocorrendo a síntese de HBV-DNA através da transcriptase reversa (Samal et al. 2012).

Algumas cópias de HBV-DNA retornam para o núcleo da célula, onde formarão mais cccDNA, mantendo um reservatório (Moolla et al. 2002). Entretanto, a maior parte dos nucleocapsídeos formados passará pelo Retículo Endoplasmático e Complexo de Golgi, recebendo a proteção do seu envelope lipoprotéico podendo, finalmente, ser secretado pelo hepatócito (Locarnini et al. 2003) (Figura7).

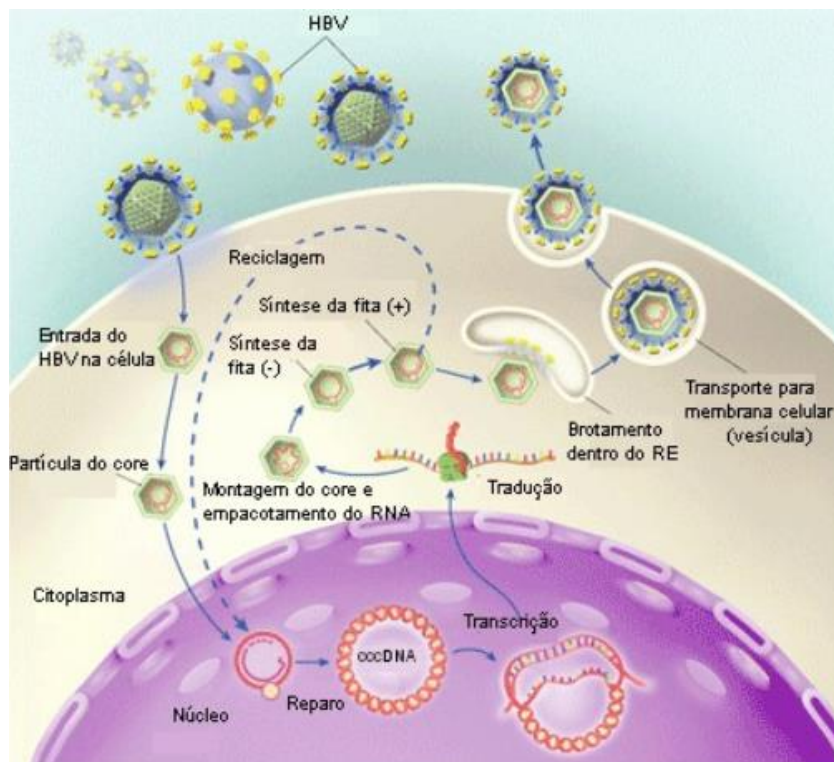


Figura 3 - Representação esquemática do ciclo de vida do HBV

Fonte: http://www.infekt.ch/updown/images/hbv_cycl.gif

2.1.4 Transmissão

O HBV pode ser encontrado em diversos fluídos corpóreos de indivíduos que possuem infecção aguda ou crônica. Apresentando, elevada concentração de HBV no sangue e exsudatos e, concentração relativamente baixa na saliva, sêmen, secreções vaginais (WHO 2015). Em indivíduos HBeAg positivo, a concentração de HBV é aproximadamente 10^8 - 10^9 partículas virais por mililitro (mL) de sangue (Dane et al. 1970). O risco de transmissão do HBV após o contato percutâneo com sangue HBeAg positivo é cerca de 100 vezes maior que o risco de transmissão de sangue infectado pelo HIV (CDC 2015).

Além disso, o HBV é um vírus extremamente resistente, sobrevivendo no sangue seco à temperatura ambiente por uma semana, e sua sobrevivência poderá ser ainda maior se estiver em ambiente úmido e ao abrigo da luz. O vírus continua infectante após a exposição ao éter, ao

ácido (pH 2,4 por 6 horas) e ao calor (98°C por 1 minuto, 60°C por 10 horas) (Ministério da Saúde 2007).

A transmissão do vírus da hepatite B ocorre por via parenteral (quando há exposição percutânea ou mucosa ao sangue ou secreções infectadas); vertical ou perinatal (de mãe para filho); e, sexual, sendo considerada uma doença sexualmente transmissível (Malta et al. 2011).

A infecção perinatal ocorre se a mãe portadora do HBV for HBeAg positivo (indicando alta infecciosidade) e possuir elevados níveis de HBV-DNA no soro (Okada et al. 1976; Beasley et al. 1977). Quando a primeira dose da vacina e a imunoglobulina são administradas durante as primeiras 24 horas de vida do recém-nato, 90% das crianças se tornam protegidas. Caso a infecção não ocorra no período perinatal, a criança ainda pode ser infectada nos cinco primeiros anos de vida, através da transmissão horizontal, uma vez que não tiveram resposta vacinal (Beasley et al. 1983).

O compartilhamento de seringas e o comportamento de alto risco sexual entre usuários de drogas injetáveis é a principal via de transmissão do HBV entre esses indivíduos. Além desses, pacientes que fazem hemodiálise, indivíduos que possuem tatuagem, piercing e fazem acupuntura também são considerados grupos de risco (Goldstein et al. 2002). Em adolescentes e adultos de países com baixa e média prevalência de hepatite B, o contato sexual é a principal rota de transmissão do vírus. Indivíduos heterossexuais ou homossexuais que possuem múltiplos parceiros apresentam elevado risco de adquirirem o vírus (WHO 2015).

2.1.5 Características clínicas da infecção pelo HBV

A infecção pelo HBV pode variar de uma forma aguda e auto-limitada à uma forma grave de hepatite fulminante. A apresentação clínica varia, podendo ser assintomático ou o indivíduo pode desenvolver sintomas. Nos casos assintomáticos, a infecção é identificada através da detecção de alterações bioquímicas ou marcadores sorológicos específicos do vírus. Já nos sintomáticos, os sintomas variam de brandos a graves (Gomes e Araujo 2011).

Aproximadamente 90-95% dos adultos infectados poderão se recuperar da infecção, cerca de 5% dos pacientes poderá desenvolver hepatite crônica, podendo progredir para a cirrose hepática ou carcinoma hepatocelular (Huang e Lok 2011). Cerca de 1% podem desenvolver hepatite fulminante (Inoue et al. 2009). Entretanto, no caso de infecção pelo

HBV em crianças com até 5 anos, há mais de 90% de chance desses se tornarem portadores crônicos, isso ocorre devido à imaturidade do sistema imunológico (CDC 2015).

A hepatite aguda pode ser dividida em quatro fases clínicas: período de incubação, que varia de 30 a 180 dias; fase pré-ictérica, com duração de aproximadamente 3 a 10 dias, caracterizada por sintomas inespecíficos como: febre baixa, anorexia, náuseas, vômitos, dores abdominais, intolerância a gordura, mialgia, artralgia, entre outros; fase ictérica, que acontece em 30% dos casos, sendo caracterizada pelo surgimento de urina escura e fezes pálidas, pode surgir hepatomegalia dolorosa e discreta, com ocasional esplenomegalia, hiperbilirrubinemia, aumento predominante das transaminases, aumento também da fosfatase alcalina e da gama-Glutamil Transferase (Ministério da Saúde 2007).

2.1.6 Marcadores sorológicos

Utilizam-se marcadores sorológicos para caracterizar o curso da infecção pelo HBV, que pode ser acompanhado através da detecção de antígenos virais como, HBsAg (antígeno viral de superfície) e HBeAg (marcador de replicação viral ativa), ou de anticorpos, anti-HBc (anticorpos específicos contra o nucleocapsídeo do vírus), o anti-HBs (anticorpo produzido contra o HBsAg) e o anti-HBe (CDC 2015).

A infecção aguda pelo HBV é confirmada através da detecção do anti-HBc IgM (imunoglobulina de classe M), com ou sem a positividade do HBsAg (Figura 1). O anti-HBc IgM pode ser encontrado no soro do paciente até seis meses após a infecção, sendo considerado um marcador de infecção recente (Sjogren 1996).

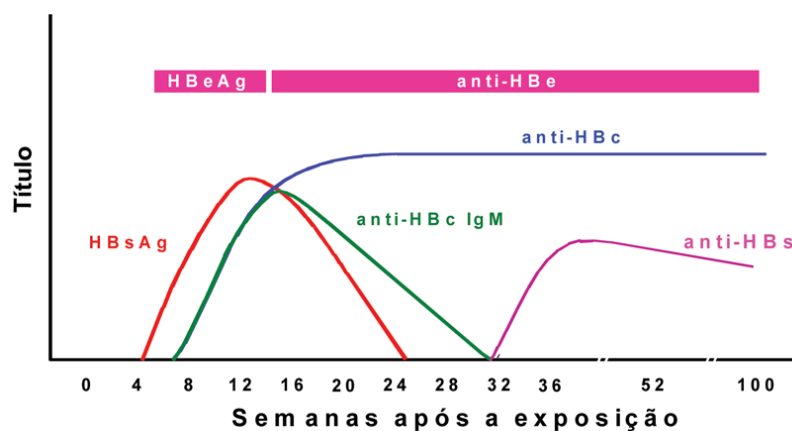


Figura 4 - Curso sorológico da Hepatite B aguda.
Fonte: Ministério da saúde, 2007.

A infecção crônica pelo vírus da Hepatite B é caracterizada pela detecção do antígeno HBsAg por mais de 6 meses, sendo o marcador anti-HBc IgM substituído pelo anti-HBc IgG, que indica infecção passada, recente ou remota (Sjogren 1996) (Figura 2).

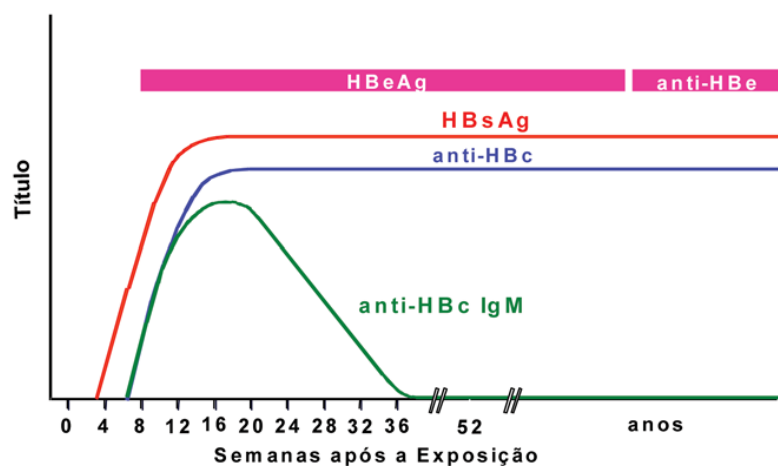


Figura 5 - Curso sorológico da Hepatite B crônica.
Fonte: Ministério da saúde, 2007.

A detecção do anticorpo anti-HBs pode ocorrer na hepatite aguda logo após o desaparecimento do HBsAg no soro, indicando resolução da infecção. Entretanto, esse marcador não será detectado no caso de infecção crônica, devido à persistência do HBsAg. A presença do anti-HBs pode significar infecção passada ou anticorpo vacinal. Na segunda situação, o anticorpo será encontrado isoladamente no soro (Rossi et al. 2012). Para que a imunidade seja conferida ao indivíduo, o título de anti-HBs terá que ser maior ou igual a 10 mUI/mL (CDC 2015).

O marcador de replicação viral, HBeAg, está presente durante a infecção aguda e pode estar presente na infecção crônica também (mutações no pré-core podem comprometer a síntese desse antígeno viral em pacientes crônicos, apresentando o marcador HBsAg acompanhado pelo anti-HBe). Ao longo da infecção, a resposta imune do hospedeiro leva à progressiva diminuição dessa replicação. Normalmente, nos três primeiros meses após a infecção, os indivíduos que apresentam imunidade satisfatória, produzirão anticorpos anti-HBe, que está associado à redução ou ausência de replicação viral (Ministério da Saúde 2007).

2.1.7 Epidemiologia do HBV

A prevalência de hepatite B varia nas diferentes regiões do mundo é determinada de acordo com a presença do HBsAg, sendo classificadas áreas de baixa endemicidade (<2%), intermediária baixa (2-4%), intermediária alta (5-7%) e alta (≥8%) (Ott et al. 2012). A prevalência de portadores do HBV é considerada alta no Sudeste Asiático, China, maior parte da África e Ilhas do Pacífico, algumas partes da América do Sul e o Oriente Médio. Observa-se uma endemicidade intermediária do HBsAg no Japão, Ásia Central, Europa Oriental, Israel e Rússia. Enquanto a baixa endemicidade é descrita nos Estados Unidos, Canadá, Europa Ocidental e Austrália (CDC 2015) (Figura 3).

Aproximadamente 45% de pessoas infectadas pelo vírus da hepatite B estão vivendo em áreas que apresentam prevalência de HBsAg igual ou superior a 8%, onde o risco de infecção é maior do que 60%, principalmente durante a infância e com alto risco de cronicidade. As áreas de prevalência intermediária representam 43% de pessoas infectadas em todo o mundo, com o risco de infecção de 20-60%, que ocorre em qualquer faixa etária. Apenas 12% estão vivendo em regiões de baixa prevalência, com risco de infecção inferior a 20%, que ocorre principalmente na vida adulta (CDC 2015). O Brasil foi recentemente classificado como um país de baixa endemicidade, anteriormente considerava-se elevada a prevalência de HBV na região norte do país (Ott et al. 2012).

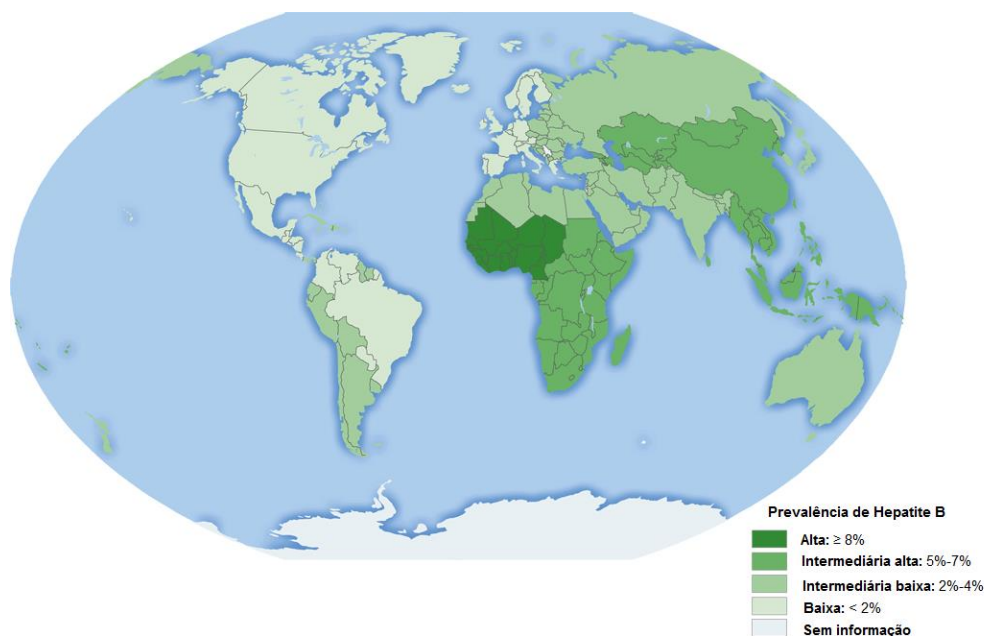


Figura 6 - Distribuição geográfica da Hepatite B no mundo, 2012.

Fonte: Adaptado de Ott et al., 2012.

Um estudo realizado pelo Ministério da Saúde no período de 2004 a 2014, onde foi considerado como casos confirmados de infecção pelo HBV todos que apresentassem pelo o menos um dos marcadores sorológicos reagentes ou o marcador molecular (HBsAg, HBeAg, anti-HBc IgM, HBV-DNA), verificou-se que, as regiões Sudeste e Sul apresentam o maior número de casos diagnosticados (Ministério da Saúde 2015c) (Figura 4). Segundo o percentual de distribuição de casos confirmados, o estado do Rio de Janeiro apresentou uma taxa de 14.4% (Ministério da Saúde 2012).

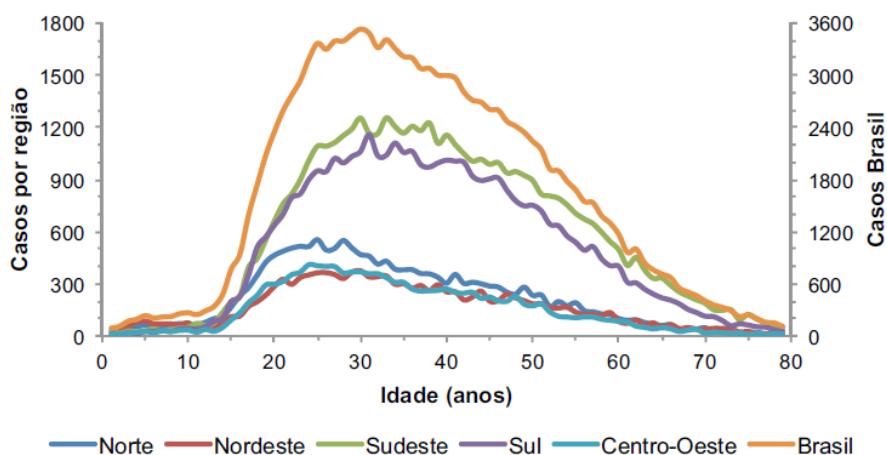


Figura 7 – Casos de hepatite B por idade e região geográfica, Brasil, 2004-2014.
Fonte: Ministério da Saúde, 2015.

Para todas as regiões, houve um aumento da positividade do anti-HBc total com a idade. Em relação ao sexo, os homens representaram maior probabilidade de exposição ao HBV em todas as regiões, exceto na Região Norte (Ministério da Saúde 2015c). À exceção do Sudeste, nas demais regiões pode-se relacionar a exposição ao HBV entre indivíduos com piores condições socioeconômicas. A transmissão sexual foi significativa nas Regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sul, nesta última, a transmissão sanguínea também teve destaque (Ministério da Saúde 2011a).

2.1.8 Prevenção

Em 1981, foi licenciada a primeira vacina contra o HBV, obtida a partir de plasma humano (Heptavax-B, Merck & Co). Entretanto, dado o risco da presença e transmissão de outros agentes infecciosos no plasma da qual a vacina era obtida, investiu-se no desenvolvimento da vacina recombinante, composta por HBsAg produzido em leveduras (Engerix-B, SmithKline e Recombivax, Merck & Co) (Assad e Francis 1999).

Quando administrada corretamente, a vacina induz à proteção em aproximadamente 90% dos indivíduos, através da produção de anticorpos anti-HBs (Blumberg 1997). O esquema recomendado para vacina contra o HBV, é a administração de 3 doses por via intramuscular, sendo o intervalo de um mês entre a primeira e segunda dose, e de 5 meses entre a segunda e terceira dose (Assad e Francis 1999). Para que o indivíduo esteja protegido, o título de anti-HBs deve ser igual ou superior a 10 UI/L (Mahoney 1999).

Para a proteção de indivíduos recentemente expostos ao HBV, é utilizada uma imunoglobulina Anti-hepatite B (HBIG), que contém elevada concentração de anti-HBs, sendo considerada hiperimune e específica. É utilizada para a proteção de indivíduos que tenham tido exposição percutânea ou mucosa a sangue HBsAg positivo; contato sexual com portador; exposição perinatal em recém-nascido de mães HBsAg positivo (Perrillo et al. 1984). A HBIG também é utilizada em casos de transplante de fígado, evitando uma possível infecção recorrente pelo HBV (Dindoost et al. 2012).

No Brasil, tal método profilático era utilizado apenas entre os grupos de risco, que inclui trabalhadores da área de saúde, usuários de drogas, homossexuais, indivíduos com sorologia positiva para o HIV, entre outros. Porém, desde 1996 houve ampliação do uso da vacina em todo o território para menores de um ano e, a partir de 2013, houve a ampliação para faixa etária de até 49 anos. Em 2016, a cobertura vacinal contemplará toda a população independente da idade ou condições de vulnerabilidade (Ministério da Saúde 2013; Ministério da Saúde 2015d)

2.1.9 Tratamento

O tratamento para a hepatite B tem como principal objetivo a supressão sustentada da replicação viral ativa, evitando danos irreversíveis ao fígado. Como resultado, espera-se que o HBV-DNA e HBsAg tornem-se indetectável no soro do paciente, e ocorra a soroconversão HBeAg/anti-HBe, normalização das aminotransferases e melhora das alterações histopatológicas. Diminuindo, dessa forma, o risco de desenvolvimento da cirrose hepática e do HCC (Ministério da Saúde 2011b).

A primeira droga utilizada para o tratamento da infecção pelo HBV foi o interferon α (IFN α), que possui atividade antiviral e imunomoduladora, aumentando a resposta imunológica do hospedeiro. Tal fármaco também é encontrado na forma peguilada (peginterferon), quando conjugado com uma molécula de polietilenoglicol. Essa nova forma

reduz a excreção do IFN pelos rins, aumentando a sua meia-vida e possibilitando a ação da droga no organismo por maior tempo (Kang et al. 2015).

O peginterferon precisa ser injetado apenas uma vez por semana, facilitando o tratamento para o paciente. Entretanto, a terapia com IFN apresenta elevado custo e apresenta efeitos adversos como febre, queda de cabelo e diminuição da quantidade de glóbulos brancos. Além disso, apresenta baixa eficácia em indivíduos com ALT normal ou levemente elevada (Ministério da Saúde 2011b; Kang et al. 2015).

Outros tipos de fármacos utilizados são os antivirais análogos de nucleos(t)ídeos: lamivudina (3TC), entecavir (ETV), adefovir (ADV), tenofovir (TDF) e telbivudina (LdT). Essas drogas têm ação sobre a polimerase viral, suprimindo a replicação do HBV (Aspinall et al. 2011). A principal limitação do tratamento a longo prazo é a elevada taxa de mutações que podem ocorrer no genoma viral (CHEN et al. 2016).

A lamivudina foi o primeiro análogo de nucleosídeo aprovado para o tratamento da infecção crônica pelo HBV. Apresenta ação sobre a transcriptase reversa, inibindo a síntese do HBV-DNA, a partir do RNA pré-genômico. Bloqueia, assim, a síntese de novas partículas virais, diminuindo os níveis de HBV-DNA no soro de indivíduos tratados (Hadziyannis 2014).

A resistência associada à emergência de determinadas mutações no genoma viral é o maior problema resultante da terapia prolongada utilizando a lamivudina. A mais importante delas resulta na substituição de uma metionina por valina ou isoleucina no domínio YMDD na DNA polimerase. A substituição desses aminoácidos confere a resistência, sugerindo que aumentar a dose da medicação não restabelece a resposta viral (Gao et al. 2015).

A lamivudina está inserida no esquema de terapia antirretroviral altamente ativa (HAART), sendo usada também no tratamento contra o HIV. Em indivíduos portadores de HBV co-infectados com HIV, a taxa de resistência do HBV à lamivudina é de aproximadamente 20% em dois anos de tratamento, aumentando até 90% em quatro anos (Ministério da Saúde 2011b).

As taxas de resistência observadas são inferiores quando outros análogos são utilizados. Em cinco anos de tratamento com adefovir, estima-se uma resistência de aproximadamente 30% dos casos. Sendo ainda menores ao utilizarem o tenofovir e entecavir (menores que 1% após dois anos em pacientes sem tratamento prévio), representando uma alta barreira genética à resistência (Ghany e Doo 2009).

2.2 HEPATITE B OCULTA

Mesmo após a resolução de uma infecção aguda autolimitada ou crônica, os indivíduos podem estar carregando o vírus da hepatite B (HBV) sem que haja qualquer evidência clínica ou alteração bioquímica da função hepática (Zobeiri e Zobeiri 2013). A persistência do genoma viral (HBV-DNA) no tecido hepático e/ou sangue de pacientes com resultado negativo para o antígeno HBsAg é denominada infecção oculta pelo HBV (*OBI*) (Raimondo et al. 2013).

O primeiro relato de *OBI* foi feito há mais de 30 anos, entre doadores de sangue que apresentavam o anti-HBc como único marcador (Tabor et al. 1979). O HBsAg é considerado o marcador de infecção ativa e o anti-HBc, indicador de infecção pregressa. Entretanto, quando o anti-HBc é detectado isoladamente no soro do paciente acompanhado ou não pelo anti-HBs, pode ser indicativo de infecção oculta (Raimondo et al. 2013).

A *OBI* está associada à presença de anticorpos, no entanto essa infecção pode estar presente em indivíduos soronegativos, ou seja, aqueles que não apresentam nenhum dos marcadores sorológicos da infecção pelo HBV. A ausência dos marcadores ocorre devido à queda do título dos anticorpos ao longo do tempo ou porque esses pacientes nunca soroconverteram (Pollicino e Saitta 2014) (Figura 8).

Sendo assim, o HBV-DNA pode ser detectado em pacientes soropositivos (anti-HBc e/ou anti-HBs) e soronegativos. O que é possível devido ao avanço e o desenvolvimento das técnicas de biologia molecular e o estudo da variabilidade genética do HBV (Barros Júnior et al. 2008; Raimondo et al. 2013).

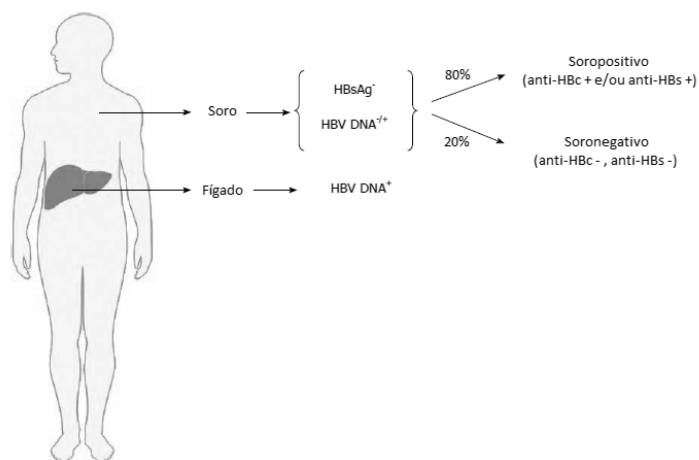


Figura 1 - Representação esquemática do perfil do HBV na *OBI*

Fonte adaptada: Pollicino et al., 2014

2.2.1 Causas da infecção oculta pelo HBV

Na maioria dos casos a infecção oculta ocorre devido à resposta imune do hospedeiro, fatores epigenéticos e co-infecção com outros agentes infecciosos que o indivíduo possa apresentar (Raimondo et al. 2013). No entanto, esse tipo de infecção pode estar relacionada a mutações que ocorrem principalmente no gene S e no gene C (pré-core/core), fazendo com que os marcadores de infecção ativa (HBsAg) e o de replicação viral (HBeAg) não sejam detectados na sorologia para o vírus da hepatite B (Chaudhuri et al. 2004).

a) Resposta Imune do Hospedeiro

Diversas evidências demonstram que as interações vírus-hospedeiro estão relacionadas à indução e manutenção do estado oculto da infecção pelo vírus da hepatite B. A resposta imune do hospedeiro está ligada a persistência viral e a imunopatogênese da infecção (Samal et al. 2012).

Estudos mostraram que condições que induzem a imunossupressão do indivíduo (como a quimioterapia) podem causar a reativação da infecção oculta, com o reaparecimento do perfil sorológico típico de infecção pelo HBV. Com isso, pode-se observar a relação entre o estado imunológico do hospedeiro e o desenvolvimento da infecção oculta (Raimondo et al. 2013).

Dados confirmam que células T de memória de longa duração são detectáveis vários anos após a recuperação da infecção. Correlaciona-se isso a fase oculta da infecção, quando o HBV ainda é capaz de sintetizar quantidades baixas de antígenos, que são indetectáveis nos testes sorológicos, mas suficientes para manter a indução da resposta de células T específicas contra o HBV (Penna et al. 1996; Rehmann et al. 1996).

De fato, moléculas de cccDNA e transcritos virais são detectados nos hepatócitos de indivíduos com infecção oculta (Wong et al. 2011). Portanto, a recuperação clínica da infecção pelo HBV implica não só a eliminação completa do vírus, mas também reflete a capacidade do sistema imune de manter sob controle os resquícios virais presentes no fígado após a resolução da doença (Raimondo et al. 2013).

b) Fatores epigenéticos

Epigenética é definida como o estudo das modificações do DNA e das histonas que são herdáveis, sem que haja alteração na seqüência de bases do DNA. Dentre as modificações que as histonas podem sofrer estão: metilação, fosforilação e acetilação (Szyf 2007).

A metilação consiste em uma modificação covalente do DNA, onde um grupamento metil (CH_3) é transferido da S-adenosilmetionina para o Carbono 5 de uma citosina que normalmente precede uma guanina (dinucleotídeo CpG), isso ocorre através da ação das enzimas DNMTs (Szyf 2007).

A metilação é um mecanismo fundamental para a regulação da atividade transcricional. Logo, a metilação do HBV-DNA representa um mecanismo epigenético que compromete a tradução de proteínas do HBV, sua replicação e produção do virion, provocando o estado oculto da infecção pelo HBV (Samal et al. 2012).

As DNA metiltransferases (DNMTs) induzidas pelo HBV podem metilar o HBV-DNA, resultando na inibição da transcrição e replicação do HBV. Levando a diminuição da secreção de HBsAg e expressão de HBeAg e HBcAg, justificando, dessa forma, a não detecção dos marcadores virais no soro de indivíduos com hepatite B oculta (Vivekanandan et al. 2010) (Figura 9).

A relação entre o HBeAg e a alta carga viral é conhecida. Em estudos recentes foi demonstrado que a frequência de cccDNA metilado em indivíduos HBeAg-negativos é maior do que naqueles que são HBeAg-positivos. Isso ocorre, pois a metilação do cccDNA provoca a redução da replicação viral (Guo et al. 2009).

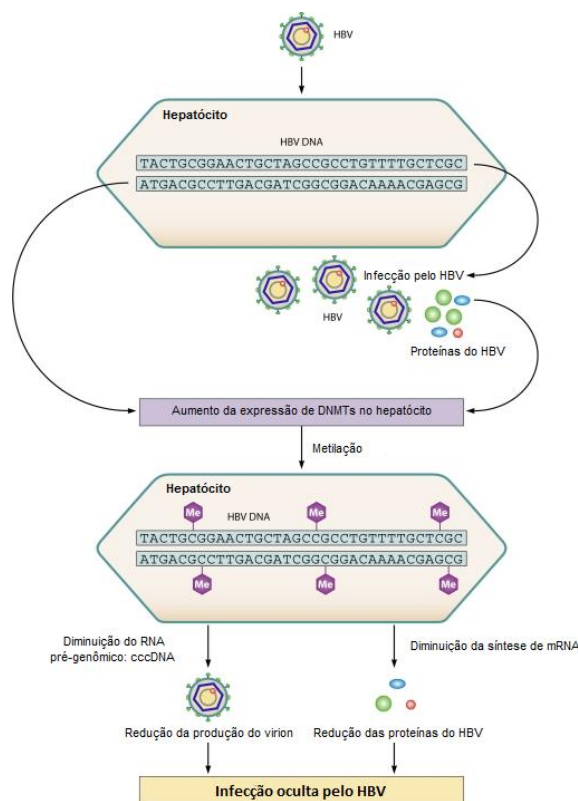


Figura 2 - Mecanismo de infecção oculta pelo HBV através da metilação do HBV-DNA
 Fonte: Adaptado de Samal et al., 2012

A acetilação é o outro tipo de modificação das histonas ligadas ao HBV-DNA que está relacionada à regulação da transcrição e replicação viral.

Na presença de inibidores da histona deacetilase (família de enzimas que removem o grupo acetila da histona), ocorre a hiperacetilação de histonas ligadas ao cccDNA, que está associada aos altos níveis de transcrição viral e ao aumento da replicação do HBV. Além disso, a acetilação das histonas H3/H4 ligadas ao cccDNA está ligada a regulação da replicação viral em pacientes com hepatite B crônica (Samal et al. 2012).

Por outro lado, a hipoacetilação de histonas ligadas ao cccDNA é observada em tecido hepático de pacientes com baixa carga viral e, está relacionada ao recrutamento da histona deacetilase (Pollicino et al. 2006).

Posteriormente, estudos demonstraram que a proteína HBx mutante, com uma única substituição de nucleotídeo, está associada à rápida hipoacetilação de histonas ligadas ao cccDNA. Dessa forma, a proteína HBx com mutação foi relacionada à redução na formação do RNA pré-genômico e à redução da replicação do HBV. Logo, pode-se correlacionar essa diminuição da replicação viral à infecção oculta pelo vírus da hepatite B (Belloni et al. 2009).

c) Co-infecção

Outros agentes infecciosos podem interferir na atividade do HBV no caso de co-infecção. Diversos estudos demonstraram a diminuição da replicação do HBV e da expressão de HBsAg no fígado de pacientes co-infectados com o HCV, determinando o estado oculto da infecção pelo HBV (Raimondo et al. 2013). Foi demonstrado claramente em vários estudos que as proteínas virais do HCV inibem a replicação do HBV, sugerindo a interação entre tais proteínas virais. A maior prevalência de hepatite B oculta é observada em pacientes infectados pelo HCV, sendo encontrada em aproximadamente um terço desses indivíduos (Raimondo et al. 2013).

Entretanto, em pesquisas recentes não foi observada a interferência desses vírus na replicação *in vitro*. Logo, a interferência viral observada em pacientes HBV/HCV co-infectados é provavelmente provocada por mecanismos indiretos mediados pela resposta imune do indivíduo (Bellecave et al. 2009). Os dados disponíveis ainda não permitem concluir o papel do HCV na indução da hepatite B oculta.

A infecção oculta pelo HBV também ocorre em pacientes infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) (Raimondo et al. 2013). A prevalência de infecção oculta nesses pacientes varia de acordo com o método de detecção de HBV-DNA utilizado, a endemicidade de HBV na região estudada e o tratamento anti-retroviral utilizado (Samal et al.

2012). Entretanto, os mecanismos que causam o estado oculto em pacientes infectados pelo HIV ainda são desconhecidos.

Outro agente infeccioso que também pode inibir a replicação viral do HBV é o *Schistosoma mansoni* (McClary et al. 2000). A co-infecção HBV e *Schistosoma* ocorre com frequência em regiões onde ambos são endêmicos (Berhe et al. 2007).

d) Mutações do vírus HBV

A infecção oculta pelo HBV caracteriza-se pela ausência de HBsAg detectável no soro. Por isso, pesquisas são realizadas para correlacionar a ausência de HBsAg com as mutações que podem ocorrer no gene de superfície do vírus e suas regiões reguladoras (Raimondo et al. 2013).

Dessa forma, tem sido descrito na literatura a ocorrência de mutações na região imunodominante das proteínas de superfície do HBV, o que compromete o reconhecimento imunológico do vírus. Além disso, há relatos de deleções na região pré-S1, prejudicando o envelopamento viral, alterações estruturais de regiões reguladoras levando a diminuição da expressão do HBsAg e, mutações que afetam a produção pós-traducional de proteínas do HBV (El Chaar et al. 2010).

2.2.2 Prevalência de Hepatite B oculta

A prevalência da infecção oculta pelo HBV tem sido descrita em cenários distintos e varia de 1% a 95% em todo o mundo (Kwak e Kim 2014). Depende diretamente da prevalência do HBV em diferentes regiões geográficas, da variabilidade étnica populacional, assim como dos métodos laboratoriais utilizados para testar o vírus (Alavian et al. 2012; Raimondo et al. 2013).

Elevadas taxas de *OBI* são descritas em regiões onde o HBV é considerado endêmico, como na Ásia Oriental, onde 41% a 90% da população já teve exposição ao vírus. Sendo encontrada menos frequentemente nas regiões de baixa endemicidade, como na América do Norte, onde apenas 5% a 20% dos indivíduos apresentaram exposição anterior (Kwak e Kim 2014).

A hepatite B oculta está relacionada a diferentes manifestações clínicas, atingindo aproximadamente 33% dos pacientes portadores do HCV com sorologia negativa para o HBsAg (Torbenon e Thomas 2002). Sendo observada também em indivíduos hemofílicos no

Japão, com uma taxa de 51.0% (Toyoda et al. 2004).

Pacientes em hemodiálise possuem maior risco de infecção oculta, assim como usuários de drogas intravenosas que estão suscetíveis a diversas infecções devido à exposição parenteral (Gomes e Araujo 2011).

Há grupos de pacientes que apresentam maior risco de terem hepatite B oculta independentemente da região geográfica, como os indivíduos HIV positivos e aqueles que realizaram transplante de fígado (Samal et al. 2012).

No Brasil, ainda não há um número expressivo de estudos que descrevam essa prevalência. Alguns apontam a prevalência da *OBI* em pacientes com HIV (14%), doadores de sangue (4%) e, pacientes em hemodiálise (1.5%)(Araujo et al. 2008; Jardim et al. 2008; Albuquerque et al. 2012). Indivíduos com HIV co-infectados pelo HCV apresentam uma prevalência de 3.4% (Jardim et al. 2008). Entre pacientes com tuberculose, apenas um estudo foi conduzido até o momento, em uma região de baixa endemicidade, sendo encontrada uma taxa de 14.4% (Aires et al. 2012).

2.2.3 Transmissão

A forma de transmissão do vírus oculto pode ocorrer pelas mesmas vias da hepatite B ativa. Entre elas, as mais bem documentadas são:

- Transfusão

Ocorre através de doadores infectados pelo vírus oculto e, pela transfusão de sangue de pacientes que estejam na janela imunológica (Liu et al. 2006).

A infectividade da *OBI* através de transfusão sangüínea ainda não está muito bem elucidada, mas está relacionada à carga viral, volume de sangue e também aos marcadores sorológicos para o HBV (anti-HBc acompanhado ou não pelo anti-HBs). Os doadores de sangue que apresentam sorologia positiva para o anti-HBs e uma titulação elevada tornam-se menos suscetíveis a transmitirem o vírus no estado oculto do que aqueles que apresentam o anti-HBc como único marcador (Allain 2006; Candotti e Allain 2009).

O teste de ácido nucléico (NAT) foi desenvolvido para triagem de doadores de sangue, permitindo a detecção do HBV-DNA em pacientes que possam ter sido previamente expostos ao HBV e apresentam sorologia negativa para o HBsAg (janela imunológica), assim como

nos indivíduos que possuem a *OBI*. Permitindo, dessa forma, a diminuição da transmissão do vírus no seu estado oculto.

Entretanto, tal teste molecular ainda não está disponível em todo o mundo, principalmente nos países em desenvolvimento (Raimondo et al. 2013; Song e Hwang 2013). No Brasil, o NAT foi implementado recentemente nos hemocentros em todo o país, sendo obrigatório o teste para o HIV e HCV, iniciando a testagem para o HBV somente no ano de 2015.

- Transplante de órgãos

Há a possibilidade de transmissão do HBV através do transplante de órgãos de um indivíduo que possua a *OBI*, podendo ocasionar quadro de hepatite B grave no paciente transplantado, durante a imunossupressão (Zobeiri e Zobeiri 2013). As taxas mais elevadas de transmissão do vírus estão relacionadas ao transplante de fígado, pois os hepatócitos funcionam como reservatório do cccDNA, levando à reativação viral no indivíduo imunossuprimido.

O percentual de transmissão do HBV de indivíduos com *OBI* (anti-HBc como único marcador) para os pacientes transplantados varia de 17% a 94%. Recomenda-se, então, a profilaxia para prevenir a reativação do HBV (Cholongitas et al. 2010).

- Hemodiálise

Os pacientes sob hemodiálise representam um grupo de risco para a transmissão de infecções via parenteral, pois estão expostos a diversos procedimentos invasivos, além de receberem mais transfusões sanguíneas do que a população em geral.

A vacina contra a hepatite B entre esses indivíduos apresenta um índice baixo de soroconversão. Quando soroconvertem, apresentam quantidades inferiores de anticorpos anti-HBs, um pico máximo menor e ainda um tempo reduzido de cobertura vacinal. Esses fatores provavelmente contribuem para a transmissão da *OBI* entre pacientes em hemodiálise (Besisik et al. 2003; Motta et al. 2010).

Nessa população, a prevalência da infecção oculta varia de 0% a 54%, dependendo da endemicidade no vírus na região e das técnicas de diagnóstico empregadas (Minuk et al. 2004; Yoo et al. 2013). Diversos estudos sugerem que a *OBI* pode ser uma fonte de disseminação do vírus para outros pacientes, assim como para os profissionais das unidades de hemodiálise (Yoo et al. 2013).

Logo, tanto os pacientes quanto os funcionários devem receber doses de reforço da vacina contra o HBV, permitindo que mantenham os níveis de anticorpos suficientes contra o HBsAg. Programas de controle da infecção também devem ser implementados, evitando a reutilização de dialisadores e orientando os profissionais das unidades quanto à prevenção da infecção (Kwak e Kim 2014). Tornando-se de extrema importância o rastreamento do HBV-DNA através da técnica de PCR entre todos os pacientes sob diálise, tendo uma maior atenção aos pacientes imunossuprimidos que realizaram transplante renal (Yoo et al. 2013).

2.2.4 Implicações Clínicas

Estudos demonstram a possibilidade de reativação do vírus oculto em pacientes com doenças que comprometem o seu sistema imunológico ou que estão sendo submetidos à imunoterapia e/ou quimioterapia, como os pacientes HIV. Também evidenciam a associação da infecção oculta pelo HBV com as formas mais graves de doenças hepáticas em pacientes infectados pelo HCV e ao desenvolvimento do hepatocarcinoma celular, sugerindo que a presença do HBV-DNA favoreça ou acelere a progressão dessas (Raimondo et al. 2013).

a) Reativação

Embora ocorra em uma menor frequência, a reativação do HBV tem sido constantemente relatada em pacientes imunossuprimidos que possuem a *OBI*. Sendo caracterizada pelo surgimento do marcador HBsAg, resultando em quadro de hepatite B clássica (Yeo e Johnson 2006; Sagnelli et al. 2014).

Situações clínicas como malignidades hematológicas, transplante de células-tronco hematopoiéticas e de fígado, a partir de doadores com sorologia positiva para o anti-HBc e o tratamento com imunomoduladores têm sido associados ao maior risco de reativação viral da *OBI* (Raimondo et al. 2013, 2014; Squadrito et al. 2014). Outras condições imunossupressoras como a infecção pelo HIV, transplante de rim ou medula óssea, quimioterapia e doenças reumatológicas também são descritas como possíveis causas da reativação viral.

O estado imunossuprimido induzido pela quimioterapia faz com que ocorra a replicação viral devido à perda do controle imunológico, com grande relevância clínica, podendo levar à insuficiência hepática, sendo necessário em muitos casos que o tratamento quimioterápico seja interrompido. Porém, com a reconstituição do sistema imunológico, pode ocorrer lesão do tecido hepático mediado por células T-citotóxicas, gerando uma inflamação e necrose hepática (Kwak e Kim 2014).

Portanto, o uso de antivirais é recomendado para pacientes com infecção oculta, principalmente entre aqueles com elevado risco de reativação (Raimondo et al. 2014; Squadrito et al. 2014). Indivíduos com anti-HBc como único marcador que possuem menor risco de reativação viral e apresentam HBV-DNA indetectável ou em baixos níveis devem ser monitorados. Esse controle é realizado usando a alanina aminotransferase (ALT) e os níveis de HBV-DNA, com intervalos adequados antes e durante o tratamento com imunossupressor e meses após a interrupção do tratamento (Yeo e Johnson 2006).

b) Progressão da doença hepática crônica

O genoma do HBV pode persistir por um longo tempo no fígado, induzindo necro-inflamação leve em pacientes recuperados de uma infecção aguda autolimitada (Yuki et al. 2003). Diversos estudos demonstram que a *OBI* favorece a progressão da doença crônica do fígado, pacientes co-infectados com HCV têm aumentado o interesse dos pesquisadores para a avaliação do impacto clínico da *OBI* no curso dessa infecção crônica.

O HBV e o HCV compartilham as mesmas vias de transmissão, sendo a *OBI* altamente prevalente entre pacientes com hepatite C crônica. Pesquisas relatam a infecção oculta como um fator de risco para a gravidade da doença hepática (Cacciola et al. 1999; Sagnelli et al. 2001).

Em um estudo longitudinal entre os pacientes com hepatite C que apresentavam *OBI* observou-se um maior risco de progressão para cirrose, desenvolvimento do HCC e aumento do risco de morte relacionada a doenças hepáticas, quando comparados aos indivíduos negativos para infecção oculta (Squadrito et al. 2013). Corroborando com outras pesquisas que descreveram a associação do HBV-DNA com a alteração nos níveis de ALT em pacientes com HCV co-infectados com a *OBI*. Indicando que a presença do genoma do HBV pode estar envolvida na lesão hepática nesses pacientes (Kannangai et al. 2007; Selim et al. 2011).

Outro estudo realizado entre indivíduos com *OBI* co-infectados ou não pelo HCV, demonstrou que a infecção oculta está relacionada à doença hepática crônica, aumentando em 8,9 vezes o risco dessa progressão quando comparado a indivíduos sem a *OBI* (Covolo et al. 2013).

Assim, pode-se concluir que a presença da *OBI* com o HCV ou outras doenças crônicas do fígado, pode acelerar o dano hepático devido à resposta do sistema imune. (Squadrito et al. 2014).

c) Hepatocarcinoma celular

A presença do HBV é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento do HCC. Apesar do mecanismo não ser completamente elucidado, o HBV provoca o HCC direta ou indiretamente (Raimondo et al. 2013).

O vírus se integra ao genoma do hospedeiro, sintetiza proteínas com atividade pró-oncogênica (proteína X e proteínas pré-S mutantes) e causa alterações genéticas e epigenéticas que podem induzir modificações nos hepatócitos (Di Bisceglie 2009; Pollicino e Saitta 2014).

Assim como a hepatite B crônica, a *OBI* que é caracterizada pela persistência do cccDNA nas células hepáticas, também pode ser considerada como um fator de risco para o desenvolvimento do HCC (Kwak e Kim 2014).

Estudos epidemiológicos mostram que existe frequência significativamente maior de *OBI* em pacientes com HCV que apresentam HCC do que naqueles indivíduos portadores da hepatite C sem o HCC. Achados semelhantes foram relatados em pacientes sem HCV, mas que apresentavam doença hepática criptogênica ou doença hepática causada pelo álcool (Yotsuyanagi et al. 2004; Huang e Hollinger 2014).

Apesar da resolução da infecção aguda, com a aparente eliminação do vírus, há um elevado risco de desenvolvimento do HCC (Di Bisceglie 2009; Squadrito et al. 2014). Em diversos estudos, a probabilidade da progressão para o HCC foi significativamente maior entre os pacientes com *OBI* do que entre os indivíduos com resultado negativo para o HBV-DNA, o que ocorre na presença ou ausência do HCV (Raimondo et al. 2013).

Embora os resultados apontem a *OBI* como fator de risco para o HCC, o seu papel nesta indução deve ser melhor investigado para esclarecer a associação entre essa exposição e o desenvolvimento do hepatocarcinoma (Kwak e Kim 2014).

2.2.5 Diagnóstico de infecção oculta pelo HBV

A sensibilidade e a especificidade dos testes sorológicos na sua grande maioria não detectam títulos baixos de antígenos virais nem cepas mutantes, logo, o diagnóstico dessas variantes só será possível através de técnicas moleculares. A detecção do HBV-DNA é realizada através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) ou PCR em tempo real, utilizando iniciadores específicos desenhados para as diferentes regiões genômicas do HBV (Samal et al. 2012).

Embora o material utilizado como padrão-ouro para a análise do HBV-DNA seja DNA extraído a partir do tecido hepático, esse tipo de amostra é restrito à minoria dos pacientes devido à dificuldade de acesso a biópsia hepática. No entanto, a detecção do HBV-DNA pode ser facilitada pela utilização do tecido sanguíneo, permitindo a obtenção do DNA para a realização da PCR, que tem limite de detecção <10 cópias de DNA por reação (Maldonado-Rodriguez et al. 2015).

A detecção do HBV-DNA pode ser realizada através da amplificação das regiões S, X e core/pré-core utilizando DNA extraído do tecido hepático, soro e tecido sanguíneo. Um estudo analisou a eficiência da amplificação do HBV-DNA nas diferentes amostras, ao comparar com o padrão ouro, a sensibilidade de detecção do HBV-DNA no tecido sanguíneo foi maior do que no soro. Confirmando a identificação da *OBI* no tecido sanguíneo como uma ferramenta útil (Cassini et al. 2013).

2.3 IMPLICAÇÕES DA *OBI* NO TRATAMENTO DA TUBERCULOSE

A tuberculose é uma doença infecciosa causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* que afeta prioritariamente os pulmões, sendo considerada assim como o HBV, um problema de saúde pública mundial. A tuberculose é uma doença antiga, que acompanha o homem desde que passou a viver em comunidade. Até meados da década de 80, os países ricos consideraram a tuberculose como um mal já debelado. Porém, com o advento da AIDS, a tuberculose ressurgiu e em 1993, foi declarada pela OMS como uma “Emergência Mundial”. Apesar de ser uma doença curável, estima-se que 1.5 milhões de óbitos devido à TB ocorreram em 2014, sendo 390.000 mortes entre indivíduos infectados pelo HIV (WHO 2015).

Até 2009, o Ministério da Saúde preconizava um sistema de tratamento para TB composto por Rifampicina (600mg/dia), Isoniazida (400mg/dia) e Pirazinamida (2000mg/dia) por seis meses (Esquema I Básico) para pacientes com peso acima de 45 kg e doses ajustadas para pesos menores. Depois de dois meses de tratamento a Pirazinamida era suspensa. O Etambutol fazia parte do Esquema I reforçado para retratamentos e do Esquema III para falência, o Esquema II durava nove meses e era preconizado para a forma meningoencefálica (Ministério da Saúde 2011c).

A partir de 2009, o Ministério da Saúde introduziu o Etambutol ao Esquema básico na fase intensiva do tratamento, em virtude do aumento da resistência primária à isoniazida. A

maioria dos países utiliza esse sistema de tratamento para adultos e adolescentes, no qual os medicamentos se apresentam em doses fixas combinadas dos quatro fármacos RHZE (150 mg/ 75mg/ 400mg/ 275mg) na fase intensiva e dose fixa combinada RH (150 mg/75 mg) na fase de manutenção. Para as crianças ainda se manteve o Esquema RHZ, mas o Esquema I reforçado e o III não são mais recomendados, havendo o Esquema para a forma meningocéfálica, e de acordo com o perfil de resistência existem o Esquema Padronizado para Multirresistência ou os Esquemas Especiais (Ministério da Saúde 2011c).

A utilização de drogas combinadas para o tratamento da TB está associada a uma variedade de eventos adversos, sendo considerado a hepatotoxicidade o mais grave, que pode levar a uma taxa de mortalidade de até 5% (Tajiri e Shimizu 2008; Tostmann et al. 2008). A apresentação clínica da hepatotoxicidade varia de uma elevação transitória das enzimas hepáticas a uma hepatite fulminante. A hepatotoxicidade é definida pelo aumento da $ALT \geq 2x$ o Limite Superior da Normalidade (LSN) segundo os critérios do *Council of International Organizations of Medical Sciences* (CIOMS) (Teschke et al. 2014) ou, a elevação de três vezes o LSN acompanhado de sintomas e maior que cinco vezes o LSN com ou sem sintomas (Tostmann et al. 2008).

A incidência da toxicidade hepática varia de 2% a 28% (Sharma et al. 2002; Yee et al. 2003), dependendo dos critérios de classificação da hepatotoxicidade, das características populacionais e drogas utilizadas no tratamento. Além das interações medicamentosas, do perfil da expressão gênica de cada indivíduo, há outros fatores que influenciam e podem predispor ao desenvolvimento de tal evento adverso tais como: sexo, idade, o uso de álcool, medicamentos concomitantes, comorbidades e o estado nutricional (Jaeschke et al. 2002; Kaplowitz 2004; Ramappa e Aithal 2013).

A presença da infecção pelo HIV também pode predispor à toxicidade hepática (Ozick et al. 1995; Ungo et al. 1998). O dano hepático pode ser relacionado à própria infecção pelo HIV ou pode resultar de condições como alcoolismo, infecções por hepatites virais e TB hepática, todos esses fatores são consideravelmente prevalentes em pacientes infectados pelo HIV (Rathi et al. 1997).

Estudos indicam que as infecções virais pelo HBV e/ou HIV aumentam o risco do desenvolvimento de tal adversidade, podendo levar à interrupção do tratamento (Patel e Voigt 2002; Wang et al. 2011).

Desde que a tuberculose e infecção pelo HBV podem co-existir em pacientes, estudos sugerem que seja realizado testes de HBV para pacientes com tuberculose. Podendo, dessa

forma, monitorar e adequar o tratamento (Wang et al. 2011). Nesse contexto, a investigação da infecção oculta pelo HBV também se torna necessária nesses pacientes, a fim de monitorar a hepatotoxicidade e outras possíveis implicações clínicas associadas à *OBI*.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a prevalência da infecção oculta pelo vírus da hepatite B e o seu respectivo impacto clínico em pacientes sob tratamento para tuberculose infectados ou não pelo HIV atendidos no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fiocruz, Rio de Janeiro.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar e descrever a frequência do HBV-DNA nos pacientes com anti-HBc como único marcador sorológico acompanhado ou não pelo anti-HBs;
- Descrever a frequência de *OBI* em pacientes com sorologia positiva para anti-HCV;
- Descrever a frequência de *OBI* em pacientes com sorologia positiva para HIV;
- Avaliar os possíveis fatores de risco para *OBI*;
- Analisar a possível associação entre a *OBI* e o desenvolvimento de hepatotoxicidade em pacientes sob tratamento para tuberculose, combinado ou não ao uso de antirretrovirais.

4. RESULTADOS

Esta dissertação foi realizada na forma de redação de artigo. A análise da prevalência de *OBI* e impacto clínico no tratamento da tuberculose estão apresentados no manuscrito intitulado *Occult Hepatitis B Virus Infection: Clinical Implications in Tuberculosis Treatment* submetido ao periódico *Journal of Viral Hepatitis* em 08 de Março de 2016 e classificado como *Original paper*.

5. ORIGINAL ARTICLE



Occult Hepatitis B Virus Infection: Clinical Implications in Tuberculosis Treatment

Journal:	<i>Journal of Viral Hepatitis</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Original Paper
Date Submitted by the Author:	JVH-00116-2016
Complete List of Authors:	Trigo, Carolina; Fundacao Oswaldo Cruz, INI Brasil, Pedro Emmanuel; Fundacao Oswaldo Cruz, INI Costa, Marli; Fundacao Oswaldo Cruz, INI De Castro, Liane; Fundacao Oswaldo Cruz, INI
Keywords:	Drug-Induce liver injury, Hepatitis B virus, Occult Hepatitis B infection, Tuberculosis

Occult Hepatitis B Virus Infection: Clinical Implications in Tuberculosis Treatment

Carolina Trigo¹, Pedro Emmanuel Alvarenga Americano do Brasil², Marli Jane Martins Costa³ Liane de Castro¹.

¹Pharmacogenetics Research Laboratory, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (INI) - Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brazil.

²Intensive Care Clinical Research Laboratory, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (INI) - Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brazil.

³Tuberculosis and Mycobacteria Clinical Research Laboratory, Evandro Chagas National Institute of Infections Diseases (INI), Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brazil.

Running Head: Occult Hepatitis B in Tuberculosis Treatment

Corresponding author: Pharmacogenetics Research Laboratory, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (INI) - Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brazil. Av. Brasil, 4365 – Manguinhos, 21040-360 - Rio de Janeiro – Brazil.

E-mail: liane.castro@ini.fiocruz.br. Phone number: +55 21 3865-9558.

Summary: Occult hepatitis B virus infection (OBI) is characterized by the absence of HBsAg and persistence of the virus genome (HBV-DNA) in liver tissue and/or blood. OBI has been reported in several clinical contexts. However, the clinical significance of OBI in tuberculosis (TB) treatment is unknown. We investigated the OBI prevalence and its impact on the risk for drug-induced liver injury (DILI) during TB treatment. This was a prospective cohort study with one hundred patients who were treated for TB from 2008 to 2015. Laboratorial, clinical and demographic data of TB patients were extracted from medical records. The HBV-DNA assay in blood samples established the OBI prevalence at 12%; almost half of these patients had both anti-HBc and anti-HBs serological markers. Low CD4⁺ cells counts has shown to be a risk factor for OBI among TB patients co-infected with HIV ($p = 0.036$). High DILI incidence was observed in this study. A multivariable Cox proportional hazard model was conducted and identified OBI (HR 2.98, 95% CI 1.30-6.86) as the strongest predictor for DILI when adjusted to CD4⁺ cells (HR 0.38, 95% CI 0.17-0.90); ALT before TB treatment (HR 1.37, 95% CI 0.81-2.32) and TB extrapulmonary clinical form (HR 2.91, 95% CI 1.75-7.21). The main of this study is to highlight DILI as clinical outcome during treatment of TB patients with OBI. Therefore, HBV-DNA test should be consider in clinical routine as strategy to monitoring DILI, and also in other clinical implications associated with OBI, contributing to reduce the morbidity and mortality.

Keywords: Drug-Induce liver injury; Hepatitis B virus; Occult Hepatitis B infection; Tuberculosis

Hepatitis B virus (HBV) infection is a major global health problem (1). Although vaccination programs have been available for many years, it is estimated that about 2 billion individuals are infected with HBV and 240 million are chronically infected. More than 780.000 deaths every year due to complications of HBV including liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma (1).

The persistence of the virus genome (HBV-DNA) in liver tissue and/or blood of individuals with undetectable Hepatitis B surface antigen (HBsAg) characterizes occult hepatitis B virus infection (OBI) (2). OBI usually occurs quickly after resolution of acute hepatitis and continues indefinitely after HBsAg clearance and improvement of biochemical liver function. Sometimes, it can also occur after years of chronic infection with HBsAg-positive (3,4).

The presence of HBV core antigen antibodies (anti-HBc), are now recognized not only as a valuable marker of prior exposure to HBV, but also as a sentinel marker for OBI (4,5). Nevertheless, over 20% of individuals with OBI are negative for all HBV infection serum markers, while either antibody titers become undetectable over time, or seroconversion may never occur. Therefore, the HBV-DNA may become the single marker of HBV infection and it can be detected at low levels (<200IU/mL) (3).

OBI may have an impact in different clinical settings. Exposure to OBI may lead to HBV infection through the following routes: blood transfusions, hemodialysis, and organ transplantation, causing classical forms of hepatitis B in the newly infected individual (6). OBI increases the risk of liver fibrosis progression and the development of hepatocellular carcinoma (HCC) (2). Conditions resulting in immune deficiency, such as chemotherapy or HIV infection, increase the risk of viral reactivation in OBI, leading more severe HBV cases, and increasing the mortality rate up to 20% (2,7).

Tuberculosis (TB) remains a major infectious cause of death in the world. Most TB patients can be successfully treated. However, anti-tuberculosis drug-induced liver injury (DILI) is one of the most serious adverse events (8). Drugs used on TB/HIV treatment are frequently hepatotoxic. The presence of HBV during TB treatment can increase the risk of DILI. Due to this, multi-infection with TB/HIV/HBV increases the morbidity and mortality, since these comorbidities are more complicated and difficult to treat, becoming a challenge for health care and public health (9).

Thereby, could OBI also represent an increased risk for DILI? So far, no previous studies were reported about the OBI prevalence in this TB population. It is known that the OBI prevalence is quite variable depending upon HBV rate in different parts of the world. At Rio de Janeiro, Brazil, high rates of HBV among TB patients (14.6%) and TB-HIV positives patients (35.8%) were described (10). The aim of this investigation was to estimate OBI prevalence and its clinical impact in TB treatment outcome.

Materials and Methods

Designs and settings

This prospective cohort study was conducted at the Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (INI) - Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brazil, a reference center for infectious diseases health care, including TB and TB/HIV co-infection. This investigation was approved by the institutional ethics committee and review board on 22 September 2003, registered at National System of Information about Ethics in Research (SISNEP number. 0013.0.009.000-03).

Patients and Blood Samples

The patient selection was performed sequentially from 2008 to 2015 in medical records. Inclusion criteria were: (a) sputum smear with acid-fast bacilli or culture positive for *Mycobacterium tuberculosis*, (b) test negative for HBsAg with anti-HBc positive, (c) alanine aminotransferase (ALT) tests before and during TB treatment, and (d) signed written consent.

Exclusion criteria were: (a) age < 18 years, (b) pregnancy, (c) less than two visits registered.

Demographic, laboratorial and clinical data were collected from medical records.

All patients were submitted to a standardized clinical protocol in our TB treatment Center, they were routinely monitored for hepatotoxicity independent of suggestive symptoms reported. To determine the alanine transferase (ALT) values, as well as the serological markers for Hepatitis B and Hepatitis C viruses, the bloods samples of the patients were collected at initial visit, follow-up at days 15 and 30, and at least one visit monthly until the end of TB therapy. If considered necessary by the assistant physician, additional blood samples were collected to determine ALT values.

According to the Brazilian Ministry of Health (BMH) recommendation TB treatment until 2010 was rifampicin (R; 600mg/day), isoniazid (H; 400mg/day) and pyrazinamide (Z; 2g/day) for every patient with weight >45kg or adjusted for weight if <45kg. After two months of treatment, Z was discontinued.

In 2010, the Brazilian National Tuberculosis Control Program (NTCP) recommended the implementation of the four-fixed dose combination (RHZE) containing ethambutol (E), reduced doses of H (from 400 to 300mg) and of Z (from 2000 to 1600mg) for two months, followed by four months with isoniazid and rifampicin.

Outcomes

OBI was defined by the presence of HBV-DNA. Regarding DILI, this was defined following the Council of International Organizations of Medical Sciences (CIOMS) as an increase in serum ALT 2-fold ULN ($ALT \geq 42IU/L$) or at least a 2-fold increase in patients with baseline $ALT \geq 84IU/L$, during the TB treatment period. The severity of DILI according to the WHO Toxicity Classification Standards (11).

Blood and DNA sample

Only one single sample was obtained from each patient. The HBV-DNA was extracted from 200 μ L peripheral blood samples collected in an EDTA tube, using the commercially available QIAampDNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) according to the manufacturer's instruction.

Polymerase Chain Reaction (PCR) amplification

All samples were tested in duplicate to detect HBV-DNA using PCR assay for HBV-Core region as previously described (12). The 50 μ L reaction mixtures contained 5 μ L DNA, 0.4mM each primer (F: 5'-CTGTGGAGTTACTCTCGTTTTTGC-3' and R: 5'-CTAACATTGAGATTC CCGAGATTGAGA-3'), 0.2mM dNTPs, 1.5mM MgCl₂ and 2.5units of Platinum TaqDNA polymerase (Invitrogen, Life Technology, Carlsbad, USA).

Temperature cycling was performed in an Eppendorf-Master Cycling-PCR machine with the following conditions: denaturation at 95°C for 5min, followed by 35 cycles at 95°C for 30s, 52°C for 30s, 72°C for 30s and extension at 72°C for 7min. The presence of fragment-size with approximately 500 base-pair was detected on 2.0% agarose gel followed by ethidium bromide staining. The DNA image was digitalized using a transilluminator with a system of image capture L-PIX-ST and L-PIX IMAGE 7.1 M Pixel. Images were captured with the software L-PIX IMAGE 1.0.1 (Loccus Biotecnologia, São Paulo, SP, Brazil) (Figure1).

Risk Factors of Outcomes

The possible risk factors evaluated of OBI were: anti-HIV, anti-HBs and anti-HCV; highly active antiretroviral treatment (HAART) based-lamivudine; viral load and CD4⁺ cells counts; baseline ALT; sexual preference; multiple sexual partners, “yes” if two or more partners in one year and “no” otherwise; blood transfusion and drugs users.

The main possible risk factors evaluated for the DILI were, sex, age, gender, ethnicity, classified as white, black and mixed according to personal report; TB-clinical form, defined as pulmonary, extra-pulmonary and disseminated (defined as having two or more noncontiguous sites resulting from lymphohematogenous dissemination of *Mycobacterium tuberculosis*). Type of treatment of tuberculosis (RHZ; RHZE), HIV and HCV co-infections based on positive serology; HAART use; viral load and CD4⁺ cells counts; baseline ALT, tobacco use, defined as current use reported by the patient and alcohol use defined by a positive CAGE questionnaire (13).

Data analysis

The continuous variables were described by median and interquartile range (IQR, 25th to 75th percentile). Relative risk (RR) and its 95% confidence interval (CI) were calculated. The OBI prevalence and confidence interval was estimated in each group and in the whole sample. The CD4⁺ and HIV viral load were imputed with normal values for HIV uninfected subjects and for missing data zero value (negative) was imputed for modeling purposes. A multivariable Cox proportional hazard model was conducted to identify DILI predictors during TB treatment. Several potential predictors were progressively inserted in the model and tested with Wald statistics. Those with significance with 0.05 or less were retained. After, a model with seven predictors (OBI, age, HIV, CD4⁺, HAART, ALT and TB-clinical form) was bootstrapped 2000 times to estimate the optimism and to remove the noisy variables. The variables not retained at least 1000 times were removed of the final model. Then, the model

was penalized with lasso predictor-corrector method. The penalized model was checked for proportionality and linearity. Performance was checked with c index and the corresponding generalization of Somers' Dxy rank correlation for a censored response variable. All the statistical analysis were conducted with R version 3.2.2 (14).

Results

Patients Characteristics

This study included 858 TB patients, among this 100 were in agreement with inclusion criteria. The majority were males (79.0%). The age ranged from 20 to 82 years, with a mean and standard deviation of 43.4 ± 10.3 years. The predominant ethnicity was white (43.0%). Regarding the education level, 59.0% had middle school or less (completed or not). Eighty percent received up to three minimum wages. Forty-six patients (46.0%) were alcohol users. Thirty-three (33.0 %) were smokers. The TB-clinical form most frequent was the pulmonary (62.0%), followed by disseminated (25.0%) and extrapulmonary (13.0%).

Serological markers revealed that 33.0% were isolated anti-HBc positive and 67.0% were anti-HBc and anti-HBs positives simultaneously. Seventy (70.0%) were co-infected with HIV. Not all patients had serological results for HCV, and 13/97 individuals (13.4%) were positive for anti-HCV (Table 1).

Prevalence and risk factors of OBI

HBV-DNA was detected in 12.0% of blood samples. Among them, 7/12 (58.0%) were isolated anti-HBc positive and 5/12 (41.7%) were anti-HBc and anti-HBs positive.

Among TB patients co-infected with HIV, 8/9 patients were under lamivudine-based HAART and one was HAART naïve. The CD4⁺ cells counts were lower in patients with OBI (median of 46.5 CD4⁺ cells/ μ L) in comparison to those without OBI (median of 206 CD4⁺ cells/ μ L) ($p = 0.016$). In fact, analyzing all patients with CD4⁺ ≤ 50 cells/ μ L, 62.5% of

them were with OBI, compared to 15.0% without OBI ($p = 0.036$). Concerning all other analyzed characteristics, there was no statically significant difference between patients with or without OBI (Table 1).

Incidence and Risk factors of DILI

Concerning DILI, the incidence found was 41.0%. Between patients that developed DILI, 19.5% (8/41) was with OBI. A high frequency was observed in the first 30 days of TB treatment. The majority of them, 20/41 (48.8%) presented hepatotoxicity grade1. All patients with grade3 or 4 developed DILI at the intensive phase of TB treatment (Table 2 and figure 2).

Among six patients with grade3, four (66.6%) reported symptoms such as nausea, vomiting, diarrhea and epigastric discomfort, of them three patients also had increased direct bilirubin which confirms the hepatotoxicity. Regarding treatment, two individuals had the TB therapy discontinued and one with modification of treatment regimen, another one did not have the therapy discontinued. Two patients did not present symptoms. Concerning patients with grade4, all of them had the TB treatment interrupted including one with ALT above 2000 IU/L, resulting in hospitalization.

Univariate analysis indicated an increased risk for DILI in patients with disseminated-TB clinical form, HIV and OBI (Table 3).

The adjusted survival demonstrated that the risk of this event occur increases significantly with the presence of OBI when compared to patients where OBI absent (Figure 2). The survival model was adjusted for several potential predictors retaining the following characteristics at the end: CD4⁺ cells counts; baseline ALT; OBI and TB clinical form. After adjustment, OBI (HR 2.98) was the strongest predictor for DILI (Figure 3).

Discussion

Occult hepatitis B infection had been studied in restricted scenarios, including HCC, chronic HCV and HIV infection, blood donors, hemodialysis patients, healthy carriers and special high-risk patients (6). However, have no knowledge about clinical impact of OBI among TB treatment.

Several studies have demonstrated that OBI prevalence depends on a number of factors that include the HBV infection endemicity, being OBI rate directly proportional with HBV presence (2,15). High HBV rates among TB patients (14.6%) and HIV co-infection were described (10) at Rio de Janeiro, southeast region of Brazil, although this is classified as low HBV endemicity area (16). In fact, the OBI prevalence (12.0%) found in this study was proportional to HBV infection rate. Our results corroborates with the OBI prevalence described among TB patients (14.4%) in another low HBV endemic area at Brazil (17).

A variety of studies showed a higher OBI prevalence most frequently among anti-HBc isolated individuals than in patients anti-HBc with anti-HBs positives (3). In contrast, our findings had no HBV-DNA prevalence difference between these two serological groups. OBI may occur in patients with anti-HBc/anti-HBs because HBV mutants with changed surface antigens are able to escape the neutralization by anti-HBs (18).

OBI has been reported as a common infection in HCV patients (19). In our study HBV-DNA was detected in only one (8.3%) anti-HCV patients. It is according with Sagnelli review, that reported no significant difference in the OBI rate among HCV positive patients (7).

Concerning OBI in TB-HIV co-infected patients, it was detected in nine patients. The majority of studies regarding the clinical impacts of OBI in HIV patients, include on anti-HBV drugs, such as lamivudine-based HAART (20). In agreement, most of patients here included were using this treatment. Our finding suggests that major limitation of this therapy

is the HBV resistance mutations selection allowing continued HBV low replication. It was noticed that long-term treatment with lamivudine increases the HBV resistance frequency more than 40% after 2 years, to over 50% and 70% after 3/4 years (21,22). Consequently, OBI identification and adequate monitoring may be beneficial for these patients.

Interestingly, in this study a relationship between $CD4^+ \leq 50$ cells/ μ L counts and OBI was observed, suggesting that the cellular immune deficiency in HIV infection requires attention. Subsequently, the immunosuppression is a risk factor for the occurrence of HBV reactivation (3,7). Besides $CD4^+$ cells, no other significant determinant for OBI was found.

The OBI as a DILI potential predictor in patients under TB treatment revealed the most striking result in this study. For our knowledge this is the first time that the OBI clinical implication was analyzed in TB treatment. It was expected, once studies have shown the association between DILI and active HBV infection (23, 24,28).

Our study showed that DILI occurred in 41.0% of TB patients. As reported in previous studies (24,25), most patients developed DILI within 30 days. The time period where DILI most normally occur varies and ranges from seven first days to sixty days (24). These data shows that DILI frequently occur in intensive phase of TB treatment. Concerning the DILI grade, the majority TB patients of this study presented grade 1 (ALT 2.5-fold ULN) including OBI patients. WHO and the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease guidelines have some minor variations in the intervention for DILI. In general, advice is to stop all anti-TB drugs when elevation in ALT raised 3-fold ULN with symptoms or ALT 5-fold ULN, although severe DILI is rare (26). In fact, among four patients who presented grade3 of DILI with symptoms, two had the TB therapy discontinued. However the TB treatment regime of one patient was modified because of his severe clinical status. Another one did not have the treatment discontinued due the ALT level normalization in the following clinical visit.

Despite the guidelines for TB treatment, we can't forget that each one of these patients should be evaluated at the moment of event hepatotoxicity and their clinical conditions must be considered to follow the recommendations.

Our findings showed that OBI was present among one patient with symptoms and another without symptoms related with grade3 of DILI. Corroborating with the majority of studies that suggest low HBV-DNA levels in OBI cases associated with hepatic injury (27). Evaluation of long term OBI clinical significance should be better addressed by follow-up studies in TB patients co-infected or not with HIV.

A higher proportion of TB patients with extrapulmonary or disseminated developed DILI, similar results was reported in recent studies (24,28). Higher baseline-ALT increases DILI risk, this finding agree with previous studies (24,28). In the present study, another DILI predictor found was CD4⁺ cells counts. It was observed that lower CD4⁺ cells counts increase DILI risk, corroborating with another study (29). Highlighting the importance of earlier DILI detection to decrease mortality and severe hepatotoxicity (30,31).

The study limitation was a small sample size. Although, there are large pools of TB patients, the most anti-HBc data were unavailable in medical records. Nevertheless a little less of precision than originally desired the analyses showed the adequate statistical power. It was demonstrated by associations found in this study, such as predictor for OBI outcome, for both median of CD4⁺ cells/ μ L counts ($p = 0.016$) and for CD4⁺ ≤ 50 cells/ μ L with p-value significant ($p = 0.036$). Concerning the outcome DILI, the multivariate analysis showed some predictors and the greatest interest predictor that was OBI as a risk increased for hepatotoxicity (HR-2.98).

In conclusion, a high OBI prevalence among TB patients suggests screening for HBV-DNA. Moreover, our finding revealed OBI as an important DILI predictor, requiring the

HBV-DNA in clinical routine during TB treatment, especially in TB/HIV/OBI co-infected patients to contribute in clinical decision-making.

Acknowledgements

The authors thank the medical, technical and nursing staff of Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (INI) for their support, and L. S. Rosadas for technical assistance. We sincerely thank all patients for their participation in this study. We also thank P.C. Monteiro for English-language revision. This work was supported by grants from the Foundation for Research Support of Rio de Janeiro State (FAPERJ).

Conflicts of interest

The authors declare there are no conflicts of interest.

Authors' contributions

The work presented here was carried out in collaboration between all authors. Liane de Castro defined the research theme. Liane de Castro and Pedro E.A.A. do Brasil designed methods and experiments. Carolina Trigo Pereira carried out the laboratory experiments, analyzed the molecular data and collected clinical data. Marli J. M. Costa was the physician that treated the patients and obtained a patient's written informed consent. All authors worked on patient's data collection and interpreted the results and wrote the paper. All authors have contributed to, seen and approved the manuscript.

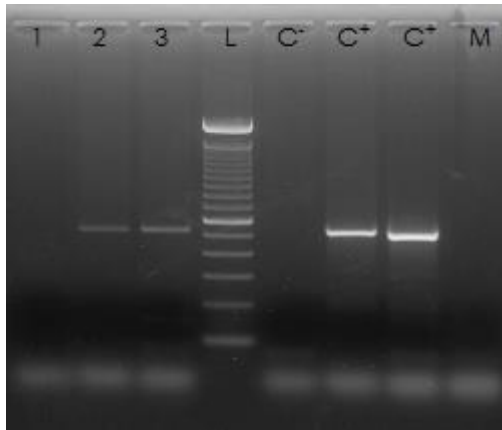
References

1. WHO | Hepatitis B [Internet]. WHO. [cited 2016 Feb 11]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>
2. Raimondo G, Caccamo G, Filomia R, Pollicino T. Occult HBV infection. *Semin Immunopathol*. 2013 Jan;35(1):39–52.
3. Zobeiri M, Zobeiri M. Occult Hepatitis B: Clinical Viewpoint and Management, Occult Hepatitis B: Clinical Viewpoint and Management. *Hepat Res Treat Hepat Res Treat*. 2013 Mar 4;2013, 2013:e259148.
4. Mulrooney-Cousins PM, Michalak TI. Persistent occult hepatitis B virus infection: experimental findings and clinical implications. *World J Gastroenterol*. 2007 Nov 21;13(43):5682–6.
5. Vitale F, Tramuto F, Orlando A, et al. Can the serological status of anti-HBc alone be considered a sentinel marker for detection of occult HBV infection? *J Med Virol*. 2008 Apr;80(4):577–82.
6. Alavian SM, Miri SM, Hollinger FB, Jazayeri SM. Occult Hepatitis B (OBH) in Clinical Settings. *Hepat Mon*. 2012 Aug;12(8):e6126.
7. Sagnelli E, Pisaturo M, Martini S, Filippini P, Sagnelli C, Coppola N. Clinical impact of occult hepatitis B virus infection in immunosuppressed patients. *World J Hepatol*. 2014 Jun 27;6(6):384–93.
8. Yee D, Valiquette C, Pelletier M, Parisien I, Rocher I, Menzies D. Incidence of serious side effects from first-line antituberculosis drugs among patients treated for active tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Jun 1;167(11):1472–7.
9. Mo P, Zhu Q, Teter C, et al. Prevalence, drug-induced hepatotoxicity, and mortality among patients multi-infected with HIV, tuberculosis, and hepatitis virus. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis*. 2014 Nov;28:95–100.
10. Blal CA, Passos SRL, Horn C, et al. High prevalence of hepatitis B virus infection among tuberculosis patients with and without HIV in Rio de Janeiro, Brazil. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. 2005 Jan;24(1):41–3.
11. Tostmann A, Boeree MJ, Aarnoutse RE, de Lange WCM, van der Ven AJAM, Dekhuijzen R. Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: concise up-to-date review. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008 Feb;23(2):192–202.
12. Niel C, Moraes MT, Gaspar AM, Yoshida CF, Gomes SA. Genetic diversity of hepatitis B virus strains isolated in Rio de Janeiro, Brazil. *J Med Virol*. 1994 Oct;44(2):180–6.
13. Masur J, Monteiro MG. Validation of the “CAGE” alcoholism screening test in a Brazilian psychiatric inpatient hospital setting. *Braz J Med Biol Res Rev Bras Pesqui Médicas E Biológicas Soc Bras Biofísica Al*. 1983 Oct;16(3):215–8.

14. R: The R Project for Statistical Computing [Internet]. [cited 2016 Feb 21]. Available from: <https://www.r-project.org/>
15. Kwak M-S, Kim YJ. Occult hepatitis B virus infection. *World J Hepatol.* 2014 Dec 27;6(12):860–9.
16. Pinkbook | Hepatitis B | Epidemiology of Vaccine Preventable Diseases | CDC [Internet]. [cited 2016 Feb 12]. Available from: <http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/hepb.html>
17. Aires RS, Matos M a. D, Lopes CLR, et al. Prevalence of hepatitis B virus infection among tuberculosis patients with or without HIV in Goiânia City, Brazil. *J Clin Virol.* 2012 Aug 1;54(4):327–31.
18. Zheng X, Weinberger KM, Gehrke R, et al. Mutant hepatitis B virus surface antigens (HBsAg) are immunogenic but may have a changed specificity. *Virology.* 2004 Nov 24;329(2):454–64.
19. Coppola N, Onorato L, Pisaturo M, et al. Role of occult hepatitis B virus infection in chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol.* 2015 Nov 14;21(42):11931–40.
20. Opaleye OO, Oluremi AS, Atiba AB, et al. Occult Hepatitis B Virus Infection among HIV Positive Patients in Nigeria, Occult Hepatitis B Virus Infection among HIV Positive Patients in Nigeria. *J Trop Med J Trop Med.* 2014 Apr 24;2014:e796121.
21. He M, Wu Y, Wang M, Chen W, Yuan W, Jiang J. The Clinical Value of Oxymatrine in Preventing Lamivudine Induced YMDD Mutation: A Meta-Analysis. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM.* 2015;2015:971616.
22. Muharram N, Badran H, Abdel Hamid A, El-Sebaei H, El-Shafie M, El-Ghobashi Y. Detection of the YMDD mutation responsible for lamivudine resistance in chronic hepatitis B virus-infected patients. *Menoufia Med J.* 2014;27(4):809.
23. Wang J-Y, Liu C-H, Hu F-C, et al. Risk factors of hepatitis during anti-tuberculous treatment and implications of hepatitis virus load. *J Infect.* 2011 Jun;62(6):448–55.
24. Lee CM, Lee SS, Lee JM, et al. Early monitoring for detection of antituberculous drug-induced hepatotoxicity. *Korean J Intern Med.* 2016 Jan;31(1):65–72.
25. Zaverucha-do-Valle C, Monteiro SP, El-Jaick KB, et al. The role of cigarette smoking and liver enzymes polymorphisms in anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in Brazilian patients. *Tuberc Edinb Scotl.* 2014 May;94(3):299–305.
26. WHO | Guidelines for treatment of tuberculosis [Internet]. [cited 2016 Feb 21]. Available from: <http://www.who.int/tb/publications/2010/9789241547833/en/>
27. Knöll A, Hartmann A, Hamoshi H, Weislmaier K, Jilg W. Serological pattern “anti-HBc alone”: characterization of 552 individuals and clinical significance. *World J Gastroenterol.* 2006 Feb 28;12(8):1255–60.

28. de Castro L, do Brasil PE a. A, Monteiro TP, Rolla VC. Can hepatitis B virus infection predict tuberculosis treatment liver toxicity? Development of a preliminary prediction rule. *Int J Tuberc Lung Dis Off J Int Union Tuberc Lung Dis*. 2010 Mar;14(3):332–40.
29. Yimer G, Aderaye G, Amogne W, et al. Anti-Tuberculosis Therapy-Induced Hepatotoxicity among Ethiopian HIV-Positive and Negative Patients. *PLoS ONE* [Internet]. 2008 Mar 19 [cited 2016 Feb 20];3(3). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2265547/>
30. Agal S, Baijal R, Pramanik S, et al. Monitoring and management of antituberculosis drug induced hepatotoxicity. *J Gastroenterol Hepatol*. 2005 Nov;20(11):1745–52.
31. McNeill L, Allen M, Estrada C, Cook P. Pyrazinamide and rifampin vs isoniazid for the treatment of latent tuberculosis: improved completion rates but more hepatotoxicity. *Chest*. 2003 Jan;123(1):102–6.

Figure 1: PCR for detection of HBV DNA in anti-HBc positive patients



Representative agarose gel electrophoresis of PCR products. Lane 1, negative sample; Lanes 2 and 3 HBV-DNA positive sample. L: molecular weight size marker (100bp); C-: Negative control; C+: positive controls from blood and serum, respectively; M: PCR Mix control.

Table 1: Baseline characteristics risk and crude risk ratios for occult HBV infection

Variables	Absent (n=88)	Present (n=12)	Total (n=100)	OBI Risk	RR	95% confidence limits
Sex						
Female	19 (21.6)	2 (16.7)	21 (21)	0.1	1.00	-
Male	69 (78.4)	10 (83.3)	79 (79)	0.13	1.33	0.31-5.61
Ethnicity						
White	37 (42)	6 (50)	43 (43)	0.14	1.00	-
Black	27 (30.7)	1 (8.3)	28 (28)	0.04	0.26	0.03-2.01
Mixed	24 (27.3)	5 (41.7)	29 (29)	0.17	1.24	0.42-3.67
Age						
20-34	24 (27.3)	1 (8.3)	25(25)	0.04	1.00	-
35-49	40 (45.5)	8 (66.7)	48(48)	0.17	4.17	0.55-31.47
≥50	24 (27.3)	3 (25)	27(27)	0.11	2.78	0.31-24.99
Anti-HBs						
Negative	26 (29.5)	7 (58.3)	33 (33)	0.19	1.00	-
Positive	62 (70.5)	5 (41.7)	67 (67)	0.07	0.4	0.13-1.21
Anti-HCV						
Negative	73 (83)	11 (91.7)	84 (84)	0.13	1.00	-
Positive	12 (13.6)	1 (8.3)	13 (13)	0.08	0.59	0.08-4.18
NA	3 (3.4)	0 (0)	3 (3)	-	-	-
Anti-HIV						
Negative	27 (30.7)	3 (25)	30 (30)	0.1	1.00	-
Positive	61 (69.3)	9 (75)	70 (70)	0.13	1.3	0.38-4.48
HIV viral load (copies/mL)						
<1000	24 (39.3)	1 (11.1)	25 (35.7)	0.04	1.00	-
1000- 10000	10 (16.4)	1 (11.1)	11 (15.7)	0.09	2.27	0.16-33.13
>10000	25 (41.0)	6 (66.7)	31 (44.3)	0.19	4.84	0.62-37.6
NA	2 (3.3)	1 (11.1)	3 (4.3)	-	-	-
CD4⁺ (cells/μL)						
<200	29 (47.5)	7 (77.8)	36 (51.4)	0.19	1.00	-
200-350	14 (23.0)	0 (0)	14 (20.0)	0	0	-
>350	16 (26.2)	1 (11.1)	17 (24.3)	0.06	0.3	0.04-2.27
NA	2 (3.3)	1 (11.1)	3 (4.3)	-	-	-
HAART						
Without lamivudine	4 (6.6)	1 (11.1)	5 (7.1)	0.2	1.00	-
With lamivudine	57 (93.4)	8 (88.9)	65 (92.9)	0.12	0.62	0.09-3.99
Baseline ALT (IU/L)						
0-44	64 (72.7)	11 (91.7)	75 (75)	0.15	1.00	-
44-99	19 (21.6)	1 (8.3)	20 (20)	0.05	0.34	0.05-2.49
100-149	3 (3.4)	0 (0)	3 (3)	-	-	-
≥150	2 (2.3)	0 (0)	2 (2)	-	-	-
Alcohol user						
No	45 (51.1)	5 (41.7)	50 (50)	0.1	1.00	-
Yes	24 (27.3)	6 (50)	30 (30)	0.2	2.00	0.67-5.99
Abuse	16 (18.2)	0 (0)	16 (16)	-	-	-
NA	3 (3.4)	1 (8.3)	4 (4)	-	-	-
Tobacco user						
No	57 (64.8)	8 (66.7)	65 (65)	0.12	1.00	-
Yes	30 (34.1)	3 (25)	33 (33)	0.09	0.74	0.21-2.6
NA	1 (1.1)	1 (8.3)	2 (2)	-	-	-
Family income						
0-3 minimum wages	70 (79.5)	10 (83.3)	80 (80)	0.12	1.00	-
>3 minimum wages	13 (14.8)	0 (0)	13 (13)	-	-	-
NA	5 (5.7)	2 (16.7)	7 (7)	0.29	2.29	0.62-8.45
Education						
Middle school or less	52 (59.1)	7 (58.3)	59 (59)	0.12	1.00	-
High school or higher	36 (40.9)	5 (41.7)	41 (41)	0.12	1.03	0.95-3.02

Marital status						
Single	65 (73.9)	11 (91.7)	76 (76)	0.14	1.00	-
Married	23 (26.1)	1 (8.3)	24 (24)	0.04	0.29	0.04-2.12
Sexual preference						
Heterosexual	48 (54.5)	5 (41.7)	53 (53)	0.09	1.00	-
Homo or bisexual	32 (36.4)	6 (50)	38 (38)	0.16	1.67	0.55-5.09
NA	8 (9.1)	1 (8.3)	9 (9)	-	-	-
Multiple sexual partners						
No	50 (56.8)	6 (50)	56 (56)	0.11	1.00	-
Yes	23 (26.1)	4 (33.3)	27 (27)	0.15	1.38	0.43-4.49
NA	15 (17)	2 (16.7)	17 (17)	-	-	-
Injecting drug user						
No	77 (87.5)	10 (83.3)	87 (87)	0.11	1.00	-
NA	11 (12.5)	2 (16.7)	13 (13)	-	-	-
Blood transfusion						
No	68 (77.3)	8 (66.7)	76 (76)	0.11	1.00	-
Yes	17 (19.3)	3 (25)	20 (20)	0.15	1.43	0.42-4.89
NA	3 (3.4)	1 (8.3)	4 (4)	-	-	-
TB form						
Pulmonary	55 (62.5)	7 (58.3)	62 (62)	0.11	1.00	-
Disseminated	22 (25)	3 (25)	25 (25)	0.12	1.06	0.3-3.79
Extrapulmonary	11 (12.5)	2 (16.7)	13 (13)	0.15	1.36	0.32-5.83

RR = risk ratio; OBI = occult hepatitis B infection; HIV = human immunodeficiency virus; anti-HBc = hepatitis B core antigen antibodies; anti-HBs = hepatitis B surface antibodies; anti-HCV = hepatitis C virus; ALT= alanine aminotransferase; HAART = highly active antiretroviral treatment; TB = tuberculosis, NA= not assigned.

Table 2: Frequency of hepatotoxicity according to Grade and onset

		N (frequency %)
Grade of hepatotoxicity	1	20 (48.8)
	2	13 (31.7)
	3	6 (14.6)
	4	2 (4.9)
Onset of hepatotoxicity	0-30 days	25 (61.0)
	30-60 days	7 (17.0)
	>60 days	9 (22.0)

Grade of hepatotoxicity was defined according to the World Health Organization (WHO) Toxicity Classification Standards (11). Grade 1 (mild) represents an increase as high as 2.5 times over the upper limit of alanine aminotransferase (ALT) levels (ALT 51-125 U/L). Grade 2 (mild) represents an increase between 2.5 and 5 times over the upper limit of alanine aminotransferase (ALT) levels (ALT 126-250 U/L). Grade 3 (moderate) represents an increase between 5 and 10 times over the upper limit of alanine aminotransferase (ALT) levels (ALT 251-500 U/L) and Grade 4 (severe) represents an increase higher than 10 times over the upper limit of alanine aminotransferase (ALT) levels (ALT > 500 U/L).

Table 3: Baseline characteristics risks, and crude risk ratios for DILI

Variables	Absent (n=59)	Present (n=41)	Total (n=100)	DIH Risk	RR	95% confidence limits
Sex						
Female	13 (22)	8 (19.5)	21 (21)	0.38	1.00	-
Male	46 (78)	33 (80.5)	79 (79)	0.42	1.1	0.6-2.01
Ethnicity						
White	25 (42.4)	18 (43.9)	43 (43)	0.42	1.00	-
Black	18 (30.5)	10 (24.4)	28 (28)	0.36	0.85	0.46-1.57
Mixed	16 (27.1)	13 (31.7)	29 (29)	0.45	1.07	0.63-1.83
Age						
20-34	17 (28.8)	8 (19.5)	25 (25)	0.32	1.00	-
35-49	24 (40.7)	24 (58.5)	48 (48)	0.5	1.56	0.83-2.96
≥50	18 (30.5)	9 (22)	27 (27)	0.33	1.04	0.48-2.28
TB Treatment						
RHZE	40 (67.8)	27 (65.9)	67 (67)	0.4	1.00	-
RHZ	13 (22)	14 (34.1)	27 (27)	0.52	1.29	0.81-2.05
Others	6 (10.2)	0 (0)	6 (6)	-	-	-
Anti-HBs						
Negative	18 (30.5)	15 (36.6)	33 (33)	0.44	1.00	-
Positive	41 (69.5)	26 (63.4)	67 (67)	0.39	0.89	0.54-1.45
Anti-HCV						
Negative	49 (83.1)	35 (85.4)	84 (84)	0.42	1.00	-
Positive	8 (13.6)	5 (12.2)	13 (13)	0.38	0.92	0.44-1.92
NA	2 (3.4)	1 (2.4)	3 (3)	-	-	-
Anti-HIV						
Negative	25 (42.4)	6 (14.6)	31 (31)	0.2	1.00	-
Positive	34 (57.6)	35 (85.4)	70 (70)	0.51	2.54	1.2-5.38
OBI						
Absent	55 (93.2)	33 (80.5)	88 (88)	0.38	1.00	-
Present	4 (6.8)	8 (19.5)	12 (12)	0.67	1.78	1.1-2.88
HIV viral load (copies/mL)						
<1000	13 (39.4)	12 (35.3)	25 (37.3)	0.48	1.00	-
1000- 10000	6 (18.2)	5 (14.7)	11 (16.4)	0.45	0.95	0.44-2.04
>10000	14 (42.4)	17 (50)	31 (46.3)	0.55	1.14	0.68-1.92
CD4+ (cells/μL)						
<200	14 (42.4)	22 (64.7)	36 (53.7)	0.59	1.00	-
200-350	8 (24.2)	6 (17.6)	14 (20.9)	0.43	0.72	0.37-1.40
>350	11 (33.3)	6 (17.6)	17 (25.4)	0.35	0.59	0.30-1.19
HAART						
Without lamivudine	4 (11.4)	1 (2.9)	5 (7.1)	0.25	1.00	1.00
With lamivudine	31 (88.6)	34 (97.1)	65 (92.9)	0.52	2.09	0.38-11.61
Baseline ALT (IU/L)						
0-44	42 (71.2)	33 (80.5)	75 (75)	0.44	1.00	-
44-99	13 (22)	7 (17.1)	20 (20)	0.35	0.8	0.42-1.52
100-149	2 (3.4)	1 (2.4)	3 (3)	0.33	0.76	0.15-3.83
≥150	2 (3.4)	0 (0)	2 (2)	-	-	-
Alcohol user						
No	30 (50.8)	20 (48.8)	50 (50)	0.4	1.00	-
Yes	18 (30.5)	12 (29.3)	30 (30)	0.4	1.00	0.57-1.74
Abuse	10 (16.9)	6 (14.6)	16 (16)	0.38	0.94	0.46-1.92
NA	1 (1.7)	3 (7.3)	4 (4)	-	-	-
Tobacco user						
No	38 (64.4)	27 (65.9)	65 (65)	0.42	1.00	-
Yes	21 (35.6)	12 (29.3)	33 (33)	0.36	0.88	0.51-1.5
NA	0 (0)	2 (4.9)	2 (2)	-	-	-
Family income						
0-3 minimum wages	48 (81.4)	32 (78)	80 (80)	0.4	1.00	-
>3 minimum wages	8 (13.6)	5 (12.2)	13 (13)	0.38	0.96	0.46-2.01
NA	3 (5.1)	4 (9.8)	7 (7)	-	-	-
Education						
Middle school or less	37 (62.7)	22 (53.7)	59 (59)	0.37	1.00	-
High school or higher	22 (37.3)	19 (46.3)	41 (41)	0.46	1.24	0.78-1.98

Marital status						
Single	43 (72.9)	33 (80.5)	76 (76)	0.43	1.00	-
Married	16 (27.1)	8 (19.5)	24 (24)	0.33	0.77	0.41-1.43
Sexual preference						
Heterosexual	36 (61)	17 (41.5)	53 (53)	0.32	1.00	-
Homo or bisexual	19 (32.2)	19 (46.3)	38 (38)	0.5	1.56	0.94-2.58
NA	4 (6.8)	5 (12.2)	9 (9)	-	-	-
Multiple sexual partners						
No	37 (62.7)	19 (46.3)	56 (56)	0.34	1.00	-
Yes	14 (23.7)	13 (31.7)	27 (27)	0.48	1.42	0.83-2.42
NA	8 (13.6)	9 (22)	17 (17)	-	-	-
Injecting drug user						
No	54 (91.5)	33 (80.5)	87 (87)	0.38	1.00	-
NA	5 (8.5)	8 (19.5)	13 (13)	-	-	-
Blood transfusion						
No	43 (72.9)	33 (80.5)	76 (76)	0.43	1.00	-
Yes	14 (23.7)	6 (14.6)	20 (20)	0.3	0.69	0.34-1.42
NA	2 (3.4)	2 (4.9)	4 (4)	-	-	-
TB form						
Pulmonary	43 (72.9)	19 (46.3)	62 (62)	0.31	1.00	-
Disseminated	10 (16.9)	15 (36.6)	25 (25)	0.6	1.96	1.2-3.2
Extrapulmonary	6 (10.2)	7 (17.1)	13 (13)	0.54	1.76	0.94-3.29

RR = risk ratio; OBI= occult hepatitis B infection; HIV = human immunodeficiency virus; anti-HBc = hepatitis B core antigen antibodies; anti-HBs = hepatitis B surface antibodies; anti-HCV = hepatitis C virus; ALT= alanine aminotransferase; HAART = highly active antiretroviral treatment; TB = tuberculosis, NA= not assigned.

Figure 2: Adjusted survival probability for liver toxicity regarding patients with or without OBI, plotted using the Kaplan-Meier method

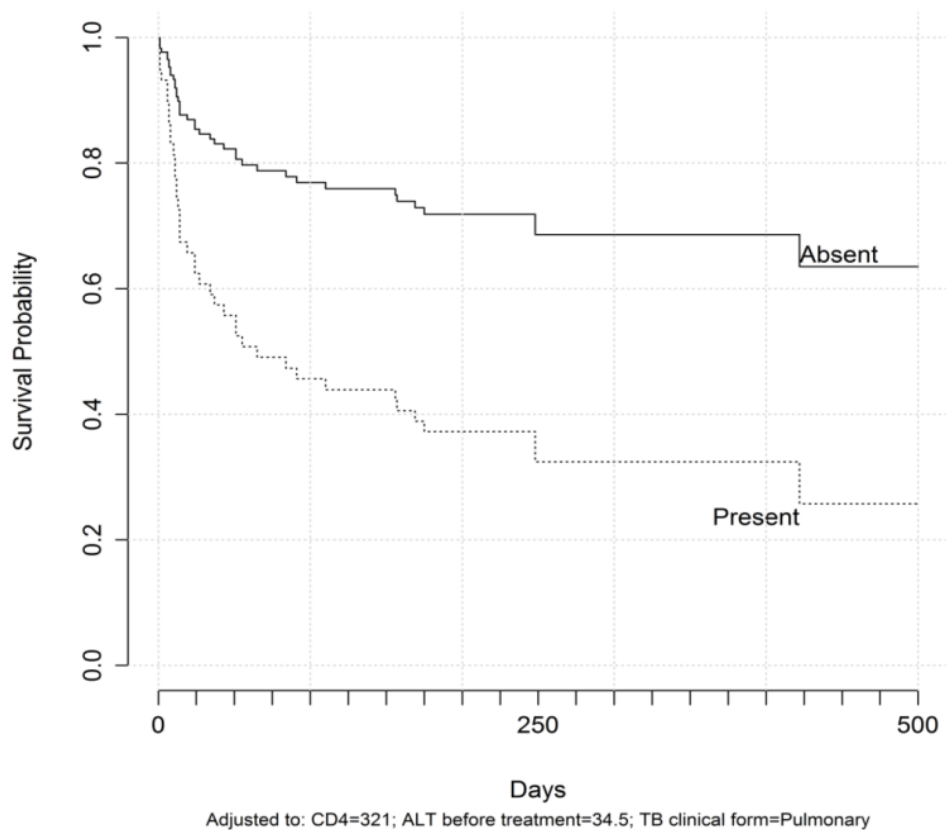
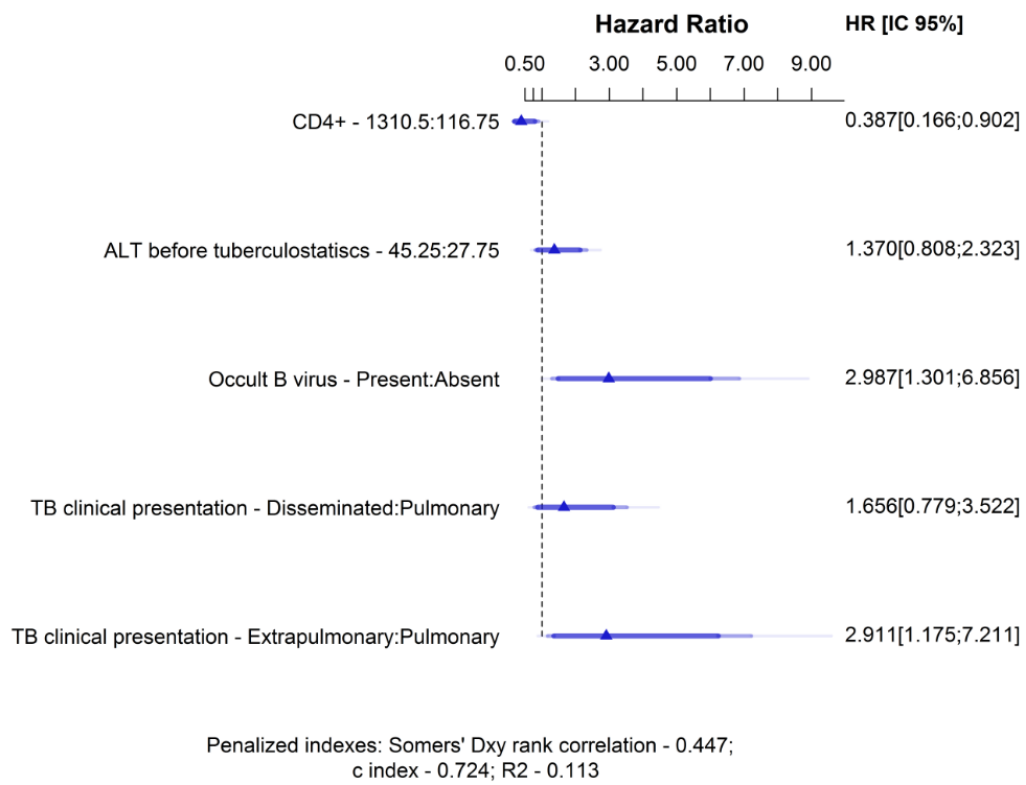


Figure 3: Hazard ratio of predictors of liver toxicity



6. CONCLUSÕES

1. Pacientes com TB co-infectados ou não pelo HIV apresentaram uma alta prevalência de OBI (12.0%);
2. A detecção do HBV-DNA deve ser realizada em indivíduos com anti-HBc e anticorpos neutralizantes;
3. A prevalência de OBI foi tão alta quanto a de HBV descrita previamente na mesma população (14.6%);
4. Baixa taxa de OBI entre pacientes com sorologia positiva para anti-HCV;
5. A presença da OBI em pacientes co-infectados pelo HIV sugere resistência à lamivudina, demonstrando a importância do rastreamento de HBV-DNA possibilitando o acompanhamento adequado desses pacientes para evitar as possíveis complicações clínicas atribuídas à OBI;
6. Pacientes com AIDS e contagem de células CD4+ inferior a 50 células/ μ L devem ser testados para OBI;
7. A taxa de hepatotoxicidade continua elevada mesmo com a introdução do novo regime RIPE;
8. Este é o primeiro estudo que descreve a necessidade da testagem para OBI com intuito de evitar a hepatotoxicidade em pacientes sob tratamento para tuberculose que foram expostos ao HBV;
9. Os resultados desse estudo apontam a importância da implantação do diagnóstico da OBI na rotina clínica para pacientes que serão submetidos ao tratamento da tuberculose infectados ou não pelo HIV.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo realizado teve como objetivo investigar a frequência de *OBI* em pacientes com tuberculose co-infectados ou não pelo HIV e o impacto clínico durante o tratamento. Para atingi-lo foi realizada a técnica de “reação em cadeia da polimerase” (PCR) para amostras de sangue total, uma vez que amostras de soro não estavam disponíveis. Essa opção se mostrou favorável, provando ser factível sua implementação na rotina clínica.

Na literatura são descritos casos de *OBI* em doadores de sangue, pacientes submetidos à hemodiálise ou transplante, indivíduos portadores do HCV. Ressaltando, a possibilidade de reativação viral em imunocomprometidos como os pacientes com sorologia positiva para o HIV, e ainda, o possível papel da *OBI* na progressão e agravamento de algumas hepatopatias como o HCC. A elevada prevalência de *OBI* encontrada no presente estudo revela que apesar das crescentes publicações demonstrando a existência desse tipo de infecção bem como sua associação a diversas complicações clínicas, ainda não existe no Brasil uma conscientização dos profissionais de saúde e nem dos órgãos públicos quanto à necessidade de rastreamento do HBV-DNA.

Ficou evidente com o nosso estudo que os pacientes com TB constituem uma população vulnerável à infecção pelo HBV. Ainda é um desafio em nosso país a propagação da informação quanto às vias de transmissão e prevenção para a hepatite B. Logo, deveria ocorrer a promoção e educação em saúde, através de campanhas incisivas e elucidativas sobre a importância da hepatite B e principalmente da *OBI*, a fim de tentar evitar os desfechos clínicos associados a essa infecção.

A hepatite B é uma das doenças infecciosas mais prevalentes no mundo, e está sendo controlada em países onde a vacinação foi implantada. A provável explicação para a alta endemicidade do HBV em pacientes com tuberculose no Rio de Janeiro deve-se principalmente à falta de cobertura vacinal e de sua importância. Para exemplificar, no Brasil apenas este ano (2016) a vacina contra a hepatite B será ampliada para toda a população. Antes disso, a mesma era oferecida apenas para pessoas com até 49 anos de idade. De fato, 27% da população estudada acometida pelo HBV não estava contemplada no programa Nacional de Vacinação.

Ainda enfatizando a falta de política para saúde pública, o teste molecular (NAT) desenvolvido para o HBV a fim de identificar o HBV-DNA circulante em todos os doadores de sangue, foi inserido nos hemocentros do país somente em 2015. Anteriormente, tal teste

era utilizado apenas para a detecção do HIV e HCV. Possivelmente, portadores da *OBI* deixaram de ser diagnosticados podendo estar agindo como instrumento de disseminação da infecção, uma vez que o HBV-DNA se torna o único marcador para hepatite B em aproximadamente 20% dos casos. Sendo assim, a inclusão do HBV no NAT auxiliará a complementar os exames sorológicos de rotina utilizados nos hemocentros do país, viabilizando a detecção da *OBI* assim como o HBV no período de janela imunológica.

Embora o INI seja um centro de referência em doenças infecciosas, nem todos os resultados dos marcadores sorológicos para o HBV estão disponíveis no prontuário eletrônico mesmo após a descrição de alta taxa de HBV em pacientes TB. A maior parte dos exames solicitados são os marcadores de infecção ativa (HBsAg) e vacinal (anti-HBs). Raramente o marcador de infecção pregressa (anti-HBc) é solicitado ou mesmo realizado, poderia tal fato ser atribuído à problemas econômicos ou uma necessidade de priorizar outros testes? Pelos resultados desse estudo e de outros relatos na literatura científica, o anti-HBc deveria ser inserido na triagem sorológica para o HBV associado aos outros dois marcadores frequentemente solicitados e/ou realizados. Assim, facilitaria o monitoramento da infecção pelo HBV e suas futuras complicações.

Corroborando com a importância do teste para o anti-HBc e o consequente rastreamento da *OBI*, esse estudo descreveu a hepatotoxicidade como uma das complicações clínicas associadas a *OBI* durante o tratamento para TB. Embora a hepatotoxicidade tenha sido transitória na maior parte dos pacientes, esse fato não afasta a importância do acompanhamento desses indivíduos quanto ao curso clínico da infecção pelo HBV.

Além do desenvolvimento da hepatotoxicidade entre esses pacientes com *OBI*, também nos chamou atenção a detecção do HBV-DNA entre pacientes em uso de antirretrovirais incluindo a lamivudina. Esse fato indica que as cepas mutantes de HBV se tornaram resistentes a tal droga que também exerce um efeito sobre a replicação do HBV. Reforçando, dessa forma a necessidade do acompanhamento desses pacientes a fim de evitar possíveis complicações clínicas bem como a reativação viral que pode levar à morte em aproximadamente 20% dos casos.

Diante das considerações expostas, pode-se concluir a validade da inserção do diagnóstico da *OBI* na rotina clínica dos pacientes com TB co-infectados ou não pelo HIV. Estabelecendo, uma estratégia para o tratamento desses indivíduos, prevenindo a transmissibilidade do vírus e, suas implicações como o desenvolvimento da hepatotoxicidade durante o tratamento para tuberculose.

As infecções de caráter crônico, como a hepatite B, merecem atenção especial devido ao impacto econômico e social que essas representam. Logo, a implementação do teste molecular para *OBI* representa um alto custo-benefício, uma vez que o seu diagnóstico possibilita o encaminhamento do paciente ao tratamento, viabilizando, assim, a redução dos gastos do sistema de saúde pública.

8. REFERÊNCIAS

Aires RS, Matos M a. D, Lopes CLR, Teles SA, Kozlowski AG, Silva AMC, et al. Prevalence of hepatitis B virus infection among tuberculosis patients with or without HIV in Goiânia City, Brazil. *J Clin Virol*. 2012 Ago 1;54(4):327–31.

Alavian SM, Miri SM, Hollinger FB, Jazayeri SM. Occult Hepatitis B (OBH) in Clinical Settings. *Hepat Mon*. 2012 Ago;12(8):e6126.

Albuquerque ACC de, Coelho MRCD, Lemos MF, Moreira RC. Occult hepatitis B virus infection in hemodialysis patients in Recife, State of Pernambuco, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2012 Out;45(5):558–62.

Allain J-P. Occult hepatitis B virus infection and transfusion. *J Hepatol*. 2006 Mar;44(3):617–8; author reply 618–9.

Araujo NM, Branco-Vieira M, Silva ACM, Pilotto JH, Grinsztejn B, de Almeida AJ, et al. Occult hepatitis B virus infection in HIV-infected patients: Evaluation of biochemical, virological and molecular parameters. *Hepatol Res Off J Jpn Soc Hepatol*. 2008 Dez;38(12):1194–203.

Aspinall EJ, Hawkins G, Fraser A, Hutchinson SJ, Goldberg D. Hepatitis B prevention, diagnosis, treatment and care: a review. *Occup Med Oxf Engl*. 2011 Dez;61(8):531–40.

Assad S, Francis A. Over a decade of experience with a yeast recombinant hepatitis B vaccine. *Vaccine*. 1999 Ago 20;18(1-2):57–67.

Barros Júnior GM, Braga WSM, Oliveira CMC de, Castilho M da C, Araújo J de R. [Occult hepatitis B: prevalence and clinical characteristics in a population with high endemicity of hepatitis B infection in the western Brazilian Amazon region]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008 Dez;41(6):596–601.

Bayer ME, Blumberg BS, Werner B. Particles associated with Australia antigen in the sera of patients with leukaemia, Down's Syndrome and hepatitis. *Nature*. 1968 Jun 15;218(5146):1057–9.

Beasley RP, Hwang LY, Lee GC, Lan CC, Roan CH, Huang FY, et al. Prevention of perinatally transmitted hepatitis B virus infections with hepatitis B immune globulin and hepatitis B vaccine. *Lancet Lond Engl*. 1983 Nov 12;2(8359):1099–102.

Beasley RP, Trepo C, Stevens CE, Szmunness W. The e antigen and vertical transmission of hepatitis B surface antigen. *Am J Epidemiol*. 1977 Fev;105(2):94–8.

Beck J, Nassal M. Hepatitis B virus replication. *World J Gastroenterol*. 2007 Jan 7;13(1):48–64.

Bellecave P, Gouttenoire J, Gajer M, Brass V, Koutsoudakis G, Blum HE, et al. Hepatitis B and C virus coinfection: a novel model system reveals the absence of direct viral interference. *Hepatology*. 2009 Jul;50(1):46–55.

Belloni L, Pollicino T, De Nicola F, Guerrieri F, Raffa G, Fanciulli M, et al. Nuclear HBx binds the HBV minichromosome and modifies the epigenetic regulation of cccDNA function. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Nov 24;106(47):19975–9.

Berhe N, Myrvang B, Gundersen SG. Intensity of *Schistosoma mansoni*, hepatitis B, age, and sex predict levels of hepatic periportal thickening/fibrosis (PPT/F): a large-scale community-based study in Ethiopia. *Am J Trop Med Hyg*. 2007 Dez;77(6):1079–86.

Besisik F, Karaca C, Akyüz F, Horosanli S, Onel D, Badur S, et al. Occult HBV infection and YMDD variants in hemodialysis patients with chronic HCV infection. *J Hepatol*. 2003 Abr;38(4):506–10.

Blal CA, Passos SRL, Horn C, Georg I, Bonecini-Almeida MG, Rolla VC, et al. High prevalence of hepatitis B virus infection among tuberculosis patients with and without HIV in Rio de Janeiro, Brazil. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. 2005 Jan;24(1):41–3.

Blumberg BS. Hepatitis B virus, the vaccine, and the control of primary cancer of the liver. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Jul 8;94(14):7121–5.

Blumberg BS, Gerstley BJ, Hungerford DA, London WT, Sutnick AI. A serum antigen (Australia antigen) in Down's syndrome, leukemia, and hepatitis. *Ann Intern Med*. 1967 Mai;66(5):924–31.

Bréchet C, Thiers V, Kremsdorf D, Nalpas B, Pol S, Paterlini-Bréchet P. Persistent hepatitis B virus infection in subjects without hepatitis B surface antigen: clinically significant or purely “occult”? *Hepatology*. 2001 Jul;34(1):194–203.

Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G, Orlando ME, Raimondo G. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med*. 1999 Jul 1;341(1):22–6.

Candotti D, Allain J-P. Transfusion-transmitted hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2009 Out;51(4):798–809.

Cassini R, De Mitri MS, Gibellini D, Urbinati L, Bagaglio S, Morsica G, et al. A novel stop codon mutation within the hepatitis B surface gene is detected in the liver but not in the peripheral blood mononuclear cells of HIV-infected individuals with occult HBV infection. *J Viral Hepat*. 2013 Jan;20(1):42–9.

CDC | Pinkbook | Hepatitis B | Epidemiology of Vaccine Preventable Diseases [Internet]. [acesso em 29 de Fevereiro 2016]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/hepb.html>

de Castro L, do Brasil PE a. A, Monteiro TP, Rolla VC. Can hepatitis B virus infection predict tuberculosis treatment liver toxicity? Development of a preliminary prediction rule. *Int J Tuberc Lung Dis Off J Int Union Tuberc Lung Dis*. 2010 Mar;14(3):332–40.

Chaudhuri V, Tayal R, Nayak B, Acharya SK, Panda SK. Occult hepatitis B virus infection in chronic liver disease: full-length genome and analysis of mutant surface promoter. *Gastroenterology*. 2004 Nov;127(5):1356–71.

Chen S, Wu J, Gu E, Shen Y, Wang F, Zhang W. Evaluation of the dynamic pattern of viral evolution in patients with virological breakthrough during treatment with nucleoside/nucleotide analogs by ultra-deep pyrosequencing. *Mol Med Rep*. 2016 Jan;13(1):651–60.

Cholongitas E, Papatheodoridis GV, Burroughs AK. Liver grafts from anti-hepatitis B core positive donors: a systematic review. *J Hepatol*. 2010 Feb;52(2):272–9.

Covolo L, Pollicino T, Raimondo G, Donato F. Occult hepatitis B virus and the risk for chronic liver disease: a meta-analysis. *Dig Liver Dis Off J Ital Soc Gastroenterol Ital Assoc Study Liver*. 2013 Mar;45(3):238–44.

Dane DS, Cameron CH, Briggs M. Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. *Lancet Lond Engl*. 1970 Apr 4;1(7649):695–8.

Di Bisceglie AM. Hepatitis B and hepatocellular carcinoma. *Hepatol Baltim Md*. 2009 Mai;49(5 Suppl):S56–60.

Dindoost P, Jazayeri SM, Alavian SM. Hepatitis B immune globulin in liver transplantation prophylaxis: an update. *Hepat Mon*. 2012 Mar;12(3):168–76.

Dowell D, Gaffga NH, Weinstock H, Peterman TA. Integration of Surveillance for STDs, HIV, Hepatitis, and TB: A Survey of U.S. STD Control Programs. *Public Health Rep*. 2009;124(Suppl 2):31–8.

El Chaar M, Candotti D, Crowther RA, Allain JP. Impact of hepatitis B virus surface protein mutations on the diagnosis of occult hepatitis B virus infection. *Hepatol Baltim Md*. 2010 Nov;52(5):1600–10.

Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection--natural history and clinical consequences. *N Engl J Med*. 2004 Mar 11;350(11):1118–29.

Gao S, Duan Z-P, Coffin CS. Clinical relevance of hepatitis B virus variants. *World J Hepatol*. 2015 Mai 18;7(8):1086–96.

Ghany MG, Doo EC. Antiviral Resistance and Hepatitis B Therapy. *Hepatol Baltim Md*. 2009 Mai;49(5 Suppl):S174–84.

Goldstein ST, Alter MJ, Williams IT, Moyer LA, Judson FN, Mottram K, et al. Incidence and risk factors for acute hepatitis B in the United States, 1982-1998: implications for vaccination programs. *J Infect Dis*. 2002 Mar 15;185(6):713–9.

Gomes SA, Araujo FCM and NM. Hepatitis B Virus (HBV) Variants in Hemodialysis Patients. 2011 Nov 14 [acesso em 29 de Fevereiro 2016]; Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/special-problems-in-hemodialysis-patients/hepatitis-b-virus-hbv-variants-in-hemodialysis-patients>

Guo Y, Li Y, Mu S, Zhang J, Yan Z. Evidence that methylation of hepatitis B virus covalently closed circular DNA in liver tissues of patients with chronic hepatitis B modulates HBV replication. *J Med Virol*. 2009 Jul;81(7):1177–83.

Hadziyannis SJ. Update on Hepatitis B Virus Infection: Focus on Treatment. *J Clin Transl Hepatol*. 2014 Dez;2(4):285–91.

Huang X, Hollinger FB. Occult hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma: a systematic review. *J Viral Hepat*. 2014 Mar;21(3):153–62.

Huang Y, Lok ASF. Viral factors and outcomes of chronic HBV infection. *Am J Gastroenterol*. 2011 Jan;106(1):93–5.

Inoue J, Ueno Y, Nagasaki F, Wakui Y, Kondo Y, Fukushima K, et al. Enhanced intracellular retention of a hepatitis B virus strain associated with fulminant hepatitis. *Virology*. 2009 Dez 20;395(2):202–9.

Jaeschke H, Gores GJ, Cederbaum AI, Hinson JA, Pessayre D, Lemasters JJ. Mechanisms of hepatotoxicity. *Toxicol Sci Off J Soc Toxicol*. 2002 Fev;65(2):166–76.

Jardim RNCM, Gonçalves NSL, Pereira JSF, Fais VC, Gonçalves Junior FL. Occult hepatitis B virus infection in immunocompromised patients. *Braz J Infect Dis Off Publ Braz Soc Infect Dis*. 2008 Ago;12(4):300–5.

Kang L, Pan J, Wu J, Hu J, Sun Q, Tang J. Anti-HBV Drugs: Progress, Unmet Needs, and New Hope. *Viruses*. 2015 Set 15;7(9):4960–77.

Kannangai R, Vivekanandan P, Netski D, Mehta S, Kirk GD, Thomas DL, et al. Liver enzyme flares and occult hepatitis B in persons with chronic hepatitis C infection. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. 2007 Jun;39(2):101–5.

Kaplowitz N. Drug-induced liver injury. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2004 Mar 1;38 Suppl 2:S44–8.

Keum WK, Kim JY, Kim JY, Chi SG, Woo HJ, Kim SS, et al. Heterogeneous HBV mutants coexist in Korean hepatitis B patients. *Exp Mol Med*. 1998 Jun 30;30(2):115–22.

Kwak M-S, Kim YJ. Occult hepatitis B virus infection. *World J Hepatol*. 2014 Dez 27;6(12):860–9.

Liu C-J, Chen D-S, Chen P-J. Epidemiology of HBV infection in Asian blood donors: emphasis on occult HBV infection and the role of NAT. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. 2006 Mai;36 Suppl 1:S33–44.

Locarnini S, McMillan J, Bartholomeusz A. The hepatitis B virus and common mutants. *Semin Liver Dis.* 2003 Fev;23(1):5–20.

Lok AS. Hepatitis B infection: pathogenesis and management. *J Hepatol.* 2000;32(1 Suppl):89–97.

Mahoney FJ. Update on diagnosis, management, and prevention of hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev.* 1999 Abr;12(2):351–66.

Maldonado-Rodriguez A, Cevallos AM, Rojas-Montes O, Enriquez-Navarro K, Alvarez-Muñoz MT, Lira R. Occult hepatitis B virus co-infection in human immunodeficiency virus-positive patients: A review of prevalence, diagnosis and clinical significance. *World J Hepatol.* 2015 Fev 27;7(2):253–60.

Malta M, Cavalcanti S, Gliksman L, Adlaf E, Hacker M de AV-B, Bertoni N, et al. Behavior and major barriers faced by non-injectable drug users with HBV/HCV seeking treatment for hepatitis and drug addiction in Rio de Janeiro, Brazil. *Ciênc Saúde Coletiva.* 2011 Dez;16(12):4777–86.

McClary H, Koch R, Chisari FV, Guidotti LG. Inhibition of hepatitis B virus replication during schistosoma mansoni infection in transgenic mice. *J Exp Med.* 2000 Jul 17;192(2):289–94.

Miller RH, Robinson WS. Common evolutionary origin of hepatitis B virus and retroviruses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986 Abr;83(8):2531–5.

Ministério da Saúde. [Internet]. Guia estadual de orientações técnicas das hepatites virais. 2007. [acesso em 7 de Março 2016]. Disponível em: <http://www.doencasdofigado.com.br/GUIA%20DE%20ORIENTA%C3%87OES%20PARA%20HEPATITES%20VIRAIS.pdf>

Ministério da Saúde [Internet]. Boletim epidemiológico das hepatites virais. 2011a. [acesso em 6 de Março 2016]. Disponível em: http://www.SIDA.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2011/50073/boletim_hepatites2011_pdf_64874.pdf

Ministério da Saúde [Internet]. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para o Tratamento da Hepatite Viral Crônica B e Coinfecções. 2011b. [acesso em 29 de Fevereiro 2016]. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_clinico_diretrizes_terapeuticas_hepatite_viral_b.pdf

Ministério da Saúde [Internet]. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil. 2011c. [acesso em 4 de Março 2016]. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/TB/mat_tec/manuais/MS11_Manual_Recom.pdf

Ministério da Saúde [Internet]. Boletim epidemiológico hepatites virais. 2012. [acesso em 7 de Março 2016]. Disponível em: http://www.SIDA.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2012/51820/boletim_epidemiologico_hepatites_virais_2012_ve_12026.pdf

Ministério da Saúde | Departamento de DST, SIDA e Hepatites Virais [Internet]. Vacina. 2013. [acesso em 11 de Fevereiro 2016]. Disponível em: <http://www.SIDA.gov.br/pagina/vacina-hepatites>

Ministério da Saúde [Internet]. Novos medicamentos para hepatite C chegam ao SUS este ano. 2015a. Portal da Saúde – Ministério da Saúde – www.saude.gov.br. [acesso em 6 de Março 2016]. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/18850-novos-medicamentos-para-hepatite-c-chegam-ao-sus-este-ano>

Ministério da Saúde [Internet]. Boletim epidemiológico - Detectar, tratar e curar: desafios e estratégias brasileiras frente à tuberculose. 2015b. [acesso em 7 de Março 2016]. Disponível em: <http://u.saude.gov.br/images/pdf/2015/marco/25/Boletim-tuberculose-2015.pdf>

Ministério da Saúde [Internet]. Boletim epidemiológico hepatites virais. 2015c. [acesso em 29 de Fevereiro 2016]. Disponível em: http://www.SIDA.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2015/58210/_p_boletim_hepatites_final_web_pdf_p__16377.pdf

Ministério da Saúde [Internet]. Nota informativa - Informa as mudanças no Calendário Nacional de Vacinação para o ano de 2016. 2015d. [acesso em 7 de Março 2016]. Disponível em: http://www.cvpvacinas.com.br/pdf/nota_informativa_149.pdf

Minuk GY, Sun DF, Greenberg R, Zhang M, Hawkins K, Uhanova J, et al. Occult hepatitis B virus infection in a North American adult hemodialysis patient population. *Hepatology* Baltim Md. 2004 Nov;40(5):1072–7.

Moolla N, Kew M, Arbuthnot P. Regulatory elements of hepatitis B virus transcription. *J Viral Hepat*. 2002 Set;9(5):323–31.

Mo P, Zhu Q, Teter C, Yang R, Deng L, Yan Y, et al. Prevalence, drug-induced hepatotoxicity, and mortality among patients multi-infected with HIV, tuberculosis, and hepatitis virus. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis*. 2014 Nov;28:95–100.

Motta JS, Mello FC, Lago BV, Perez RM, Gomes SA, Figueiredo FF. Occult hepatitis B virus infection and lamivudine-resistant mutations in isolates from renal patients undergoing hemodialysis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010 Jan;25(1):101–6.

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. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. 2006 Jan;35(1):14–20.

Okada K, Kamiyama I, Inomata M, Imai M, Miyakawa Y. e antigen and anti-e in the serum of asymptomatic carrier mothers as indicators of positive and negative transmission of hepatitis B virus to their infants. *N Engl J Med*. 1976 Abr 1;294(14):746–9.

Okochi K, Murakami S. Observations on Australia antigen in Japanese. *Vox Sang*. 1968;15(5):374–85.

- Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine*. 2012 Mar 9;30(12):2212–9.
- Ozick LA, Jacob L, Comer GM, Lee TP, Ben-Zvi J, Donelson SS, et al. Hepatotoxicity from isoniazid and rifampin in inner-city AIDS patients. *Am J Gastroenterol*. 1995 Nov; 90(11):1978–80.
- Patel PA, Voigt MD. Prevalence and interaction of hepatitis B and latent tuberculosis in Vietnamese immigrants to the United States. *Am J Gastroenterol*. 2002 Mai; 97(5):1198–203.
- Penna A, Artini M, Cavalli A, Levrero M, Bertolotti A, Pilli M, et al. Long-lasting memory T cell responses following self-limited acute hepatitis B. *J Clin Invest*. 1996 Set 1;98(5):1185–94.
- Perrillo RP, Campbell CR, Strang S, Bodicky CJ, Costigan DJ. Immune globulin and hepatitis B immune globulin. Prophylactic measures for intimate contacts exposed to acute type B hepatitis. *Arch Intern Med*. 1984 Jan; 144(1):81–5.
- Pollicino T, Belloni L, Raffa G, Pediconi N, Squadrito G, Raimondo G, et al. Hepatitis B virus replication is regulated by the acetylation status of hepatitis B virus cccDNA-bound H3 and H4 histones. *Gastroenterology*. 2006 Mar; 130(3):823–37.
- Pollicino T, Saitta C. Occult hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol WJG*. 2014 Mai 28;20(20):5951–61.
- Prince AM. An antigen detected in the blood during the incubation period of serum hepatitis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1968 Jul; 60(3):814–21.
- Raimondo G, Caccamo G, Filomia R, Pollicino T. Occult HBV infection. *Semin Immunopathol*. 2013 Jan; 35(1):39–52.
- Raimondo G, Filomia R, Maimone S. Therapy of occult hepatitis B virus infection and prevention of reactivation. *Intervirology*. 2014; 57(3-4):189–95.
- Ramappa V, Aithal GP. Hepatotoxicity Related to Anti-tuberculosis Drugs: Mechanisms and Management. *J Clin Exp Hepatol*. 2013 Mar; 3(1):37–49.
- Rathi PM, Amarapurkar DN, Borges NE, Koppikar GV, Kalro RH. Spectrum of liver diseases in HIV infection. *Indian J Gastroenterol Off J Indian Soc Gastroenterol*. 1997 Jul;16(3):94–5.
- Rehermann B, Ferrari C, Pasquinelli C, Chisari FV. The hepatitis B virus persists for decades after patients' recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. *Nat Med*. 1996 Out;2(10):1104–8.
- Rossi C, Shrier I, Marshall L, Cnossen S, Schwartzman K, Klein MB, et al. Seroprevalence of chronic hepatitis B virus infection and prior immunity in immigrants and refugees: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7(9):e44611.

- Sagnelli E, Coppola N, Scolastico C, Mogavero AR, Filippini P, Piccinino F. HCV genotype and “silent” HBV coinfection: two main risk factors for a more severe liver disease. *J Med Virol*. 2001 Jul;64(3):350–5.
- Sagnelli E, Pisaturo M, Martini S, Filippini P, Sagnelli C, Coppola N. Clinical impact of occult hepatitis B virus infection in immunosuppressed patients. *World J Hepatol*. 2014 Jun 27;6(6):384–93.
- Samal J, Kandpal M, Vivekanandan P. Molecular mechanisms underlying occult hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev*. 2012 Jan;25(1):142–63.
- Selim HS, Abou-Donia HA, Taha HA, El Azab GI, Bakry AF. Role of occult hepatitis B virus in chronic hepatitis C patients with flare of liver enzymes. *Eur J Intern Med*. 2011 Abr;22(2):187–90.
- Sharma SK, Balamurugan A, Saha PK, Pandey RM, Mehra NK. Evaluation of clinical and immunogenetic risk factors for the development of hepatotoxicity during antituberculosis treatment. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Out 1;166(7):916–9.
- Shi Y, Wu YH, Wu W, Zhang WJ, Yang J, Chen Z. Association between occult hepatitis B infection and the risk of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver*. 2012 Fev;32(2):231–40.
- SINAN/SES-RJ [Internet]. [acesso em 29 de Fevereiro 2016]. Disponível em: <http://www.riocomsaude.rj.gov.br/Publico/MostrarArquivo.aspx?C=sF6igzRT%2Fp4%3D>
- Sjogren MH. Serologic diagnosis of viral hepatitis. *Med Clin North Am*. 1996 Set;80(5):929–56.
- Song SH, Hwang SG. [Occult hepatitis B virus infection: transmission and reactivation]. *Korean J Gastroenterol Taehan Sohwagi Hakhoe Chi*. 2013 Set;62(3):148–53.
- Soriano V, Barreiro P, Martin-Carbonero L, Castellares C, Ruiz-Sancho A, Labarga P, et al. Treatment of Chronic Hepatitis B or C in HIV-Infected Patients with Dual Viral Hepatitis. *J Infect Dis*. 2007 Abr 15;195(8):1181–3.
- Sowole L, Labbett W, Patel M, O’Riordan A, Cross J, Davenport A, et al. The prevalence of occult hepatitis B virus (HBV) infection in a large multi-ethnic haemodialysis cohort. *BMC Nephrol*. 2015;16:12.
- Squadrito G, Cacciola I, Alibrandi A, Pollicino T, Raimondo G. Impact of occult hepatitis B virus infection on the outcome of chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2013 Out;59(4):696–700.
- Squadrito G, Spinella R, Raimondo G. The clinical significance of occult HBV infection. *Ann Gastroenterol Q Publ Hell Soc Gastroenterol*. 2014;27(1):15–9.
- Szyf M. The dynamic epigenome and its implications in toxicology. *Toxicol Sci Off J Soc Toxicol*. 2007 Nov;100(1):7–23.

- Tabor E, Hoofnagle JH, Smallwood LA, Drucker JA, Pineda-Tamondong GC, Ni LY, et al. Studies of donors who transmit posttransfusion hepatitis. *Transfusion (Paris)*. 1979 Dez; 19(6):725–31.
- Tajiri K, Shimizu Y. Practical guidelines for diagnosis and early management of drug-induced liver injury. *World J Gastroenterol*. 2008 Nov 28;14(44):6774–85.
- Teschke R, Wolff A, Frenzel C, Schwarzenboeck A, Schulze J, Eickhoff A. Drug and herb induced liver injury: Council for International Organizations of Medical Sciences scale for causality assessment. *World J Hepatol*. 2014 Jan 27; 6(1):17–32.
- Torbenson M, Thomas DL. Occult hepatitis B. *Lancet Infect Dis*. 2002 Ago; 2(8):479–86.
- Tostmann A, Boeree MJ, Aarnoutse RE, de Lange WCM, van der Ven AJAM, Dekhuijzen R. Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: concise up-to-date review. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008 Feb; 23(2):192–202.
- Toyoda H, Hayashi K, Murakami Y, Honda T, Katano Y, Nakano I, et al. Prevalence and clinical implications of occult hepatitis B viral infection in hemophilia patients in Japan. *J Med Virol*. 2004 Jun;73(2):195–9.
- Tuteja A, Siddiqui AB, Madan K, Goyal R, Shalimar null, Sreenivas V, et al. Mutation profiling of the hepatitis B virus strains circulating in North Indian population. *PloS One*. 2014;9(3):e91150.
- Ungo JR, Jones D, Ashkin D, Hollender ES, Bernstein D, Albanese AP, et al. Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity. The role of hepatitis C virus and the human immunodeficiency virus. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Jun;157(6 Pt 1):1871–6.
- Urbani S, Fagnoni F, Missale G, Franchini M. The role of anti-core antibody response in the detection of occult hepatitis B virus infection. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48(1):23–9.
- Vitale F, Tramuto F, Orlando A, Vizzini G, Meli V, Cerame G, et al. Can the serological status of anti-HBc alone be considered a sentinel marker for detection of occult HBV infection? *J Med Virol*. 2008 Abr;80(4):577–82.
- Vivekanandan P, Daniel HD-J, Kannangai R, Martinez-Murillo F, Torbenson M. Hepatitis B virus replication induces methylation of both host and viral DNA. *J Virol*. 2010 Mai;84(9):4321–9.
- Wang J-Y, Liu C-H, Hu F-C, Chang H-C, Liu J-L, Chen J-M, et al. Risk factors of hepatitis during anti-tuberculous treatment and implications of hepatitis virus load. *J Infect*. 2011 Jun;62(6):448–55.
- Wong DKH, Huang FY, Lai CL, Poon RTP, Seto WK, Fung J, et al. Occult hepatitis B infection and HBV replicative activity in patients with cryptogenic cause of hepatocellular carcinoma. *Hepatol Baltim Md*. 2011 Set 2;54(3):829–36.
- Wynne SA, Crowther RA, Leslie AG. The crystal structure of the human hepatitis B virus capsid. *Mol Cell*. 1999 Jun;3(6):771–80.

Yee D, Valiquette C, Pelletier M, Parisien I, Rocher I, Menzies D. Incidence of serious side effects from first-line antituberculosis drugs among patients treated for active tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Jun 1;167(11):1472–7.

Yeo W, Johnson PJ. Diagnosis, prevention and management of hepatitis B virus reactivation during anticancer therapy. *Hepatol Baltim Md*. 2006 Fev;43(2):209–20.

Yoo JH, Hwang SG, Yang DH, Son MS, Kwon C-I, Ko KH, et al. Prevalence of occult hepatitis B virus infection in hemodialysis patients. *Korean J Gastroenterol Taehan Sohwagi Hakhoe Chi*. 2013 Abr;61(4):209–14.

Yotsuyanagi H, Hashidume K, Suzuki M, Maeyama S, Takayama T, Uchikoshi T. Role of hepatitis B virus in hepatocarcinogenesis in alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res*. 2004 Ago;28(8 Suppl Proceedings):181S – 185S.

Yuki N, Nagaoka T, Yamashiro M, Mochizuki K, Kaneko A, Yamamoto K, et al. Long-term histologic and virologic outcomes of acute self-limited hepatitis B. *Hepatol Baltim Md*. 2003 Mai;37(5):1172–9.

Zobeiri M, Zobeiri M. Occult Hepatitis B: Clinical Viewpoint and Management, Occult Hepatitis B: Clinical Viewpoint and Management. *Hepat Res Treat Hepat Res Treat*. 2013 Mar 4;2013, 2013:e259148.

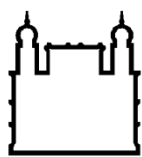
WHO | Global Tuberculosis Report [Internet]. [acesso em 6 de Março 2016]. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059_eng.pdf?ua=1

WHO | Hepatitis B [Internet]. WHO. [acesso em 11 de Fevereiro 2016]. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>

WHO | Tuberculosis [Internet]. WHO. [acesso em 12 de Fevereiro 2016]. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/>

ANEXOS

ANEXO 1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

PROJETO: Infecção pelo vírus da hepatite B em Portadores de Tuberculose Infectados ou não pelo Vírus da Imunodeficiência Humana: Prevalência e Fatores Associados

OBJETIVO: Descrever a prevalência do HBV em pacientes portadores de tuberculose infectados ou não pelo HIV atendidos no CRTB-IPEC e investigar fatores associados à hepatotoxicidade.

Eu _____ fui convidado(a) a participar de um estudo que irá avaliar a presença de marcadores sorológicos do vírus que causa a hepatite B no homem. Estou sendo informado (a) que existem pelo menos cinco vírus que causam hepatite no homem. O vírus da hepatite B pode ser transmitido pelo sangue, por uso de drogas injetáveis, através de relações sexuais e também pode ocorrer a transmissão de mãe para o filho, além deste também são transmitidos da mesma maneira os vírus da hepatite C e delta. Os demais vírus são transmitidos pela ingestão de água e alimentos contaminados por fezes infectadas e causam a hepatite A e E

Este trabalho tem como objetivo investigar se sou portador ou não do vírus da hepatite B. Para isso eu preciso consentir que se retire cerca de 05 mL do meu sangue (1 colher de sobremesa), que será coletado por punção venosa por técnico especializado do laboratório e será preparado para pesquisar a presença da infecção causada pelo vírus da hepatite B. O sr(a), poderá obter benefício pessoal ao ser informado sobre a presença ou não de marcadores da hepatite viral B, além de receber orientação sobre a necessidade de vacinação contra a hepatite B. Os possíveis riscos e desconfortos são aqueles relacionados com a retirada

rotineira de sangue, dor ou vermelhidão no local, os exames e os procedimentos que o Sr(a) será submetido não são causadores de risco, pois fazem parte da rotina na prática médica e laboratorial. O material biológico obtido poderá ser utilizado em outras pesquisas desde que seja mantidos o anonimato e que estes estudos revertam em algum benefício ou prejuízo para mim, deverei ser informado, podendo ser utilizados para publicação e notificação destes às Instituições de Saúde Pública em nível do Ministério da Saúde e Secretarias de Saúde Estadual e Municipal.

Caso tenha alguma dúvida ou necessidade de qualquer esclarecimento sobre o estudo, você pode entrar em contato com os pesquisadores relacionados abaixo:

Dra. Valéria Rolla – INI/FIOCRUZ; telefone: 3865-9601

Dra. Liane de Castro - INI/FIOCRUZ; telefone : 3865-9558

Assinatura _____

RG _____

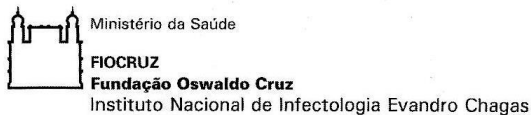
Endereço: _____

Telefone para contato: _____

Assinatura do pesquisador responsável _____

Data: _____

ANEXO 2: Aprovação do CEP



Rio de Janeiro, 23 de setembro de 2014.

Do: Comitê de Ética em Pesquisa do IPEC

Para: Dra. Liane de Castro

Prezada Dra. Liane,

Com referência ao projeto: **“Investigação da infecção oculta pelo vírus da hepatite B em pacientes com tuberculose co-infectados ou não pelo HIV: prevalência e fatores associados”**, subestudo do projeto: **“Infecção pelo vírus da hepatite B em pacientes com tuberculose infectados ou não pelo vírus da imunodeficiência humana: Prevalência e fatores associados”**, CAAE 0013.0.009.000-03, aprovado por este Comitê em 22/09/2003, acusamos o recebimento de sua carta datada de 09 de julho de 2014, na qual V. Sa. solicita apreciação do subprojeto supra citado.

Este subprojeto contempla uma Dissertação de Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, orientada por você e pelo Dr. Pedro Emmanuel Alvarenga Americano do Brasil.

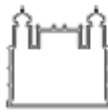
Essa proposta refere-se ao item 4.1.2 “Associação do HBV à Hepatotoxicidade”, cujos critérios de inclusão estão descritos no item 6 – “Definição do estado clínico da infecção pelo HBV” subitem 3 “Infecção oculta – definida pela presença do marcador sorológico “anti-HBc total e HBV-DNA”, do projeto original.

Esta documentação foi apreciada e aprovada por esta Coordenação (Relatora) na presente data.

Atenciosamente,

Dr^a Léa Ferreira Camillo-Coura
Coordenadora do Comitê
de Ética em Pesquisa
Mat. SIAPE 003709620
IPEC / FIOCRUZ

VL



PROJETO: TOXICIDADE HEPÁTICA - Pacientes em Tratamento para Tuberculose

1. Iniciais:

--	--	--	--	--	--	--	--

2. Prontuário:

--	--	--	--	--	--	--	--

47. Corticoide: Sim Não Sem informação

48. Uso de álcool CAGE:

- Sim uso
 Sim abuso
 Não ha menos de 1 ano
 Não ha mais de 1 ano
 Nunca
 Sem informação

49. Tabaco:

- Sim
 Nunca
 Não ha menos de 1 ano
 Não ha mais de 1 ano
 Sem informação

50. DPOC em atividade: Sim Não Sem informação

51. HAS ou Cardiopatia: Sim Não Sem informação

52. Insuficiência ou outra doença renal: Sim Não Sem informação

53. Paracoccidiodomicose passado/ atual: Sim Não Sem informação

54. Diabetes I ou II: Sim Não Sem informação

55. Neoplasia qualquer tipo? Sim Não Sem informação

56. Sorologia de HIV?

Positivo Negativo Inconclusivo Não realizado Sem informação

57. CD4+ antes do RHZ:

--	--	--	--	--	--	--	--

58. Data do CD4+ antes da RHZ:

		/			/				
--	--	---	--	--	---	--	--	--	--

59. CD4+ depois do RHZ:

--	--	--	--	--	--	--	--

60. Data do CD4+ depois da RHZ:

		/			/				
--	--	---	--	--	---	--	--	--	--

61. CV antes do RHZ:

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

62. Data do CV antes da RHZ:

		/			/				
--	--	---	--	--	---	--	--	--	--

63. CV depois do RHZ:

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

64. Data do CV depois da RHZ:

		/			/				
--	--	---	--	--	---	--	--	--	--

65. Sorologia de HBsAg? Positivo Negativo Inconclusivo Não realizado

66. Sorologia de Anti-HBcAg? Positivo Negativo Inconclusivo Não realizado

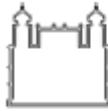
67. Sorologia de anti-HBsAg? Positivo Negativo Inconclusivo Não realizado

68. Sorologia de HCV? Positivo Negativo Inconclusivo Não realizado

69. Sorologia de HAV Ig Total? Positivo Negativo Inconclusivo Não realizado

70. Sorologia de HAV Ig M? Positivo Negativo Inconclusivo Não realizado





Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz-FIOCRUZ

INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS
LABORATÓRIO DE BIOMARCADORES E TOXICIDADE



PROJETO: TOXICIDADE HEPÁTICA - Pacientes em Tratamento para Tuberculose

1. Iniciais:

--	--	--	--	--	--

2. Frontuário:

--	--	--	--	--	--

BLOCO DE CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS E CLÍNICAS

71. Localização da moradia: AP Outro Município do RJ Fora do Estado do RJ
72. Número da AP: .
73. Renda familiar:
 0 a 3 salários mínimos Mais de 3 salários mínimos Ignorado Sem informação
74. Escolaridade: 0 - 1 Grau 2 - 3 Grau Sem informação
75. Número de moradores no domicílio:
 1 - 4 moradores Mais de 4 moradores Sem informação
76. Número de cômodos no domicílio: (excluindo o banheiro)
 mais de 3 cômodos Menos de 3 cômodos Igual a 3 cômodos
77. Estado Civil: Casado Solteiro Divorciado Separado Viuvo União estável
78. Preferência sexual: Hetero Homo-bi Ignorado
79. Múltiplos parceiros: Sim Não Ignorado
80. Uso de drogas IV: Sim Não Ignorado
81. Transfusão sanguínea: Sim Não Sem informação

GENES

82. gstt: Nulo Não nulo
- 82.1 Caso gstt seja Não nulo, responda se: Heterozigoto Homozigoto
83. gstm1: Nulo Não nulo
- 83.1 Caso gstm1 seja Não nulo, responda se: Heterozigoto Homozigoto
84. Fenótipo NAT2 (Acetilador): Rápido Intermediário Lento
85. cyp3a4 (posição 392): AA AG GG
86. MDR1 (exon 21) : GG GT GA TT AA TA
87. MDR1 (exon 26) : GG GT GA TT AA TA

Iniciais do preenchedor:

--	--	--	--	--	--

Data do preenchimento:

		/			/				
--	--	---	--	--	---	--	--	--	--

