

SAMIRA JULIEN CALUX

INFECÇÃO OCULTA PELO VÍRUS DA HEPATITE B EM
PACIENTES INFECTADOS POR HIV

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Pesquisas Laboratoriais em Saúde Pública

Orientador: Prof^a. Dr^a. Regina Célia Moreira

SÃO PAULO
2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pelo Centro de Documentação – Coordenadoria de Controle de Doenças/SES-SP

©reprodução autorizada pelo autor, desde que citada a fonte

Calux, Samira Julien.

Infecção oculta pelo vírus da hepatite B em pacientes infectados por HIV / Samira Julien Calux. – 2016.

Dissertação (Mestrado em Ciências) - Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças, São Paulo, 2016.

Área de concentração: Pesquisas Laboratoriais em Saúde Pública.

Orientação: Profa. Dra. Regina Célia Moreira.

1. Hepatite B. 2. Coinfecção. 3. Vírus da Imunodeficiência Humana.

SES/CCD/CD-331/2016

Aos meus pais Elizabeth e Nilton, exemplos de luta, perseverança e amor incondicional, a quem devo tudo o que sou hoje...

Ao meu esposo Dorival, companheiro e amigo de todos os dias, que nunca desistiu de mim, mostrando o verdadeiro amor, mesmo nos momentos mais difíceis de nossas vidas...

A Angela Spina (in memoriam), querida amiga, por me receber de braços abertos e proporcionar momentos de reflexão e fé...

A todos aqueles que sempre acreditaram em mim...

AGRADECIMENTOS

A Deus por me direcionar nos caminhos dessa vida. Aos irmãos de luz, por estarem sempre comigo me guiando junto a Deus, sempre. Ao Mestre Jesus, por entrar sempre em meu coração nos momentos conturbados.

A todos os voluntários, verdadeiros protagonistas da ciência, que aceitaram participar e colaborar com este estudo. Sem eles, este trabalho não seria possível.

A Prof^a Dr^a Regina Célia Moreira, minha orientadora, pela oportunidade de crescimento profissional, com quem pude aprimorar meus conhecimentos científicos.

A Prof^a Dr^a Maria Cassia Mendes Correa, por abrir as portas e nos receber com muito carinho. Sem seu apoio, não seria possível a execução deste trabalho.

Ao Dr. Francisco Ivanildo Junior, pelo valioso auxílio que nos permitiu contar com muito mais voluntários do que esperávamos.

A toda equipe de enfermagem da Casa da AIDS, em especial Camila, Magali, Marizinha, Valdilene (Jack) e Sandrinha, pelo amor ao trabalho realizado, pela ajuda nas coletas e pelo carinho e respeito com todos os pacientes.

Ao Marcilio Figueiredo Lemos, muito mais que um amigo, pela contribuição no estudo e pelos momentos de descontração, apoio e ensinamentos que levarei por toda a vida profissional e pessoal.

A amiga, parceira de trabalho e de todas as horas, Adriana Parise Compri, por sua dedicação, por me ensinar a aprender com meus erros e estar sempre disposta a me ajudar, seja na vida profissional ou pessoal.

A Vanessa Cristina Martins Silva, companheira de pós-graduação, pela surpreendente dedicação no estudo e por estar sempre disposta a colaborar. Seu empenho foi fundamental para a execução deste trabalho.

A Denise Hage Russo, grande amiga, pelo apoio e incentivo que me permitiram seguir em frente.

Aos amigos do Núcleo de Doenças Sanguíneas e Sexuais do Centro de Virologia: Ana Paula de Torres Santos, Cilene Gomes Proença, Isabel Takano Oba, Karoline Rodrigues Campos, Clóvis Roberto Abe Constantino, Luís Fernando Brígido, João Leandro de Paula, pelo carinho, respeito e colaboração.

Aos amigos do Núcleo de Doenças Entéricas do Centro de Virologia, onde iniciei minha caminhada no Instituto Adolfo Lutz: Adriana Luchs, Simone Morillo, Audrey Cilli, Claudia Koike, Cibele Ribeiro, Carolina Gill, Bráulio Machado, Rita de Cássia Carmona.

A FAPESP pelo apoio financeiro fornecido através do projeto PPSUS 09/53084-4.

À Secretaria de Estado da Saúde, através da Coordenadoria de Controle de Doenças e ao Instituto Adolfo Lutz, pela oportunidade de crescimento profissional e científico.

RESUMO

A infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) é um problema global de saúde pública e estima-se que mais de dois bilhões de indivíduos estejam infectados por HBV em todo o mundo. Entre eles, aproximadamente 240 milhões estão cronicamente infectados e 780 mil vêm a óbito em consequência desta infecção. O diagnóstico laboratorial da hepatite B é realizado através da pesquisa de antígenos e anticorpos no soro/plasma. A hepatite B oculta é definida pela presença de HBV-DNA na ausência de antígeno de superfície (S), com ou sem anticorpos detectáveis. Estudos apresentam valores variados de prevalência da infecção pelo HBV em pacientes portadores do HIV, porém coinfeções HBV/HIV são bastante comuns devido a terem as mesmas vias de transmissão, sendo frequentemente descritos casos de hepatite B oculta em portadores do HIV. O objetivo deste estudo foi identificar a infecção pelo HBV em pacientes portadores do HIV em um grupo de pacientes atendidos no SUS, assim como pesquisar a hepatite B oculta e estimar a prevalência de coinfeções HBV/HIV neste grupo. Participaram do estudo 232 pacientes portadores do HIV, sendo 202 em tratamento com antirretrovirais e 30 virgens de tratamento. As amostras de plasma foram submetidas a testes sorológicos (HBsAg, anti-HBs e Anti-HBc) e PCR em Tempo Real para detecção e quantificação do HBV-DNA. Os resultados demonstraram que 36,6% (85/232) dos pacientes apresentavam marcadores de exposição ao HBV, dos quais 11,8% (10/85) apresentavam HBsAg e/ou HBV-DNA detectados. Esses valores caracterizam prevalência de coinfeção HBV/HIV de 4,3% (10/232) no grupo estudado. Do total, 34,5% (80/232) dos participantes encontravam-se susceptíveis à infecção, pois não apresentaram marcadores sorológicos para o HBV. Anti-HBs isolado foi positivo em 28,9% (67/232), o que caracteriza imunização. Entre os pacientes virgens de tratamento, 10% (3/30) foram identificados como portadores de hepatite B oculta, pois as amostras apresentaram HBV-DNA em baixas concentrações e ausência de HBsAg. Os resultados apresentaram alta prevalência da hepatite B em pacientes portadores do HIV e também demonstram a importância da associação de

técnicas laboratoriais no diagnóstico da hepatite B. A técnica de PCR em Tempo Real, foi uma importante ferramenta utilizada no estudo, pois através dela foi possível o conhecimento de casos de hepatite B não evidenciados pela sorologia. O diagnóstico da hepatite B em portadores do HIV, principalmente os casos ocultos, pode auxiliar na administração da terapia, quando indicada, além de identificar potenciais transmissores do HBV não detectados nos testes mais comuns de laboratório. Nestes casos, o uso da PCR em Tempo Real como ferramenta de diagnóstico, pode subsidiar ações de vigilância e controle da transmissão do HBV.

ABSTRACT

Hepatitis B virus (HBV) infection is a global health problem. It is estimated that two billion people are infected with HBV around the world. Among them, it is possible that chronic infection affects 240 million people and 780,000 die due this infection. Hepatitis B laboratory diagnosis is accomplished by antigens and antibodies research in serum/plasma. Occult hepatitis B is defined like the presence of HBV DNA in the serum/plasma of individuals testing HBsAg negative, with detectable or undetectable antibodies. Several studies report different values of prevalence of HBV infection in HIV patients. HBV and HIV co-infections are common because of the same transmission routes of both virus. Occult hepatitis B is often described in HIV patients. The aim of the study was to find HBV infection in in a group of HIV patients treated at SUS, identify the occult hepatitis B virus infection and estimate the prevalence of HBV/HIV co-infections in this group. The study included 232 patients with HIV, of which 202 on antiretroviral therapy and 30 treatment-naïve patients. Plasma samples were assayed for HBsAg, anti-HBs and anti-HBc serological markers and Real Time PCR for detection and quantification of HBV-DNA. The results indicated that 36.6% (85/232) of the patients had HBV exposure serological markers, of which 11.8% (10/85) had HBsAg and/or HBV-DNA detected. These values characterize a HBV/HIV co-infection prevalence of 4.3% (10/232) in this group. Among the no treated individuals, 10% (3/30) had occult HBV infection due to detection of HBV-DNA in low concentrations and HBsAg non-detected in their samples. Of all individuals, 34.5% (80/232) showed no serological markers and were therefore susceptible to HBV infection. Anti-HBs alone was positive in 28.9% (67/232) which features vaccination. The results indicated a high prevalence of hepatitis B in HIV patients and also highlighted the importance of the association of laboratory techniques in the diagnosis of hepatitis B. The Real Time PCR was an important tool in this study, because through this technique was possible the knowledge of cases of hepatitis B not evidenced by serology. The diagnosis of hepatitis B in HIV patients, especially the occult cases, may assist in the administration of therapy if it is indicated, and identify

potential transmitters of HBV not detected in the most common laboratory tests. In these cases, the Real Time PCR as a diagnostic tool, can support surveillance and thus, the control of transmission of HBV.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- Anti-HBc** antígeno do core do vírus da hepatite B
- Anti-HBs** anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B
- ARV** antirretroviral
- cccDNA** “covalently closed circular DNA” (DNA circular covalentemente fechado)
- CD4** linfócitos T CD4
- DNA** ácido desoxirribonucleico
- dNTPs** trifosfatos de desoxinucleotídeos
- EASL** “European Association for the Study of The Liver” (Associação Europeia para os Estudos do Fígado)
- EDTA** Ácido Etilenodiamino Tetracético
- Elisa** “enzyme-linked immunosorbent assay” (ensaio imunoenzimático)
- HBcAg** antígeno do core do vírus da hepatite B
- HBeAg** antígeno e do vírus da hepatite B
- HBsAg** antígeno de superfície do vírus da hepatite B
- HBV** vírus da Hepatite B
- HCC** carcinoma hepatocelular
- HCV** vírus da Hepatite C
- HIV** vírus da imunodeficiência adquirida
- IC** controle interno
- IgG** Imunoglobulina classe G
- IgM** Imunoglobulina classe M
- MgCl₂** Cloreto de Magnésio
- ng** nanograma
- nm** nanômetro
- OBI** Infecção oculta pelo vírus da hepatite B
- ORF** “open read frame” (fase de leitura aberta)
- PCR** reação em cadeia pela polimerase
- pgRNA** RNA pré-genômico
- pmol/μL** picomol por microlitro

RC-DNA “relaxed circular DNA” (DNA não fechado covalentemente)
Região Pol região de codificação da polimerase do genoma do HBV
Região S região de codificação das proteínas de superfície do HBV
RNA ácido ribonucleico
SIM Sistema de Informação sobre Mortalidade
SUS Sistema Único de Saúde
TAE Tris-Acetato-EDTA
Taq *Thermus aquaticus*
TARV terapia antirretroviral
TMB 5,5'-tetrametilbenzidina
UI/mL unidades internacionais por mililitro
WHO “World Health Organization” (Organização Mundial da Saúde)
WHV vírus da hepatite da Marmota
µL microlitro

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1. (A) Fases de leitura ORFs do HBV; (B) Antígenos do HBV.....	18
Figura 2. Representação da replicação do HBV.....	20
Figura 3. Representação do comportamento de antígenos e anticorpos durante infecção por HBV e janela Imunológica pré-soroconversão HBsAg/Anti-HBs.....	21
Figura 4. Infecção oculta pelo HBV: não coincide com janela imunológica; anti-HBs e anti-HBc total podem estar ou não detectáveis; HBV-DNA detectável em baixas concentrações.....	23
Figura 5. Infecções ocultas pelo HBV soropositivas e soronegativas.....	24
Figura 6. Representação do controle Low DNA Mass Ladder de acordo com o volume de amostra e padrão utilizados.....	37
Figura 7. Representação dos marcadores sorológicos identificados e suas associações.....	40
Figura 8. Prevalência da hepatite B em portadores do HIV na população estudada.....	42
Figura 9. Perfis sorológicos identificados do grupo de pacientes em TARV.....	43
Figura 10. Perfis sorológicos identificados do grupo de pacientes virgens de tratamento.....	44
Figura 11. Quadro de representação percentual de indivíduos por grupo de características sorológicas e moleculares analisadas.....	45
Tabela 1. Interpretação dos resultados apresentados pelo equipamento <i>m2000rt</i>	34
Tabela 2. Primers utilizados nos procedimentos da reação de sequenciamento.....	36
Tabela 3. Ciclos de temperatura da Nested- PCR.....	36
Tabela 4. Divisão da população de estudo em faixa etária e sexo.....	39

Tabela 5. Perfis sorológicos identificados no grupo de estudo.....	41
Tabela 6. Amostras com HBV-DNA detectado.....	41
Tabela 7. Amostras que apresentaram HBsAg reagente.....	43
Tabela 8. Amostras de pacientes virgens de tratamento com HBV-DNA detectado.....	44

ÍNDICE

1. Introdução.....	15
1.1 Características estruturais e moleculares do HBV.....	17
1.1.1 Replicação Viral.....	18
1.2 Diagnóstico Laboratorial das infecções pelo HBV.....	20
1.3 Infecção oculta pelo HBV.....	22
1.4 Infecção pelo HBV em pacientes HIV positivos.....	24
1.5 Tratamento de infecções pelo HBV e coinfeções HBV/HIV.....	26
2. Objetivos.....	27
2.1 Objetivo Principal.....	27
2.2 Objetivos Secundários.....	27
3. Material e Métodos.....	28
3.1 Amostragem.....	28
3.2 Sorologia.....	28
3.2.1 Pesquisa de HBsAg.....	29
3.2.2 Pesquisa de anti-HBs.....	29
3.2.3 Pesquisa de anti-HBc Total.....	30
3.2.4 Pesquisa de anti-HBc IgM.....	31
3.3 PCR quantitativo em Tempo Real.....	32
3.3.1 Preparação das amostras.....	32
3.3.2 Reação de Amplificação.....	33
3.3.3 Interpretação dos resultados da PCR em Tempo Real.....	34
3.4 Procedimentos para reação de sequenciamento.....	35
3.4.1 Extração do DNA do HBV.....	35
3.4.2 Nested – PCR.....	35
3.4.3 PCR para Sequenciamento.....	37
3.4.4 Análise das Sequencias para Pesquisa de Resistência.....	38
4. Resultados.....	39
5. Discussão.....	46
6. Conclusões.....	54
7. Referências.....	55

1. INTRODUÇÃO

O processo inflamatório das células hepáticas (hepatócitos) pode ser provocado por diversos fatores, como alterações genéticas, disfunções metabólicas, exposição a agentes infecciosos, medicamentos ou substâncias tóxicas, ocasionando hepatite. Esta doença pode ocasionar a perda de função do tecido hepático, levando a graves complicações à saúde do indivíduo (Pereira et al., 2006a).

A causa mais comum da ocorrência das hepatites é a infecção viral, que pode ser assintomática ou decorrer desde manifestações clínicas inespecíficas, doença hepática aguda autolimitada a infecções crônicas. Cinco tipos distintos de vírus causadores de hepatites foram descritos até o momento sendo A, B, C, D, E. Além desses, outros vírus como o G e as variantes TT e SEN foram relacionados com doenças hepáticas, mas estudos complementares ainda são não necessários para que estas evidências sejam confirmadas (Poovorawan et al., 2002; Fonseca, 2010). Em mais de 80% dos casos, o carcinoma hepatocelular (HCC) está associado com a cirrose hepática, provocada principalmente devido a infecções crônicas por vírus da hepatite B (HBV) e/ou vírus da hepatite C (HCV) (Guyot et al., 2006).

O presente estudo discorre sobre o diagnóstico das infecções por HBV em indivíduos portadores de HIV devido à importância epidemiológica dos casos de coinfeção HIV/HBV.

A infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) é um problema global de saúde pública. Estima-se que mais de dois bilhões de já se infectaram por HBV em todo o mundo e, entre eles, aproximadamente 240 milhões estão cronicamente infectados. Cerca de 780.000 pessoas vêm a óbito todos os anos devido a conseqüências agudas ou crônicas ocasionadas pela infecção por HBV (WHO, 2015a).

A prevalência de infecção pelo HBV no mundo é muito variada. As regiões com maior prevalência desta infecção são a África Subsaariana e a Ásia Ocidental e calcula-se que entre 5-10% da população adulta está cronicamente infectada. No Oriente Médio e Subcontinente Indiano, acredita-

se que 2-5% da população apresente infecção crônica pelo HBV. A prevalência de infecção por HBV na Europa Ocidental e na América do Norte é menor que 1% e na Região da Oceania e América Latina, próximo de 2% (WHO, 2015a; WHO, 2015b).

Em todo o mundo, cerca de 34 milhões de pessoas vivem com HIV. O continente africano (em particular a África Subsaariana) é a região mais afetada, com cerca de 25 milhões de portadores de HIV (WHO, 2015c). Acredita-se que, entre os portadores de HIV, pelo menos 5% estejam coinfectados com HBV (WHO, 2015d).

De acordo com dados do Ministério da Saúde (2012), no período de 1999 a 2011, foram confirmados 120.343 casos de hepatite B no Brasil. A região Sudeste foi responsável por 36,6% dessas notificações (43.673 casos), dos quais aproximadamente 64,6% eram provenientes do estado de São Paulo.

Desde o início da epidemia da infecção pelo HIV no Brasil, até junho de 2015, foram registrados no país 798.366 casos de AIDS (manifestação clínica da infecção por HIV) no Brasil. A distribuição por região, mostra uma maior concentração de casos nas regiões Sudeste e Sul do Brasil, correspondendo a 53,8% e 20,0% do total de casos identificados desde a década de 80 até junho de 2015. As regiões Nordeste, Centro-Oeste e Norte correspondem a 14,6%, 5,9% e 5,7% do total dos casos, respectivamente (Ministério da Saúde, 2015).

No Brasil, entre 2000 e 2011, foram declarados no Sistema de Informação de Mortalidade (SIM) 9.659 óbitos por hepatite B, sendo 5.521 como causa básica e 4.138 como causa associada ao HIV, sendo a maioria dos casos na Região Sudeste (47,3%) (Ministério da Saúde, 2012). Diversos estudos apontam valores muito variados de prevalência para coinfeções HIV/HBV no Brasil. Muitos fatores podem estar relacionados as diferenças nas estimativas, como regiões geográficas, grupos de risco, modos de transmissão e tipo de exposição (Alter et al., 2006).

Coinfeções entre HBV e HIV são frequentes, devido às suas características epidemiológicas semelhantes e por terem as mesmas vias de

transmissão. A infecção por HIV pode ser um fator de risco para a infecção por HBV. O diagnóstico para infecção por HBV em pacientes identificados como HIV positivos tem grande importância terapêutica, principalmente se realizado antes da terapia antirretroviral (Chu, 2006).

A progressão da hepatite B crônica para doenças hepáticas graves, como cirrose e HCC, é mais rápida em indivíduos portadores de HIV do que naqueles que apresentam apenas HBV, o que pode representar aumento em índices de mortalidade relacionados a doenças hepáticas (Thio et al., 2013).

Existem casos de infecção por HBV em que o antígeno de superfície (HBsAg) não é detectado, porém o HBV-DNA está detectável no soro ou plasma, caracterizando infecção oculta pelo vírus da hepatite B (OBI). Essa situação pode ocorrer tanto em infecções por variantes do HBV como por supressão de resposta imune, como em indivíduos infectados por HIV (Thio, 2010; De La Fuente et al., 2011).

1.1 Características estruturais e moleculares do HBV

O vírus da Hepatite B é membro protótipo da família *Hepadnaviridae*, gênero *Orthohepadnavirus*. Neste gênero também estão incluídos os vírus causadores de hepatite B em diversos mamíferos como macacos, esquilos, marmotas e morcegos. Os hepadnavírus se replicam em hospedeiros específicos, apesar de muitos estudos sugerirem a transmissão e recombinação entre as diferentes espécies (Bonvicino et al, 2014).

A partícula viral HBV apresenta 42 nm de diâmetro e é constituída de fita parcialmente dupla de DNA, sendo uma fita longa ou L (-) e uma curta (+). O genoma possui aproximadamente 3,2 kb e utiliza sua informação genética para codificar proteínas e seus elementos regulatórios. Apresenta quatro fases de leitura aberta, “open read frames” (ORFs), denominadas pré-S/S, pré-C/C, polimerase (P) e X (Galli et al., 2008; Kao, 2011). O HBV é composto por três proteínas (S, L e M) que contituem o antígeno de superfície (HBsAg), um antígeno interno do “core” (HBcAg), onde localiza-se o ácido nucléico e, também, o antígeno solúvel (HBeAg), liberado em grandes concentrações

durante a replicação viral (Seeger e Mason, 2000; Kwon e Lee, 2011) (Figura 1).

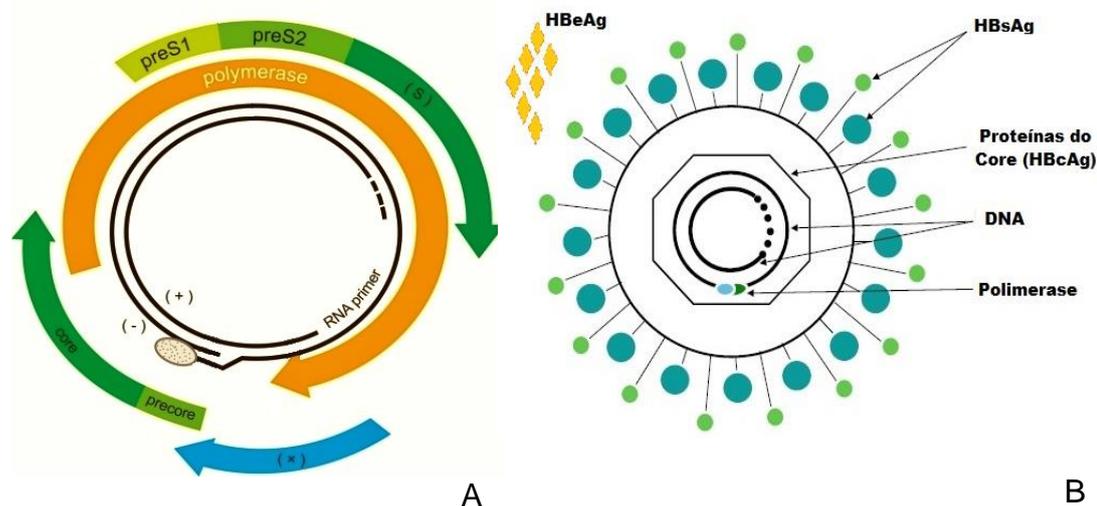


Figura 1. (A) Fases de leitura ORFs do HBV; (B) Antígenos do HBV (Chen,2008; Kao, 2011)

Devido a erros da transcriptase reversa, o genoma do HBV apresenta altas taxas de substituição de nucleotídeos durante sua replicação. Este fato é grande responsável por mutações pontuais, deleções e inserções observadas no genoma do HBV, proporcionando a existência dos vários genótipos, subgenótipos, mutantes, recombinantes e quasispécies (Kao, 2011).

Recentemente, Besharat e colaboradores (2014) investigaram diversas possibilidades de mutações do genoma do HBV, tanto as comuns como esporádicas e concluíram que as mutações são potenciais fatores associados ao estado oculto da infecção pelo HBV, uma vez que os vírus mutantes podem não ser detectados em ensaios laboratoriais de rotina.

1.1.1 Replicação Viral

A replicação do HBV ocorre especificamente nos hepatócitos. Diversos estudos têm descrito direcionadores e determinantes virais

altamente eficazes que direcionam o vírus aos hepatócitos, porém esse mecanismo ainda não é totalmente conhecido (Rodriguez-Farias et al., 2013; Schieck et al, 2013).

Os Hepadnavírus se replicam através da transcrição reversa de um RNA intermediário, o RNA pré-genômico (pgRNA). Apesar de realizar a transcrição reversa, os Hepadnavírus diferem dos retrovírus por terem em seu genoma DNA e não RNA (Rodriguez-Farias et al., 2013).

Os vírions infecciosos contêm no seu núcleo um genoma de fita parcialmente dupla de DNA, sendo uma fita longa ou L (-) e uma curta (+), circular, mas não covalentemente fechado (“relaxed circular” DNA ou RC-DNA). O RC-DNA é então convertido, no núcleo da célula hospedeira, em um DNA circular covalentemente fechado (“covalently closed circular DNA” ou cccDNA). A partir do cccDNA, diversos RNA genômicos e subgenômicos são transcritos pela RNA polimerase, inclusive o pgRNA, que é encapsulado e reversamente transcrito pela proteína P em novos genomas RC-DNA. Consequentemente, o RC-DNA pode tanto ser utilizado para amplificação do cccDNA intracelular ou ser envelopado e liberado da célula como novas partículas infecciosas (Beck e Nassal, 2007). A figura 2 representa de forma simplificada a replicação do HBV.

Devido a ser o modelo para a transcrição do HBV, o cccDNA é necessário para a manutenção da infecção. Por ser muito estável, o cccDNA é responsável pela persistência da infecção durante o curso natural da infecção crônica pelo HBV, mesmo frente a terapias antirretrovirais prologadas (Quasdorff e Protzer, 2010). Pouco se sabe sobre o mecanismo de manutenção do cccDNA no núcleo dos hepatócitos. No entanto, tem sido demonstrado que essas partículas podem ser eliminadas quando hepatócitos infectados são removidos pela morte mediada por células imunes (Zhang et al., 2003; Lutgehetmann et al., 2010).

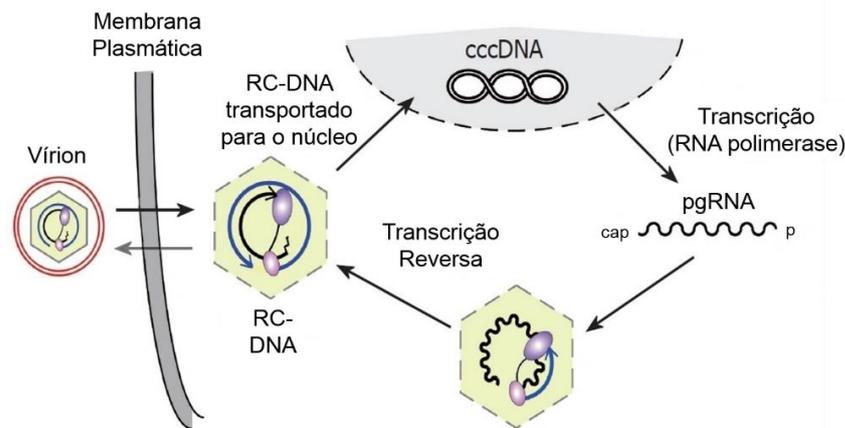


Figura 2: Representação da replicação do HBV. Adaptado de Beck e Nassal, 2007

1.2 Diagnóstico Laboratorial das infecções pelo HBV

O diagnóstico laboratorial da Hepatite B é realizado principalmente através da detecção de antígenos e anticorpos. A fase inicial (aguda) da infecção pelo HBV é comumente diagnosticada pela presença de antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) e anticorpos contra o antígeno do “core” da hepatite B (anti-HBc IgG e IgM). Anti-HBc geralmente aparece na fase aguda da infecção pelo HBV e persiste por um longo tempo (Sablon & Shapiro, 2005). A infecção crônica pode ser identificada pela persistência HBsAg no soro do indivíduo por 6 meses ou mais (Allain et al, 1999; Seeger & Mason, 2000; Sucupira et al, 2006). O HBeAg é um antígeno que indica a replicação viral, detectado na infecção aguda, que pode ser confirmada pela presença de HBV-DNA. Assim como o HBeAg, o anti-HBe é importante no monitoramento e prognóstico da doença. Os marcadores sorológicos são os elementos que permitem a confirmação de hepatite B, avaliam infecções agudas e determinam a sua possível evolução para a cronicidade (Galli et al, 2008; Sablon e Shapiro, 2005) (Figura 3). A quantificação de DNA viral é realizada durante o tratamento, assim como para avaliar o prognóstico da doença.

Entre os portadores crônicos do HBsAg, a presença do HBeAg pode indicar alta replicação viral. Porém, em casos de mutação pré-core, a

pesquisa de HBeAg pode apresentar resultado negativo. Geralmente, a presença do anti-HBe indica soroconversão do HBeAg, mas sabe-se que o anti-HBe é também detectado entre portadores do mutante pré-core. Desta forma, indivíduos HBeAg negativos podem apresentar alta replicação mesmo na presença do anti-HBe. Nestas situações, a detecção do HBV-DNA pode ser uma importante ferramenta para o diagnóstico de infecção ativa pelo HBV (Fonseca, 2007). No histórico das infecções pelo HBV, apesar de os perfis sorológicos terem padrões definidos, algumas vezes os marcadores podem surgir de forma diferenciada ou atípica.

Desta forma, tanto a sorologia quanto a biologia molecular revelam-se fundamentais não apenas para o diagnóstico, mas também no seguimento da infecção viral e na avaliação do estado clínico do paciente.

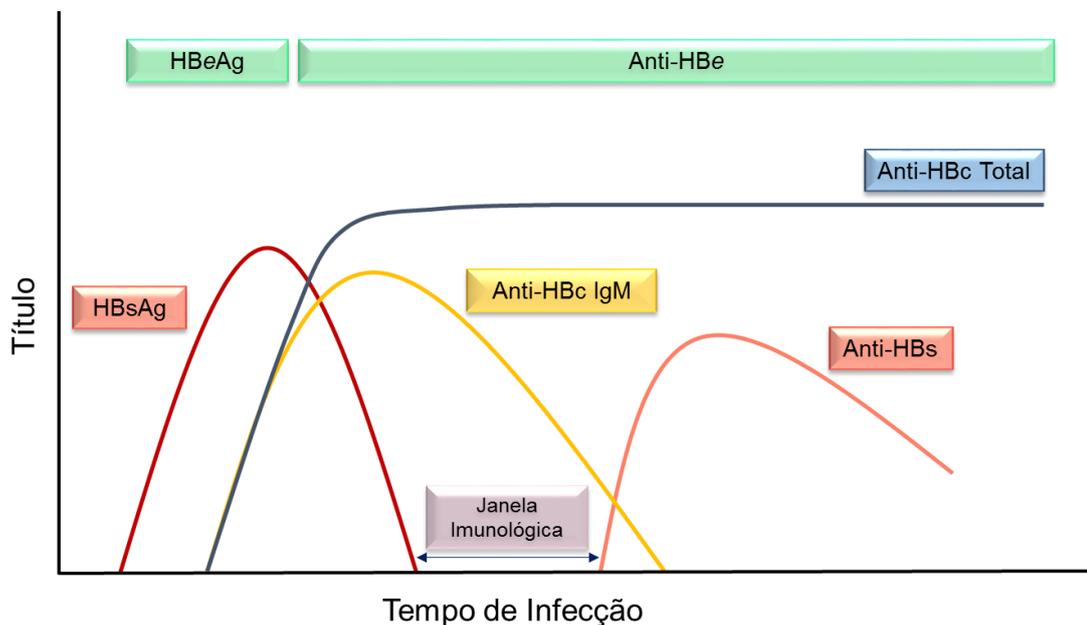


Figura 3: Representação do comportamento de antígenos e anticorpos durante infecção por HBV e janela imunológica pré-soroconversão HBsAg/Anti-HBs.

1.3 Infecção oculta pelo HBV

A infecção oculta pelo vírus da hepatite B (OBI) é um dos temas mais desafiadores no campo das hepatites virais. Contudo, vários aspectos da infecção oculta por HBV necessitam de um consenso, incluindo a própria definição, bem como um método padrão para a detecção baseada em laboratório (Raimondo et al., 2008).

De acordo com Gerlich (2013), após infecção por HBV, segue uma fase de latência de várias semanas sem marcadores detectáveis. Posteriormente HBV-DNA e HBsAg podem aumentar exponencialmente no soro. No período entre a negatização do antígeno de superfície (HBsAg) e surgimento do anti-HBs (janela imunológica) o anti-HBc pode ser o único marcador de infecção positivo. Desta forma, o anti-HBc IgM é o marcador que permite diagnosticar uma infecção aguda durante a fase pré-soroconversão. Mesmo com HBsAg indetectável no soro, o HBV-DNA pode permanecer detectável em concentrações muito baixas. Desta forma, o declínio de HBsAg não deve ser o único teste a ser considerado como sinal de resolução da infecção, pois o vírus muitas vezes permanece de forma oculta nos hepatócitos (Figura 4).

A Associação Europeia para os Estudos do Fígado (*European Association for the Study of The Liver – EASL*), durante um workshop internacional sobre infecção oculta pelo HBV na Itália, em 2008, realizou extensas discussões que permitiram revisar a virologia e imunologia da OBI e o seu diagnóstico. A epidemiologia das infecções ocultas também foi discutida, permitindo melhor avaliação dos riscos de transmissão por transfusão de sangue, transplante de fígado, risco de reativação, condições de imunossupressão, importância potencial na progressão da hepatite crônica e o seu possível papel no desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (HCC). A sessão final da reunião centrou-se na discussão entre os membros do corpo docente, que produziu uma série de declarações e recomendações que são hoje utilizadas no meio científico (Raimondo et al., 2008; 2010).

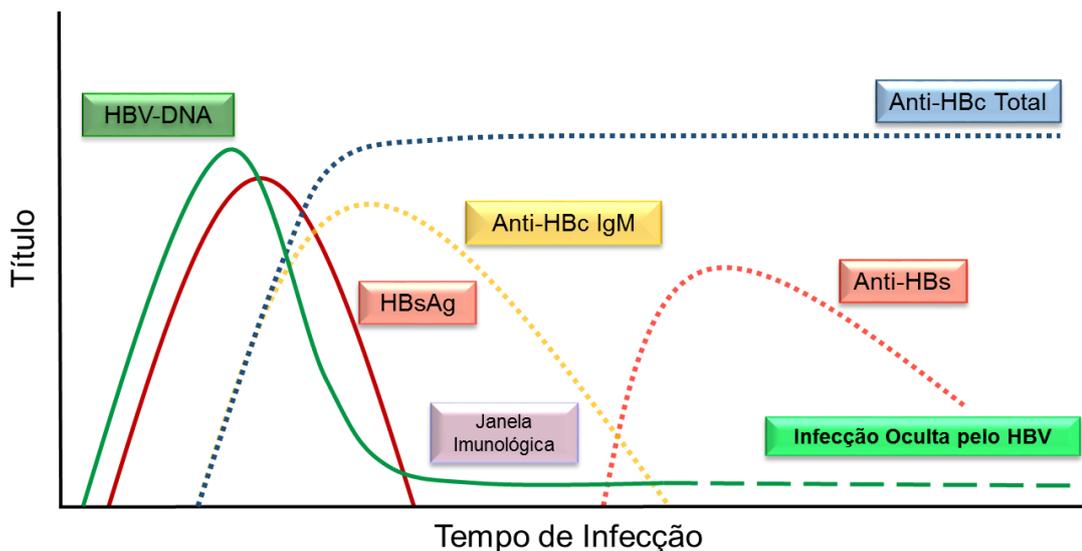


Figura 4: Infecção oculta pelo HBV: não coincide com janela imunológica; anti-HBs e anti-HBc total podem estar ou não detectáveis; HBV-DNA detectável em baixas concentrações.

Com base no perfil de anticorpos para HBV, Raimondo e colaboradores (2008) distinguem a OBI em:

- **OBI-soropositiva:** HBsAg negativo; anti-HBc e/ou anti-HBs positivos
- **OBI-soronegativa:** HBsAg, anti-HBc e anti-HBs negativos

Indivíduos com OBI-soronegativa podem ter perdido progressivamente os anticorpos específicos ou os indivíduos podem não ter desenvolvido estes anticorpos desde o início da infecção. Nas OBI-soropositivas, o HBsAg sérico pode tornar-se negativo ao término da fase aguda da doença (meses após serem portadores de HBsAg) ou após anos de hepatite B crônica HBsAg positivo (Penna et al., 1996; Huo et al., 1998) (Figura 5).

Observa-se OBI em indivíduos anti-HBc positivos com infecção crônica pelo HBV, após o declínio de HBsAg para um nível indetectável pelos métodos comumente utilizados, o que às vezes está associado com o aparecimento subsequente do anti-HBs (Said, 2011). A OBI é caracterizada pela presença de HBV-DNA no fígado (com HBV-DNA detectado ou não no soro) em indivíduos negativos para HBsAg. Quando detectável, o HBV-DNA no soro é geralmente muito baixo, ou seja, inferior a 200 UI/mL.

Michalak et al., em 2004, descreveram um modelo de infecção pelo Vírus da Hepatite da Marmota (WHV), que pode envolver apenas o sistema linfático e não necessariamente o tecido hepático. Esta situação pode persistir com ausência de marcadores sorológicos para o vírus, incluindo os anticorpos antivirais. Nesta mesma investigação, após inoculação do WHV em diversas concentrações em animais experimentais saudáveis, os autores sugerem que a baixa carga viral pode ocasionar esta infecção estritamente linfática, caracterizando infecção oculta primária.

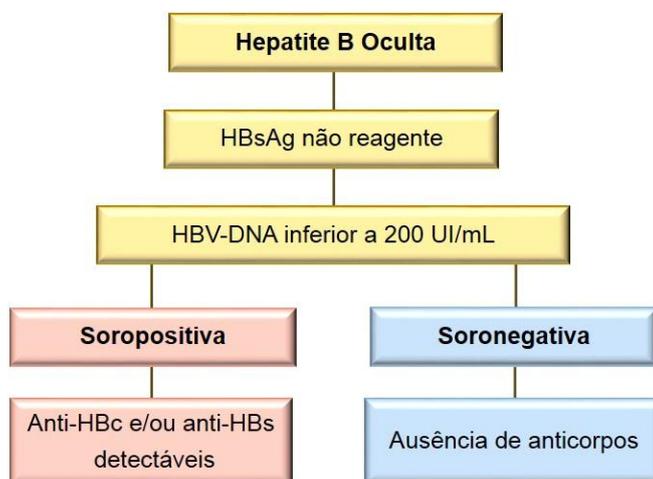


Figura 5: Infecções ocultas pelo HBV soropositivas e soronegativas.

A infecção pelo HBV não é considerada oculta se os níveis de HBV-DNA são comparáveis àqueles geralmente detectados em uma infecção sorologicamente evidente. Nestes casos, é possível que o teste sorológico não tenha detectado de forma satisfatória o HBsAg. Desta forma, recomenda-se o uso anticorpos anti-HBs multivalentes nos ensaios de detecção de HBsAg, permitindo melhor identificação das possíveis variantes do gene S (Bréchet et al, 2001; Torbenson e Thomas, 2002; Raimondo et al., 2008; 2013).

1.4 Infecção pelo HBV em pacientes HIV positivos

Considerando que o HIV e o HBV compartilham as mesmas vias de transmissão, a coinfeção HIV/HBV é comumente observada (Li et al., 2012). Há algumas evidências de que contagens baixas de células T-CD4 aumentam o risco de HCC em coinfectados, mas o mecanismo ainda permanece desconhecido. Foi observado que essas coinfeções tendem a aumentar a morbidade e a mortalidade em comparação aos casos de monoinfeção HIV ou HBV (Thio, 2010).

A progressão da hepatite B crônica para cirrose, HCC e doenças hepáticas para estágio terminal é mais rápida em indivíduos portadores de HIV do que naqueles que apresentam apenas HBV, o que representa significativo aumento nas taxas de mortalidade relacionadas a doenças hepáticas (Thio et al., 2013).

Células T-CD4 contribuem para o controle da infecção por HBV, facilitando a indução e manutenção da resposta imune específica (células B). Alguns estudos demonstram que infecções por HIV estão associadas a baixa resposta imune de linfócitos HBV-específicos. Nos pacientes virgens de tratamento, a resposta HBV-específica é mais baixa em coinfectados do que nos HBV-monoinfectados (Chisari et al., 2010; Thio, 2010).

Antes da introdução da terapia antirretroviral (TARV), na maioria dos indivíduos coinfectados HIV/HBV os óbitos ocorriam mais devido a complicações clínicas pelo HIV do que HBV (Burnett et al., 2005). Com a introdução da TARV, o perfil da doença sofreu mudanças, com aumento na proporção de mortalidade atribuída ao HBV (Thomas, 2006). Coinfeções HBV/HIV podem impactar sobre a segurança e eficácia da TARV, exigindo abordagem integrada para a gestão adequada dos indivíduos coinfectados (Soriano et al., 2006).

Em pacientes coinfectados tem sido observada associação entre a baixa contagem de CD4 e OBI, mas os mecanismos que influenciam diretamente na ocorrência de OBI mediante baixa contagem CD4 ainda são desconhecidos. Com a TARV é possível promover a adequação dos níveis de CD4, porém mesmo diante de contagens normais dessas células, a doença hepática por HBV pode progredir. Este fato indica que, além da contagem de

CD4, outros fatores devem ser considerados frente a progressão da doença hepática (Li et al., 2012). Desta forma, a infecção por HIV é considerada fator de risco para o desenvolvimento de infecção oculta por HBV (Mphahlele et al., 2006).

1.5 Tratamento de infecções pelo HBV e coinfeções HBV/HIV

Este tópico discorre a partir das informações que constam no Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para o Tratamento da Hepatite Viral Crônica B e Coinfeções do Ministério da saúde (2011b).

De acordo com o Protocolo supracitado, são indicados interferon-alfa, interferon-alfa peguilado, lamivudina, tenofovir, entecavir e adefovir, para o tratamento da hepatite viral crônica B e coinfeções com agente Delta, HCV e HIV.

De forma geral, a TARV em coinfeções HBV/HIV tem sido estruturada com tenofovir e a lamivudina como principais nucleosídeos, pois parecem diminuir o risco de progressão para cirrose e HCC, uma vez que agem tanto no controle do HIV como do HBV. Outras drogas, como efavirenz e ritonavir também podem ser utilizadas no auxílio do tratamento. A principal recomendação é optar pelo início precoce da TARV, principalmente em indivíduos com baixas contagens de T-CD4 (<350 células/mm³) ou que desenvolveram cirrose hepática.

O principal objetivo do tratamento das infecções pelo HBV, principalmente diante de coinfeções, é reduzir o risco de progressão da doença hepática para formas graves e, desta forma, reduzir o número de óbitos ocasionados pelo agravamento desta infecção. Desta forma, a avaliação de níveis séricos das enzimas hepáticas e marcadores sorológicos associados com a pesquisa e quantificação do HBV-DNA, permitem o monitoramento da resposta sustentada dos pacientes diante do tratamento, que busca a negatificação dos marcadores de replicação viral.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Principal

- Identificar infecção pelo vírus da hepatite B em indivíduos HIV positivos em um grupo de pacientes atendidos no SUS.

2.2 Objetivos Secundários

- Verificar a ocorrência de hepatite B oculta em pacientes portadores de HIV sem tratamento com antirretrovirais.
- Estimar a prevalência de coinfeções HBV/HIV neste grupo de estudo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostragem

- **Critério de inclusão:** pacientes portadores de HIV que estivessem ou não em tratamento antirretroviral, mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 1).

- **Critérios de exclusão:** pacientes que não aceitaram participar do estudo.

As amostras utilizadas eram provenientes de pacientes portadores de HIV atendidos pelo Serviço de Extensão ao Atendimento de Pacientes HIV/Aids (SEAP), que durante o período do estudo (junho de 2013 a maio de 2014) estavam sendo atendidos e acompanhados no Instituto de Infectologia Emilio Ribas (IIER). De cada paciente foram colhidos dois tubos de sangue de 4 mL contendo EDTA, para obtenção de plasma.

Para a realização do estudo, o projeto foi aprovado quanto ao mérito científico e ética em pesquisa nos comitês de ética do Instituto Adolfo Lutz, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Anexo 2).

Dados complementares dos pacientes como contagem de TCD4 e TCD8, idade e carga viral para HIV foram pesquisados nos prontuários através do Sistemas SI3 (IIER) e a pesquisa de tratamento com antirretrovirais no SICLOM (Sistema de Controle Logístico de Medicamentos).

3.2 Sorologia

Foram realizadas pesquisas do antígeno HBsAg e anticorpos (Anti-HBs e Anti-HBc Total) e, posteriormente, todas as amostras foram submetidas à PCR quantitativa em Tempo Real para o HBV no Núcleo de Doenças Sanguíneas e Sexuais do Instituto Adolfo Lutz (IAL). Somente amostras com suspeita de infecção oculta pelo HBV foram testadas para anti-HBc IgM.

As amostras que apresentaram HBV-DNA detectado foram submetidas ao teste de sequenciamento para pesquisa de mutações e resistência a antirretrovirais para o HBV.

3.2.1 Pesquisa de HBsAg

A pesquisa do HBsAg foi feita utilizando-se o teste comercial DiaSorin Murex HBsAg Version 3 S.p.A (Saluggia-Vercelii, Itália)

O ensaio imunoenzimático para a detecção do antígeno de superfície do HBV (HBsAg) é um método direto baseado na técnica de ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) e foi realizado de acordo com as instruções do fabricante.

Neste ensaio, as amostras foram pré-incubadas em micropoços revestidos com anticorpos anti-HBs monoclonais de camundongos, específicos para diferentes epitopos do HBsAg. Anticorpos de cabra anti-HBs conjugados com peroxidase de rábano foram adicionados aos poços, com posterior incubação. Após as 2 incubações, o HBsAg presente na amostra fixou-se ao poço, formando um complexo anticorpo-antígeno-enzima-anticorpo. Na ausência de antígeno, não houve formação do complexo. Após lavagem para remoção de amostras e conjugados não ligados, foi adicionada uma solução contendo 5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) e peróxido de hidrogênio. Os orifícios nos quais as amostras apresentaram HBsAg, e conseqüentemente, ligação do conjugado, desenvolveram cor violeta. Após interrupção da reação com ácido sulfúrico, a reação permaneceu cor de laranja. A leitura da absorbância foi realizada em leitora automática. O limite de detecção do teste, de acordo com os padrões da Organização Mundial da Saúde, é de 0,09 UI/mL.

3.2.2 Pesquisa de anti-HBs

A pesquisa do anti-HBs foi feita utilizando-se o teste comercial ETI-AB-AUK-3 DiaSorin S.p.A. (Saluggia-Vercelii, Itália).

O método para a determinação dos anticorpos anti-HBs é um teste direto, não competitivo, baseado na técnica de ELISA, em que os micropoços são revestidos de HBsAg. Todo o ensaio foi realizado de acordo com as instruções do fabricante.

As amostras e controles passaram por vários ciclos de incubação, inicialmente com diluente de amostras e depois com conjugado enzimático (HBsAg humano associado à peroxidase de rábano). A última incubação ocorreu após adição do substrato cromógeno (TMB) em todos os poços. A interrupção da reação foi feita com adição de ácido sulfúrico. A leitura da absorbância foi realizada em leitora automática.

A presença de anticorpos anti-HBs permitiu que o conjugado enzimático se ligasse à fase sólida e a atividade enzimática foi proporcional à concentração de anticorpos anti-HBs presentes nas amostras e controles. Uma concentração de 10 UI/L é o limite de imunidade clinicamente reconhecido (concentração mínima suficiente para a proteção). Por este motivo, a absorbância média do calibrador a 10 UI/L foi escolhida como valor limite analítico (de *cut-off*) do dispositivo.

3.2.3 Pesquisa de anti-HBc Total

A pesquisa do anti-HBc Total foi feita utilizando-se o teste comercial ETI-AB-COREK PLUS DiaSorin S.p.A. (Saluggia-Vercellii, Itália)

Trata-se de um teste imunoenzimático competitivo, baseado na utilização de micropoços revestidos com anticorpos monoclonais anti-HBc de camundongos. Um conjugado enzimático, constituído por anticorpos humanos anti-HBc conjugados com peroxidase de rábano, detecta qualquer complexo HBcAg/anti-HBc capturado. O ensaio foi realizado de acordo com as instruções do fabricante.

No ensaio, as amostras ou controles e o HBcAg contido na solução de neutralização foram incubados com o tampão de incubação nos poços revestidos com anticorpo. Anticorpos anti-HBc totais presentes na amostra ou controle, competiram com anticorpos revestidos no poço para o HBcAg

recombinante. Anticorpos e amostras em excesso na reação foram removidos com ciclos de lavagem. Foi adicionado o conjugado e, após incubação, efetuada a leitura da absorbância.

A quantidade de conjugado enzimático ligado na fase sólida através do HBcAg recombinante e a consequente atividade enzimática indicaram de maneira inversamente proporcional os anticorpos anti-HBc totais presentes na amostra e controles. O limite de detecção de acordo com os padrões Paul-Ehrlich-Institut é de 0,5 U PEI/mL.

3.2.4 Pesquisa de anti-HBc IgM

A pesquisa de anti-HBc IgM foi realizada com o kit comercial Anti-HBc IgM Cobas® – Roche Diagnostics (Mannheim, Alemanha). Este é um ensaio de eletroquimioluminescência, baseado no princípio de captura, é utilizado na pesquisa qualitativa de anticorpos contra o antígeno central do HBV (core). Todos os procedimentos foram realizados de acordo com instruções do fabricante.

Neste ensaio, as amostras foram tratadas com reagente anti-IgG humano, para bloquear IgG específicos. Às amostras tratadas, foram adicionados anticorpos anti-IgM humanos monoclonais biotinilados (anti-IgM-biotina), HBcAg marcados com rutênio (HBcAg-rutênio) e micropartículas revestidas de estreptavidina.

Anticorpos anti-HBc IgM presentes na amostra reagiram com HBcAg-rutênio e Anti-IgM-biotina, formando um complexo “sanduíche”. Este complexo se ligou à fase sólida (micropartículas) pela interação da biotina com a estreptavidina. A mistura de reação foi aspirada para a célula de leitura, onde as micropartículas foram fixadas magneticamente a um eletrodo e elementos não ligados são removidos. A aplicação de uma corrente elétrica ao eletrodo induziu uma emissão quimioluminescente, medida por um fotomultiplicador. Os resultados foram determinados automaticamente comparando o sinal de eletroquimioluminescência obtido do produto de reação da amostra com o sinal do valor de cut-off obtido pela calibração do

ensaio. O limite de detecção de acordo com os padrões Paul-Ehrlich-Institut é de 3 U PEI/mL.

3.3 PCR quantitativo em Tempo Real

Os testes de PCR em Tempo Real foram realizados com os reagentes Abbott RealTime HBV (Des Plaines, IL, USA). Este ensaio consiste em uma reação em cadeia pela polimerase (PCR) para quantificação do DNA do vírus da hepatite B em plasma ou soro de indivíduos com infecção por HBV. A PCR quantitativa em Tempo Real é designada para o uso em conjunto com outros marcadores de laboratório como indicador de prognóstico da doença e como auxiliar na avaliação da resposta viral a tratamentos antirretrovirais.

O ensaio Abbott RealTime HBV usa tecnologia PCR combinada com a detecção fluorescente de tempo real do alvo detectado. A seleção de uma região altamente conservada no gene de superfície (S) propicia a detecção dos genótipos de A a H, além de mutantes virais HBsAg e resistência a drogas.

As instruções do fabricante informam que o ensaio foi padronizado de acordo com as diretrizes do Padrão Internacional para DNA do vírus da hepatite B da Organização Mundial da Saúde (Saldanha et al, 1999). Os resultados são informados em Unidades Internacionais por mililitro (UI/mL).

3.3.1 Preparação das amostras

A preparação de amostras foi realizada de acordo com instruções do fabricante, sendo necessário 1 mL de cada amostra (sendo 500 µL utilizados na reação e 500 µL de volume de segurança). Os reagentes incluídos no sistema de preparo Abbott *mSample Preparation System*_{DNA}[®] foram:

- *mWhash 1*_{DNA}
- *mWhash 2*_{DNA}
- *mMicroparticles*_{DNA}
- *mLysis*

- Proteinase K
- Controle Interno

O propósito da preparação foi extrair e concentrar o DNA alvo para torná-lo acessível à amplificação. Este processo foi realizado no equipamento *m2000sp*, um sistema automatizado de processamento de amostras.

Os reagentes do sistema de preparação Abbott *mSample Preparation System_{DNA}*[®] romperam as partículas virais e expuseram seu material genético, que foi capturado e lavado para remoção de componentes não ligados da amostra. Os ácidos nucleicos ligados foram eluídos e transferidos para uma placa de 96 orifícios profundos. O IC foi introduzido no procedimento de preparação das amostras e foi processado também junto aos calibradores e controles.

3.3.2 Reação de Amplificação

A reação de amplificação foi realizada de acordo com instruções do fabricante. Os reagentes incluídos no sistema de amplificação Abbott *RealTime HBV Amplification Reagent Kit*[®] são compostos por uma mistura de reagentes, divididos em três frascos, sendo:

- Frasco 1: Amplitaq Gold Enzyme em solução tamponada com estabilizantes
- Frasco 2: oligonucleotídeos (4 primers e 3 sondas) e dNTPs em solução tamponada
- Frasco 3: cloreto de magnésio em solução tamponada.

O objetivo desta reação foi gerar um produto amplificado do genoma do HBV em amostras clínicas a partir de uma reação de PCR. A quantidade de sequência alvo de HBV que estava presente em cada ciclo de amplificação foi medida através de um marcador fluorescente (oligonucleotídeo específico) ligado ao produto amplificado. O ciclo de amplificação ao qual o sinal fluorescente foi detectado era inversamente proporcional ao registro da concentração de DNA presente na amostra original. Uma sequência de DNA sem conexão com a sequência alvo do HBV foi introduzida em cada amostra

no início da preparação. Esta sequência de DNA foi simultaneamente amplificada por PCR e serviu como um controle interno (IC) para demonstrar que a reação procedeu corretamente para cada amostra (Abbott RealTime HBV®, 2010).

Após a extração de ácido nucleico das amostras, controles e, eventualmente, dos calibradores, o equipamento *m2000sp* preparou um “mix” de reagentes de amplificação e transferiu para uma placa de 96 orifícios. O produto de cada extração também foi transferido para a mesma placa. Esta placa foi selada com adesivo óptico e introduzida no equipamento de leitura Abbott *m2000rt*.

3.3.3 Interpretação dos resultados da PCR em Tempo Real

A concentração de DNA do HBV em uma amostra ou controle foi calculada a partir de uma curva padrão. O instrumento Abbott *m2000rt* informou automaticamente os resultados, em UI/mL. A Tabela 1 apresenta os possíveis resultados deste teste e as interpretações.

Tabela 1: Interpretação dos resultados apresentados pelo equipamento *m2000rt*

Resultado <i>m2000rt</i>	Interpretação	Descrição
Não detectado	Alvo não detectado	DNA do HBV não detectado na amostra testada
Inferior a 10 UI/mL	Alvo Detectado	Resultado calculado está abaixo do limite inferior de quantificação
Entre 10 UI/mL e 10 ⁹ UI/mL	Alvo Detectado	Resultado calculado está dentro do intervalo linear do ensaio
Superior a 10 ⁹ UI/mL	Alvo detectado	Resultado calculado acima da faixa linear do ensaio

3.4 Procedimentos para reação de sequenciamento

3.4.1 Extração de DNA do HBV

A extração do DNA viral foi realizada utilizando-se o kit comercial QIAamp® DNA Blood Mini Kit, Qiagen (Germantown, Maryland, USA), de acordo com as instruções do fabricante. Foram utilizados 200 µL de plasma neste procedimento. Durante o processo de extração foram realizadas diversas centrifugações em mini colunas contendo membrana de sílica, com o uso dos seguintes reagentes:

- Proteinase K
- Buffer AL
- Etanol
- Buffer W1
- Buffer W2
- Buffer AE

Todo o procedimento teve como objetivo a exposição e a purificação do DNA viral presente na amostra. Todos os protocolos continham duas amostras, uma positiva e outra negativa para o HBV, para controle do procedimento.

3.4.2 Nested – PCR

As amostras extraídas foram testadas pela Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) em duas etapas, com o propósito de identificar produtos de PCR para posterior genotipagem do HBV.

Na primeira etapa da PCR, 10 µL do produto da extração foram adicionados aos tampões (MgCl₂, dNTPs, Buffer 10x), água ultrapura, Taq e 2 primers específicos para regiões S e Pol do vírus da hepatite B e submetidos ao ciclo de temperaturas em termociclador para amplificação do DNA. Após a primeira ciclagem, 10 µL do produto amplificado foi adicionado a outra “mix” de tampões (MgCl₂, dNTPs, Buffer 10x), água ultrapura, Taq e outros 2

primers, também específicos para regiões S e Pol e também submetidos aos ciclos de temperatura em termociclador (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2: Primers utilizados nos procedimentos da reação de sequenciamento

Identificação do primer	Sequência
1ª etapa da PCR	
HBS1F (F) (20pmol/μL)	GAG TCT AGA CTC GTG GAC TTC
L840 (R) (20pmol/μL)	ACC CCA TCT TTT TGT TTT GTT AAG
2ª etapa da PCR	
HBS2F (F) (20pmol/μL)	CGT GGT GGA CTT CTC TCA ATT TTC
3'LAMI 2 (R) (20pmol/μL)	GTT TTG TTA GGG TTT AAA TG
PCR para Sequenciamento	
HBS2F (F) (2pmol/μL)	CGT GGT GGA CTT CTC TCA ATT TTC
3' LAMI 2 (R) (2pmol/μL)	GTT TTG TTA GGG TTT AAA TG

F: forward; R: reverse

Tabela 3: Ciclos de temperatura da Nested- PCR

1ª etapa da PCR			2ª etapa da PCR		
Ciclos	Temperatura	Tempo	Ciclos	Temperatura	Tempo
1	94°C	1 minuto	1	94°C	1 minuto
35	94°C	1 minuto	35	94°C	1 minuto
	56°C	1 minuto		50°C	1 minuto
	72°C	1 minuto		72°C	1 minuto
1	72°C	7 minutos	1	72°C	7 minutos

O produto final da Nested – PCR foi identificado por eletroforese em gel de agarose (2%) preparado com tampão TAE 1x e SYBR® Safe DNA Gel Stain, incluindo os controles positivos e negativos de extração/amplificação. Após este procedimento, foram verificadas as bandas dos produtos amplificados no gel e, por semelhança, identificadas no padrão do DNA Mass Ladder, também aplicado no gel (Figura 6). O limite mínimo de detecção deste teste é de 300 cópias/mL (aproximadamente 57 UI/mL).

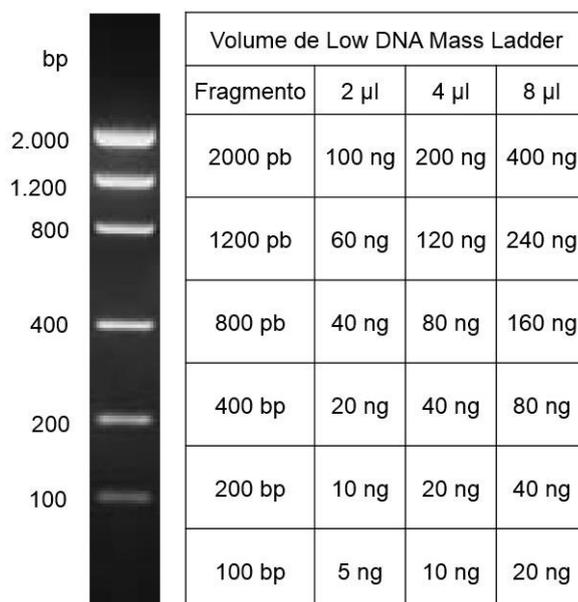


Figura 6: Representação do controle Low DNA Mass Ladder de acordo com o volume de amostra e padrão utilizados. Adaptado de Invitrogen™ Life Technologies™.

3.4.3 PCR para Sequenciamento

Antes de iniciar os procedimentos do sequenciamento, os produtos identificados e quantificados na Nested – PCR foram diluídos para obtenção de melhores resultados. A diluição ideal que foi utilizada fica entre 3ng/2µL e 5ng/2µL.

Assim como na Nested – PCR, foi realizada mix de reagentes, utilizando o PCR Mix BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit, Life

Technologies™ (Foster City, CA, USA) de acordo com as instruções do fabricante. Para cada amostra positiva, foram utilizados dois primers em reações distintas (F e R), como alvo das regiões S e Pol do HBV. Após a ciclagem, a placa contendo os produtos de amplificação foi submetida à precipitação para sequenciamento pelo método Etanol/EDTA/Acetato de Sódio (BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit, de acordo com as instruções do fabricante). Após a precipitação, o produto foi ressuspendido com Formamida HI-DI (Life Technologies™) e submetido a equipamento Sequenciador ABI 3130xl (Life Technologies™).

3.4.4 Análise de Sequências para Pesquisa de Resistência

A sequência obtida foi submetida às ferramentas e banco de dados online Genotyping (NCBI) e HBVseq (Stanford University) para identificação do genótipo e pesquisa de resistência a antirretrovirais.

4. RESULTADOS

O estudo foi realizado com 232 pacientes, dos quais 202 estavam em tratamento com antirretrovirais (TARV) e 30 eram virgens de tratamento (naïve). Participaram 154 pacientes do sexo masculino e 78 do sexo feminino. A média de idade de todo o grupo de pacientes foi de 48,7 e a mediana de 50 anos. Do sexo masculino, a faixa etária com maior número de participantes foi de 40 a 49 anos, com 53 pacientes. O maior número de pacientes do sexo feminino encontrava-se na faixa dos 50 a 59 anos, sendo 31 pacientes (Tabela 4).

Tabela 4: Divisão da população de estudo em faixa etária e sexo

Faixa Etária (anos)	Sexo		Total
	Masculino	Feminino	
20-29	11	1	12
30-39	14	8	22
40-49	53	27	80
50-59	52	31	83
60-69	21	10	31
≥70	3	1	4
Total	154	78	232

A pesquisa de HBsAg, anti-HBc e Anti-HBs foi realizada em todas as amostras. Do total, 152 (65,5%) pacientes apresentaram marcadores sorológicos para hepatite B, sendo que anti-HBs foi reagente em 121 amostras (52,1%), Anti-HBc Total em 82 (35,3%) e HBsAg em 7 (3%). Estes marcadores apareceram tanto de forma isolada como associados (Figura 7). Os outros 80 pacientes (34,5%) não apresentaram nenhum dos marcadores sorológicos testados.

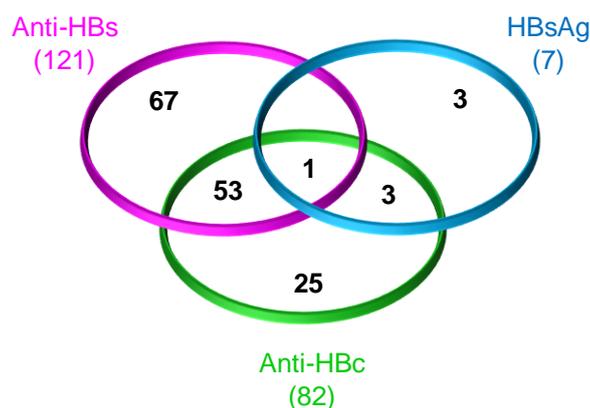


Figura 7: Representação dos marcadores sorológicos identificados e suas associações.

Na tabela 5 estão descritos os grupos sorológicos encontrados no estudo, assim como os pacientes sem nenhum marcador reagente.

O grupo com maior número de amostras foi composto por indivíduos que não possuíam nenhum dos marcadores (80 casos).

Anti-HBs isolado foi identificado em 28,9% dos pacientes (67/232). O HBsAg em foi encontrado em 3% das amostras (7/232), porém apareceu de forma isolada em 1,3% delas (3/232).

Após sorologia, foi realizado o teste de PCR em Tempo Real para pesquisa e quantificação de HBV-DNA. O DNA viral foi detectado em 6 amostras, sendo que em apenas 2 foi possível obter a quantificação, com valores de 30 UI/mL e 462 UI/mL. As outras 4 obtiveram resultado detectado para HBV-DNA, porém abaixo do limite inferior de quantificação (<10 UI/mL). Três das amostras com HBV-DNA detectado eram provenientes de pacientes em TARV e as outras 3 de pacientes naïve. As amostras com HBV-DNA detectado e seus respectivos grupos sorológicos estão representados na tabela 6.

Considerando todos os pacientes que apresentaram marcadores de exposição ao HBV, exceto os 67 que apresentaram anti-HBs isolados (imunizados), a prevalência da hepatite B nesta população de estudo foi de 36,6% (85/232) e, desse total, 10 (11,8%) pacientes apresentaram evidências sorológicas ou moleculares que confirmam a infecção pelo HBV (Figura 8).

Tabela 5: Perfis sorológicos identificados no grupo de estudo

Grupo Sorológico	Perfil de Marcadores			N° de Amostras	%
	HBsAg	Anti-HBs	Anti-HBc Total		
Anti-HBc Total isolado	NR	NR	R	25	10,8
Anti-HBc e Anti-HBs	NR	R	R	53	22,8
Anti-HBs isolado	NR	R	NR	67	28,9
HBsAg e Anti-HBc Total	R	NR	R	3	1,3
HBsAg	R	NR	NR	3	1,3
Todos os marcadores	R	R	R	1	0,4
Sem marcadores	NR	NR	NR	80	34,5
Total				232	100

R: Reagente; NR: Não reagente

Tabela 6: Amostras com HBV-DNA detectado

Grupo Sorológico	Identificação da amostra	Quantificação HBV-DNA (UI/mL)	TARV
HBsAg	BO-122	<10	Sim
HBsAg e Anti-HBc Total	BO-112	462	Sim
	BO-105	<10	Sim
Anti-HBc Total isolado	BO-185	30	Não
	BO-167	<10	Não
Anti-HBc e Anti-HBs	BO-187	<10	Não

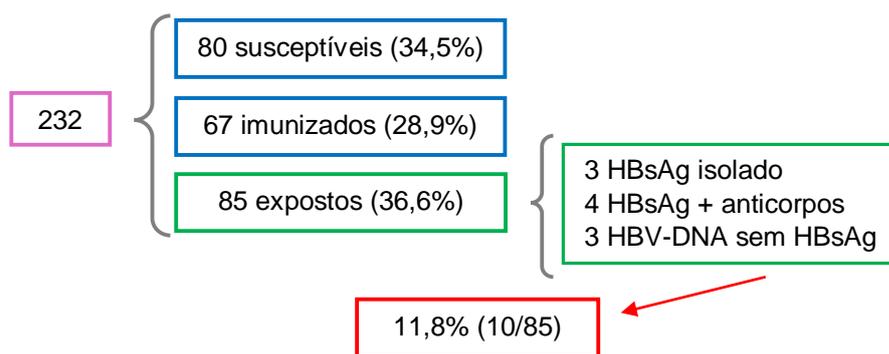


Figura 8: Prevalência da hepatite B em portadores do HIV na população estudada

De acordo com esses dados, a prevalência de coinfeção¹ HBV/HIV entre os indivíduos que participaram do estudo foi de 4,3% (10/232).

Dos 80 pacientes sem marcadores sorológicos para HBV, 6 apresentaram contagem de T-CD4 inferior a 200 células/mm³ e 22 tinham carga viral para HIV detectável (Anexo 3). Uma porcentagem de 15% (12/80) era virgem de tratamento, dos quais apenas um apresentava contagem de T-CD4 inferior a 200 células/mm³.

Do grupo de 232 pacientes, 202 (87%) encontravam-se em tratamento com antirretrovirais (Anexo 4). Todos os pacientes em TARV para HIV utilizavam pelo menos 2 antirretrovirais. Do total, 79,2% (160/202) contavam com esquemas terapêuticos que incluíam Lamivudina e/ou Tenofovir. Os outros 20,8% (42/202) faziam uso de outros antirretrovirais, como Zidovudina, Efavirenz, Atazanavir, Ritonavir, Lopinavir, Nevirapina, Didanosina, Entecavir e Fosamprenavir.

Os perfis sorológicos identificados no grupo de pacientes em TARV estão apresentados na figura 9. Do total, 7 amostras apresentaram HBsAg reagente, sendo que o HBV-DNA pôde ser detectado em 3 delas (tabela 7). Em 3 casos, o HBsAg apareceu de forma isolada e o HBV-DNA foi detectado em apenas um deles, porém, abaixo do limite inferior de quantificação (<10 UI/mL).

¹ Neste estudo, o termo coinfeção refere-se aos pacientes portadores do HIV com HBsAg reagente ou HBV-DNA detectado.

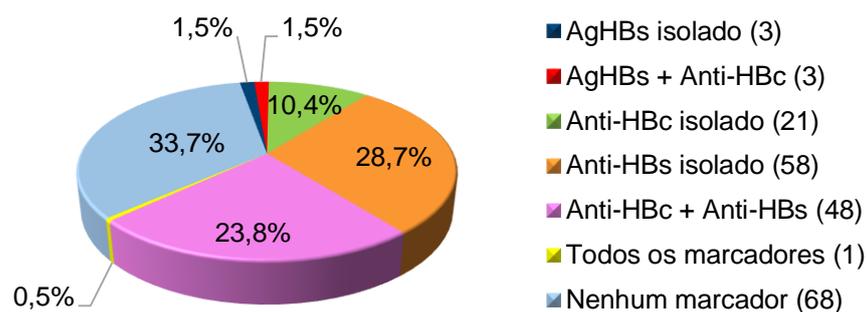


Figura 9: Perfis sorológicos identificados do grupo de pacientes em TARV.

Tabela 7: Amostras que apresentaram HBsAg reagente

Identificação da amostra	Antirretrovirais						Anti-HBs	Anti-HBc	HBV-DNA UI/mL	CD4	CD8	HIV-RNA Cópias/mL
	Idade	Sexo	3TC	TNF	Outros							
3	65	M	X	X	X	NR	R	ND	595	193	<40	
105	51	M	X	X	X	NR	R	< 10	325	768	<40	
112	50	M	X	X	X	NR	R	462	825	1464	<40	
114	61	M			X	R	R	ND	520	1375	<40	
122	65	F	X	X	X	NR	NR	< 10	699	936	<40	
123	56	M	X	X	X	NR	NR	ND	377	1202	<40	
150	64	M	X	X	X	NR	NR	ND	598	1168	<40	

M: masculino; F: feminino; R: reagente; NR: não reagente; ND: não detectado

Do total de pacientes, 13% (30/232) eram virgens de tratamento (Anexo 5). Os perfis sorológicos deste grupo estão representados na figura 10. Nota-se que o HBsAg não foi identificado no grupo de pacientes Naïve.

Foi possível detectar o HBV-DNA em 10% (3/30) das amostras do grupo Naïve. As amostras com HBV-DNA detectado foram testadas para anti-HBc IgM, apresentando resultado não reagente, ou seja, estas 3 amostras são

provenientes de pacientes que não apresentaram marcadores sorológicos que indicassem infecção aguda ou possível janela (HBsAg ou anti-HBc IgM), caracterizando casos de hepatite B oculta (tabela 8).

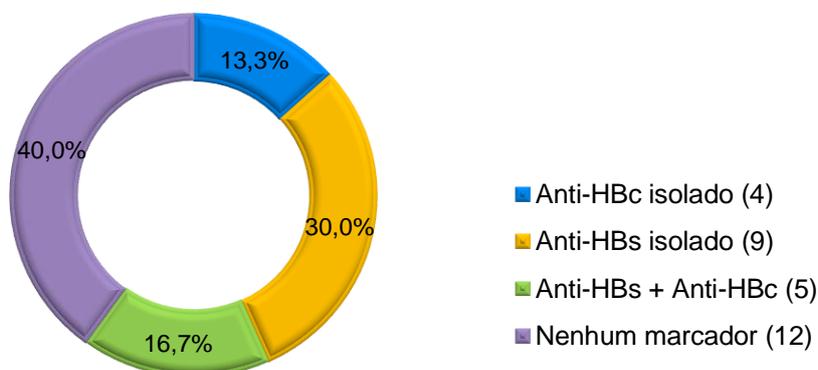


Figura 10: Perfis sorológicos identificados do grupo de pacientes virgens de tratamento.

Os grupos de pacientes TARV e NAIVE foram divididos em subgrupos formados por indivíduos com resultados de sorologia e HBV-DNA semelhantes. A partir daí, foi possível analisar e comparar os resultados obtidos, conforme representação em quadro na figura 11.

As amostras que apresentaram resultado detectado para HBV-DNA foram submetidas à PCR para tentativa de genotipagem e possível identificação de mutações e resistências a antirretrovirais para o HBV.

Tabela 8: Amostras de pacientes virgens de tratamento com HBV-DNA detectado

Grupo Sorológico	Nº de amostras	HBV-DNA (UI/mL)	CD4	CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
Anti-HBc Total isolado	2	30 <10	661 480	659 740	7615 34513
Anti-HBc e Anti-HBs	1	<10	556	760	14439

Características	TARV (202)		NAÏVE (30)		Total (232)	
	n	%	n	%	n	%
Indivíduos susceptíveis a Infecção pelo HBV	68	33,6	12	40,0	80	34,5
Indivíduos imunizados contra o HBV	58	28,7	9	30,0	67	28,9
Indivíduos com evidência sorológica e/ou molecular de infecção pelo HBV	76	37,6	9	30,0	85	36,6
- Anti-HBc Isolado	21	10,4	2	13,3	23	9,9
- Anti-HBc + Anti-HBs	48	23,7	4	16,6	52	22,4
- HBsAg e/ou HBV/DNA	7	3,4	3	10,0	10	4,3
Hepatite B Oculta	0	0	3	10,0	3	1,3

Figura 11: Quadro de representação percentual de indivíduos de acordo com as características sorológicas e moleculares analisadas.

Apenas a amostra BO-112 foi amplificada e apresentou resultado positivo na PCR e sequenciamento. A partir da sequência obtida, foi identificado genótipo D para esta amostra e não foram encontradas mutações. Não foi possível obter produto de amplificação e, conseqüentemente, sequências das outras amostras devido à baixa carga viral, que variaram entre < 10 UI/mL e 30 UI/mL.

5. DISCUSSÃO

A prevalência da hepatite B em uma população de estudo é indicada pelos seus marcadores sorológicos, sendo o anti-HBc Total o principal marcador epidemiológico de exposição ao HBV. Para fins de vigilância epidemiológica, define-se como caso confirmado de hepatite B, o indivíduo que preencha as condições de caso suspeito que apresentem um ou mais dos seguintes marcadores sorológicos reagentes: HBsAg, anti-HBc IgM, HBeAg, ou HBV-DNA detectável (Ministério da Saúde, 2012).

Os resultados deste estudo apontam que 36,6% (85/232) dos indivíduos apresentaram marcadores sorológicos ou moleculares para o HBV. Do total, 32,3% (75/232) apresentaram anti-HBc (23 isolados e 52 associados ao anti-HBs) e 4,3% (10/232) eram HBsAg reagente ou HBV-DNA detectado (coinfectedos).

Os valores de prevalência e coinfeção do HBV em pacientes portadores do HIV encontrados no presente estudo são próximos aos já descritos em outros trabalhos realizados no Brasil. Mendes-Correa e colaboradores (2000), em São Paulo, indicaram que 38,6% dos pacientes apresentaram anti-HBc e 5,7% HBsAg reagentes. Em Ribeirão Preto, prevalência descrita foi de 40,9% de pacientes expostos ao HBV e 8,5% coinfectados (Souza et al., 2004). Na Região Amazônica foi descrita prevalência de 40,2% de infecção passada pelo HBV e 6,4% portadores do HBsAg (Braga et al., 2006). No estado do Mato Grosso, a prevalência do HBV em portadores do HIV foi de 40%, dos quais 36,3% apresentaram anti-HBc e 3,7% HBsAg reagentes (Pereira et al., 2006b). No Ceará, Távora e colaboradores (2013), descreveram uma porcentagem de 23% de pacientes previamente expostos ao HBV e 3,7% coinfectados. Recentemente, em Goiânia, os resultados apontam 33,5% de pacientes com marcadores de exposição ao HBV, sendo 3,8% da população portadora do HBsAg (Brandão et al, 2015).

O perfil sorológico anti-HBc isolado foi identificado em 10,8% (25/232) dos pacientes. Este valor encontra-se na média descrita em outros estudos

realizados, como 8,1% em Brandão et al. (2015), 15,8% em Perez-Rodrigues et al. (2009); 17,5% em Tramuto et al. (2013) e 18,4% em Knöll et al. (2006).

Diversas pesquisas sobre o “status” anti-HBc isolado têm sido realizadas e muitas teorias já foram discutidas. Entre elas, a detecção de falsos positivos de anti-HBc e baixos níveis de replicação do HBV. O anti-HBc isolado é descrito com frequência entre os indivíduos portadores do HIV e, diante disso, aconselha-se monitoramento destes pacientes em intervalos regulares tanto por sorologias como HBV-DNA, principalmente em casos de elevação de transaminases (Knöll et al., 2006, Perez-Rodriguez et al., 2009; Távora et al., 2013; Pei et al., 2014).

Conforme exposto nos resultados, foram identificados 121 pacientes com amostras reagentes para anti-HBs, dos quais 67 apareceram de forma isolada. O anti-HBs isolado refere-se à soroconversão após imunização contra o HBV. Havia pouca informação nos prontuários sobre imunização ou esquema vacinal dos pacientes, o que limitou as análises neste campo estudo.

Em Taiwan, um estudo sobre os marcadores sorológicos em pacientes infectados pelo HIV identificou 18 pacientes virgens de tratamento com perda de anti-HBs entre os 252 estudados. Aproximadamente 7% da população de estudo sofreu perda de anticorpos específicos contra HBV devido à falha imunológica ocasionada pelo HIV. Os mesmos autores sugerem que esses pacientes tendem a ter menor resposta sustentada diante da TARV em relação a pacientes que não sofreram perda de anti-HBs. Frente a isso, os autores sugerem a busca por esquemas terapêuticos que permitam tanto a preservação da imunidade anti-HBs como a reconstituição da resposta imune (Sheng et al., 2007).

Em 2006(a), Pereira e colaboradores realizaram um estudo em Campinas, em que avaliaram a vacinação de pacientes em estado oculto de infecção pelo HBV. Os autores recomendam que estimular o aparecimento ou o reaparecimento de anti-HBs pela vacinação é um modo de desenvolver a imunidade contra o HBV, além de ser uma forma de reduzir a transmissão do HBV em regiões endêmicas. Através de sorologia e PCR convencional para

detecção e quantificação do HBV, indicaram que possivelmente o HBV-DNA residual tenha sido eliminado em pacientes com infecção oculta após vacinação. Apesar disso, afirmam que pesquisas adicionais devem ser realizadas para confirmar e concluir que a vacinação com soroconversão de anti-HBs é capaz de eliminar HBV-DNA em pacientes com infecção oculta pelo HBV.

O comprometimento da imunidade ocasionada pela infecção por HIV também pode influenciar na resposta à imunização contra o HBV. Desta forma, o esquema de vacinação deve ser devidamente realizado e monitorado para avaliação da soroconversão anti-HBs. Portadores de HIV não respondedores à vacina são altamente suscetíveis a infecção por HBV e posterior desenvolvimento de doença grave, pois o estado imunológico crítico ocasionado pelo HIV pode influenciar no baixo controle da infecção (Landrum et al., 2012; Irungu et al., 2013).

Do total de pacientes, foram identificados 34,5% (80/232) ainda suscetíveis à infecção por HBV, pois não apresentaram nenhum dos marcadores testados. Seis destes pacientes (7,5%) apresentaram contagem de T-CD4 inferior a 200 células/mm³ e possivelmente estavam mais suscetíveis a infecções oportunistas (Anexo 3). Um dos 6 pacientes era virgem de tratamento, ou seja, estava mais vulnerável a infecção por HBV do que aqueles que já estavam em TARV, uma vez que o tratamento para HIV também pode controlar a infecção pelo HBV. Como já descrito, com a imunossupressão ocasionada pelo HIV, anticorpos contra o HBV podem ser perdidos e os pacientes podem não responder à imunização contra o HBV. Além desses fatores, podem ocorrer falhas do esquema vacinal, sendo necessária constante avaliação sorológica e molecular destes pacientes (Said et al., 2011; Raimondo et al., 2013).

Do total de pacientes em TARV, 79% (160/202) estava em uso de Tenofovir (TNF) e/ou Lamivudina (3TC) para o HIV, drogas também utilizadas na terapia de controle do HBV. Este fator pode estar relacionado à rara ocorrência de casos ocultos de infecção por HBV em pacientes em TARV para HIV. (Gatanaga et al., 2013; Price et al., 2013). Ao controlar a replicação do

HIV, os ARVs podem auxiliar na manutenção do estado imunológico, controlar a infecção por HBV e auxiliar na manutenção de anticorpos adquiridos por exposição ou imunização.

No grupo de pacientes em TARV, 7 pacientes encontravam-se coinfectados com o HBV pois apresentaram sorologia reagente para HBsAg (associados ou não a anticorpos). Destes, 3 apresentaram HBV-DNA detectado, (BO-105, BO-112 e BO-122). Nos três casos, a TARV incluía o uso de Lamivudina e Tenofovir, ou seja, os pacientes faziam uso drogas que controlam infecções por HIV e HBV.

O prontuário do paciente identificado como BO-105 (sexo masculino, 51 anos), apresentava dados sobre pesquisa de HBV-DNA anteriores a este estudo. Os registros indicavam variação na carga viral do HBV nas amostras testadas, sendo: 69 UI/mL em 2012, 55 UI/mL em 2013, 12 UI/mL em 2014. A amostra colhida em 2014 para este estudo, apresentou resultado detectado <10 UI/mL. É possível tratar-se de portador crônico do HBV, uma vez que apresenta resultado também reagente para anti-HBc e HBsAg e o teste de HBV-DNA tem sido realizado periodicamente. A flutuação dos níveis séricos de DNA do HBV é notada entre pacientes na fase crônica ou de reativação da infecção (Keeffe et al., 2008).

O paciente identificado como BO-112 (sexo masculino, 50 anos) também apresentou reagentes os marcadores HBsAg e anti-HBc Total, sugerindo infecção crônica pelo HBV. No prontuário não havia informação sobre testes anteriores de sorologia para o HBV, não sendo possível afirmar há quanto tempo o paciente vinha apresentando estes marcadores. Pesquisa de HBV-DNA também não constava em prontuário, porém na amostra colhida para o estudo, o resultado obtido no teste foi de 462 UI/mL, mesmo o paciente em tratamento com 3TC e TNF. Na tentativa de identificar possíveis mutações resistência a essas drogas, a amostra deste paciente foi sequenciada para pesquisa de resistência a antirretrovirais para o HBV, porém, não foram identificadas mutações de resistência (Ferreira e Borges, 2007).

Diferente dos dois casos anteriores, a paciente identificada como BO-122 (65 anos), apresentou HBsAg reagente (sem anticorpos associados) e HBV-DNA detectado, sendo a quantificação inferior a 10 UI/mL. Sabe-se que a fase inicial da infecção pelo HBV é comumente diagnosticada pela presença de HBsAg e infecção crônica pela persistência HBsAg no soro do indivíduo por 6 meses ou mais (Allain et al., 1999; Seeger e Mason, 2000; Sucupira et al., 2006, Keeffe et al., 2008). Porém, não havia informação sobre sorologias anteriores para HBV no prontuário para afirmar há quanto tempo a paciente apresentava HBsAg reagente.

Diversos fatores podem estar relacionados à presença de HBV-DNA e HBsAg nas amostras de pacientes em TARV. Variações e mutações virais que permitem o escape às terapias antivirais são clinicamente importantes e podem estar relacionadas com o estado sorológico dos pacientes. Identificar as mutações virais e suas associações com as características clínicas da infecção por HBV contribuem para melhorias no diagnóstico e na terapia. Outro fator importante a ser considerado é a adesão do paciente ao tratamento, pois as falhas podem diminuir a eficácia da medicação e a resposta sustentada (Ministério da Saúde, 2008; Yano et al., 2015).

O tratamento da hepatite B tem o propósito de eliminar ou suprimir significativamente a replicação do vírus e prevenir a progressão para a cirrose e o carcinoma hepatocelular (Ferreira e Borges, 2007). A baixa contagem de T-CD4 na infecção pelo HIV pode influenciar na progressão da infecção pelo HBV. A manutenção de níveis adequados de células T-CD4 é essencial para a resposta imune específica ao HBV e eliminação viral precoce. A contagem de T-CD4 pode ser corrigida com a TARV. No entanto, mesmo depois da recuperação da contagem de T-CD4, há relatos de que a doença hepática relacionada com o HBV pode ainda progredir, o que indica que, para além de baixa contagem de T-CD4, outros fatores devem ser considerados para cada indivíduo (Li, 2012).

Com relação aos pacientes naïve deste estudo, 10% (3/30) obtiveram resultado detectado para HBV-DNA na ausência de HBsAg. A carga viral do HBV foi inferior a 200 UI/mL nos três casos, sendo uma delas no valor de 30

UI/mL e as outras duas abaixo do limiar de quantificação (10 UI/mL). Estas amostras foram testadas para anti-HBc IgM na tentativa de identificar possível janela pré-soroconversão, porém, os resultados obtidos foram negativos. Partindo da premissa de que “hepatite B oculta é definida como a presença de HBV-DNA em sangue com níveis séricos de HBsAg indetectáveis, com ou sem Anti-HBc ou anti-HBs, fora do período de ‘janela’ pré-soroconversão e, quando detectável, a concentração do HBV-DNA no soro é baixa e normalmente inferior a 200 UI/mL” (Raimondo et al., 2008), tratam-se de 3 casos de hepatite B oculta. A ocorrência de OBI em pacientes virgens de tratamento é bastante discutido e apresentado na literatura científica (Filippini et al., 2006; Raimondo et al., 2008; Gupta e Singh, 2010).

Diversos autores, em todo o mundo, descreveram resultados próximos aos deste trabalho, considerando os pacientes virgens de tratamento. Opaleye et al. (Nigéria, 2014) analisaram 188 pacientes portadores de HIV virgens de tratamento, dos quais 21 foram considerados coinfectados de forma oculta pelo HBV, resultando em uma porcentagem de 11,2% de OBI. Na África do Sul, Bell e colaboradores em 2012, identificaram OBI em 15,1% dos indivíduos estudados. Araújo et al. (2008), no Rio de Janeiro, identificaram OBI em 14% dos pacientes. Há também relatos de porcentagens bastante distintas da obtida no presente estudo. Em um deles, realizado na Espanha, a porcentagem foi de 0,7% de OBI (Di Lello et al., 2012). Em outro, na Índia, a infecção oculta pelo HBV foi identificada em 24,5% dos indivíduos estudados (Gupta e Singh, 2010).

Em um estudo realizado em Campinas, a partir de dados de 159 pacientes HIV positivos (em tratamento ou não com antirretrovirais), Jardim e colaboradores (2008), identificaram 8 amostras (5%) com HBV-DNA detectado na ausência de HBsAg, sendo possíveis casos de infecção oculta pelo HBV. Apesar dos autores apresentarem resultados de OBI em pacientes que estavam ou não em tratamento para HIV, é pouco comum encontrar na literatura científica estudos sobre infecção oculta pelo HBV em indivíduos que estejam em TARV.

Durante o curso da infecção crônica pelo HBV, podem ocorrer reativações e os chamados “flares”, caracterizados pela exacerbação do estado agudo da doença. As razões para a reativação do HBV ou ocorrência dos “flares” podem estar relacionadas à capacidade de replicação do vírus frente ao estado imunossupressor ocasionado por diversos fatores, entre eles, a infecção pelo HIV (Perillo, 2001). Os “flares” são clinicamente importantes devido aos graves danos que podem ocasionar ao tecido hepático e, por consequência, levar o indivíduo a óbito (Madlonado-Rodrigues, 2015).

Pacientes com infecção crônica evidente pelo HBV (em especial os portadores do HBsAg) tendem a apresentar reativação com maior frequência. Em contrapartida, a reativação do HBV ocorre mais raramente em pacientes com OBI, o que não diminui o risco da ocorrência de “flare” neste grupo, uma vez que apresentam HBV-DNA detectável, ainda que em baixas concentrações (Sagnelli et al, 2014).

O impacto da OBI no prognóstico dos pacientes HIV positivos ainda necessita de maiores estudos, porém há indícios de que a presença do HBV-DNA pode ser um fator de risco na progressão das doenças hepáticas (Sagnelli et al, 2014). Em 2006, Filippini e colaboradores acompanharam 86 pacientes portadores do HIV por pelo menos 6 meses, dos quais 17 eram casos de OBI. Vinte e oito pacientes (32,5%) apresentaram “flare” durante o seguimento. Este evento foi mais frequente nos 17 pacientes que apresentaram HBV-DNA detectado do que nos 69 HBV-DNA negativos. Ainda que sejam necessários maiores dados para confirmação, os autores sugerem que a OBI pode estar associada ao agravamento da doença hepática em pacientes portadores do HIV.

A técnica de PCR em Tempo Real por ser altamente sensível e específica, foi uma ferramenta importante de auxílio no presente estudo, pois através dela foi possível a identificação dos casos de OBI. Portadores do HBV não identificados sorologicamente são potenciais transmissores desse vírus, ainda que apresentem baixa carga viral. Além de subsidiar ações de vigilância e controle da transmissão do HBV, o diagnóstico do HBV em pacientes

portadores do HIV é de grande importância terapêutica, principalmente se realizado antes da terapia antirretroviral (Chu, 2006; Bello et al., 2011).

Os três casos de OBI neste trabalho foram identificados em pacientes que apresentaram sorologia reagente para anticorpos, sendo dois deles com perfil sorológico anti-HBc associado a anti-HBs e um anti-HBs isolado. Estes dados sugerem que a hepatite B oculta pode ocorrer em pacientes que com sorologia de sugestiva de infecção aparentemente resolvida, o que reforça a necessidade de associação de técnicas laboratoriais no diagnóstico das infecções pelo HBV.

6. CONCLUSÕES

- Os resultados demonstraram alta prevalência da hepatite B entre os portadores do HIV neste grupo de estudo, pois 36,6% dos pacientes apresentaram marcadores sorológicos e/ou moleculares de exposição ao HBV.
- Considerando que o HBV é uma comorbidade associada ao HIV, os pacientes que apresentaram coinfeção (4,3%), podem representar fontes de transmissão do HBV, uma vez que os dois agravos têm mecanismos comuns de transmissão.
- Grande porcentagem dos pacientes (34,5%) encontrava-se suscetível à infecção pelo HBV, sendo importante o reforço na imunização e o monitoramento de soroconversão através de sorologias.
- A aplicação de testes moleculares no apoio ao diagnóstico da hepatite B é de grande importância, pois neste estudo, através da PCR em Tempo Real, foi possível identificar infecções não evidenciadas através de sorologia.
- Pacientes portadores do HIV virgens de tratamento que apresentaram hepatite B oculta (10%), podem ser importantes transmissores do HBV não identificadas através de sorologia.
- O estudo sugere que a hepatite B oculta pode ocorrer em pacientes com perfis sorológicos indicativos de infecção resolvida e reforça a importância do uso de técnicas moleculares no apoio ao diagnóstico de infecções pelo HBV.

7. REFERÊNCIAS

Abbott Molecular. Abbott RealTime HBV Assay. [Online].; 2010 [cited 2014 Jul 9]. Available from: http://www.abbottmolecular.com/static/cms_workspace/packageinserts/HBV%20US%20package%20insert%2009_22_10.pdf.

Allain J, Hewitt P, Tedder R, Williamson L. Evidence that anti-HBc but not HBV DNA testing may prevent some HBV transmission by transfusion. *Br J Haematol.* 1999; 107(1): 186-195.

Alter M. Epidemiology of viral hepatitis and HIV co-infection. *J Hepatol* 2006; 44(1): S6-S9.

Araujo N, Branco-Vieira M, Silva A, Pilotto J, Grinsztejn B, de Almeida A, et al. Occult hepatitis B virus infection in HIV-infected patients: Evaluation of biochemical, virological and molecular parameters. *Hepatol Res* 2008; 38(12): 1194–1203.

Beck J, Nassal M. Hepatitis B Virus replication. *World J Gastroenterol* 2007; 13(1): 48-64.

Bell T, Makondo E, Martinson N, Kramvis A. Hepatitis B virus infection in human immunodeficiency virus infected southern African adults: occult or overt--that is the question. *PLoS One* 2012; 7(10): 1-8.

Bello M, Montalvo M, Rodríguez L, Sariago S, Verdasquera D, Vincent M, et al. Occult hepatitis B in Cuban HIV patients. *MEDICC Rev* 2011; 13(2): 32-37.

Besharat S, Katoonizadeh A, Moradi A. Potential Mutations Associated With Occult Hepatitis B Virus Status. *Hepat Mon* 2014; 14(5): 1-7.

Bonvicino C, Moreira M, Soares M. Hepatitis B virus lineages in mammalian hosts: potential for bidirectional cross-species transmission. *World j Gastroenterol* 2014; 20(24): 7665-7674.

Braga W, da Costa Castilho M, dos Santos I, Moura M, Segurado A. Low prevalence of hepatitis B virus, hepatitis D virus and hepatitis C virus among patients with human immunodeficiency virus or acquired immunodeficiency syndrome in the Brazilian Amazon basin. *Rev Soc Bras Med Trop* 2006; 39(6): 519-522.

Brandão N, Pfrimer I, Martelli C, Turchi M. Prevalence of hepatitis B and C infection and associated factors in people living with HIV in Midwestern Brazil. *Braz j Infect Dis* 2015; 1: 1-5.

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

Burnett R, François G, Kew M, Leroux-Roels G, Meheus A, Hoosen A, et al. Hepatitis B virus and Human immunodeficiency virus co-infection in sub-Saharan Africa: a call for further investigation. *Liver Int* 2005; 25(5): 201-13.

Chen Y, Cheng G, Mahato R. RNAi for treating hepatitis B viral infection. *Pharm Res* 2008; 25(1): 72-86.

Chisari F, Isogawa M, Wieland S. Pathogenesis of hepatitis B virus infection. *Pathol Biol (Paris)* 2010; 58(4): 258-266.

Chu C, Liaw Y. Hepatitis B virus-related cirrhosis: natural history and treatment. *Semin Liver Dis* 2006; 26(2): 142-152.

Cobas® – Roche Diagnostics. Cobas® Anti-HBc IgM. Anticorpos IgM para o antígeno central (core) do vírus da hepatite B 2012.

De la Fuente R, Gutiérrez M, Garcia-Samaniego J, Fernández-Rodríguez C, Lledo J, Castellano G. Pathogenesis of occult chronic hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2011; 17(12): 1543-1548.

Di Lello F, Macias J, Cifuentes C, Vargas J, Palomares J, Pineda J. Low prevalence of occult HBV infection among HIV-infected patients in Southern Spain. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2012; 30(6): 312-314.

DiaSorin S.p.A. Murex HBsAg Version 3. Procedimento para a determinação qualitativa do antígeno de superfície do vírus da hepatite B em amostras de soro ou plasma humano 2006.

DiaSorin S.p.A. Teste imunoenzimático de anticorpos Anti-HBc totais. Procedimento para a determinação qualitativa dos anticorpos totais anti-antígeno nuclear do vírus da hepatite B em amostras de soro ou plasma humano 2004.

DiaSorin S.p.A. Teste imunoenzimático para os anticorpos anti-HBs. Procedimento para a determinação qualitativa/quantitativa dos anticorpos dirigidos contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B em amostras de soro ou plasma humano 2006.

Ferreira M, Borges A. Advances in the treatment of hepatitis B. *Rev Soc Bras Med Trop* 2007; 40(4): 451-452.

Filippini P, Coppola N, Pisapia R, Scolastico C, Marrocco C, Zaccariello A, et al. Impact of occult hepatitis B virus infection in HIV patients naive for antiretroviral therapy. *AIDS* 2006; 20(9): 1253-1260.

Fonseca J. Natural history of chronic hepatitis B. *Rev Soc Bras Med Trop* 2007; 40(6): 672-677.

Fonseca J. History of viral hepatitis. *Rev Soc Bras Med Trop* 2010; 43(3): 322-330.

Galli C, Orlandini E, Penzo L, Badiale R, Caltran G, Valverde S, et al. What is the role of serology for the study of chronic hepatitis B virus infection in the age of molecular biology? *J Med Virol* 2008; 80: 974–979.

Gatanaga h, Hayshida T, Tanuma J, Oka S. Prophylactic Effect of Antiretroviral Therapy on hepatitis B virus infection. *Clin Infect Dis* 2013; 56(12): 1812-1819.

Gerlich W. Medical virology of hepatitis B: how it began and where we are now. *Virol J* 2013; 10(239): 1-25.

Gupta S, Singh S. Occult hepatitis B virus infection in ART-naive HIV-infected patients seen at a tertiary care centre in north India. *BMC Infect Dis* 2010; 10:53.

Guyot C, Lepreux S, Combe C, Doudnikoff E, Bioulac-Sage P, Balabaud C, et al. Hepatic fibrosis and cirrhosis: the (myo)fibroblastic cell subpopulations involved. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38(2): 135-151.

Huo T, Wu J, Lee P, Chau G, Lui W, Tsay S, et al. Sero-Clearance of Hepatitis B Surface Antigen in Chronic Carriers Does Not Necessarily Imply a Good Prognosis. *Hepatology*. 1998; 28(1): 231-236.

Irungu E, Mugo N, Ngure K, Njuguna R, Celum C, Farguhar C, et al. Immune response to hepatitis B virus vaccination among HIV-1 infected and uninfected adults in Kenya. *J Infect Dis* 2013; 207(3): 402-410.

Jardim R, Gonçalves N, Pereira J, Fais V, Gonçalves Junior F. Occult hepatitis B virus infection in immunocompromised patients. *Braz J Infect Dis* 2008; 12(4).

Kao J. Molecular epidemiology of hepatitis B virus. *Korean J Intern Med* 2011; 26(3): 255-261.

Keeffe E, Dieterich D, Han S, Jacobson I, Martin P, Schiff E, et al. A treatment algorithm for the management of chronic hepatitis B virus infection in the United States: 2008 Update. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6(12): 1315-1341.

Knöll A, Hartmann A, Hamoshi H, Weislmaier K, Jilg W. Serological pattern "anti-aBc alone": characterization of 552 individuals and clinical significance. *World J Gastroenterol* 2006; 12(8): 1255-1260.

Kwon S, Lee C. Epidemiology and prevention of hepatitis B virus infection. *The Korean Journal of Hepatology* 2011; 17(2): 87-95.

Landrum M, Hullsiek K, O'Connell R, Chun H, Ganesan A, Okulicz J, et al. Hepatitis B vaccine antibody response and the risk of clinical AIDS or death. *PLoS One* 2012; 7(3).

Li Y, Wang H, Li T. Hepatitis B virus/human immunodeficiency virus coinfection: interaction among human immunodeficiency virus infection, chronic hepatitis B virus infection, and host immunity. *Chin Med J* 2012; 125(13): 2371-2377.

Life Technologies. Applied Biosystems. BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit Protocol 2010.

Life Technologies TM. Invitrogen TM. Low DNA Mass Ladder 2013.

Lutgehetmann M, Volz T, Köpke A, Broja T, Tiggers E, Lohse A, et al. In vivo proliferation of hepadnavirus-infected hepatocytes induces loss of covalently closed circular DNA in mice. *Hepatology* 2010; 52(1): 16-24.

Maldonado-Rodriguez A, Cevallos A, Rojas-Montes O, Enriquez-Navarro K, Alvarez-Muñoz M, 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; 7(2): 253-260.

Mendes-Corrêa M, Barone A, ND C, Tengan F, Guastini C. Prevalence of hepatitis B and C in the sera of patients with HIV infection in São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 2000; 42(2): 81-85.

Michalak T, Mulrooney P, Coffin C. Low Doses of Hepadnavirus Induce Infection of the Lymphatic System That Does Not Engage the Liver. *J Virol* 2004; 78(4): 1730–1738.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. [Online]. Brasília (DF); 2008 [cited 2016 mai 23]. Available from: http://www.aids.gov.br/sites/default/files/Boletim2008_versao1_6.pdf.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Aids, DST e Hepatites Virais. [Online]. Brasília (DF); 2011a [cited 2016 mai 23]. Available from: http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2011/50073/boletim_hepatites2011_pdf_64874.pdf.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. [Online]. Brasília (DF); 2011b [cited 2016 mai 23]. Available from: http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_clinico_diretrizes_terapeuticas_hepatite_viral_b.pdf.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. [Online]. Brasília (DF); 2012 [cited 2016 mai 23]. Available from: http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2012/51820/dadoshepatites_2012_pdf_25807.pdf.

Ministério da Saúde. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. [Online]. Brasília (DF); 2013 [cited 2016 mai 23]. Available from: http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2013/55559/_p_boletim_2013_internet_pdf_p__51315.pdf.

Ministério da Saúde. Departamento de DST-AIDS. [Online]. 2014 [cited 2015 abr 25]. Available from: <http://www.aids.gov.br/pcdt/14>.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. [Online]. 2015 [cited 2016 maio 23]. Available

from: http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2015/58534/boletim_aids_11_2015_web_pdf_19105.pdf.

Mphahlele M, Lukhwareni A, Burnett R, Moropeng L, Ngobeni J. High risk of occult hepatitis B virus infection in HIV-positive patients. *J Clin Virol* 2006; 35(1): 14-20.

NCBI. National Center for Biotechnology Information. National Library of Medicine. Genotyping. [Online]. [cited 2015 Jun 16]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genotyping/formpage.cgi>.

Opaleye O, Olureme A, Atiba A, Adewumi M, Mabayoje O, Donbraye E, et al. Occult Hepatitis B Virus Infection among HIV Positive Patients in Nigeria. *J Trop Med* 2014; 2014: 1-5.

Pei R, Grund S, Verheyen J, Esser S, Chen X, Lu M. Spontaneous reactivation of hepatitis B virus replication in an HIV coinfecting patient with isolated anti-Hepatitis Bcore antibodies 2014; 11:9.

Penna A, Artini M, Cavalli A, Levrero M, Bertoletti A, Pilli M, et al. Long-lasting memory T cell responses following self-limited acute hepatitis B. *J Clin Invest*. 1996; 98(5): 1185-1194.

Pereira J, Gonçalves N, Silva C, Lazarini M, Pavan M, Fais V, et al. HBV vaccination of HCV-infected patients with occult HBV infection and anti-HBc-positive blood donors. *Braz J Med Biol Res* 2006a; 39(4): 525-31.

Pereira R, Mussi A, Sila V, Souto F. Hepatitis B Virus infection in HIV-positive population in Brazil: results of a survey in the state of Mato Grosso and a comparative analysis with other regions of Brazil. *BMC Infect Dis* 2006b; 6(34): 1-7.

Pérez-Rodríguez M, Sopeña B, Crespo M, Rivera A, Gonzáles del Blanco T, Ocampo A, et al. Clinical significance of "anti-HBc alone" in human immunodeficiency virus-positive patients. *World J Gastroenterol* 2009; 15(10).

Perillo R. Acute flares in chronic hepatitis B: the natural and unnatural history of an immunologically mediated liver disease. *Gastroenterology* 2001; 120(4): 1009-1022.

Poovorawan Y, Chatchatee P, Chongsrisawat V. Epidemiology and prophylaxis of viral hepatitis: a global perspective. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 155-166.

Price H, Dunn D, Pillay D, Bani-Sadr F, de Vries-Sluijs T, Jain M, et al. Suppression of HBV by tenofovir in HBV/HIV coinfecting patients: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8(7): 1-9.

QIAGEN®. QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Handbook. For DNA purification from whole blood, plasma, serum, buffy coat, lymphocytes, dried blood spots (QIAampDNA Mini Kit only), body fluids, cultured cells, swabs, and tissue (QIAamp DNA Mini Kit only) 2012..

Quasdorf M, Protzer U. Control of hepatitis B virus at the level of transcription. *J Viral Hepat* 2010; 17(8): 527-536.

Raimondo G, Allain J, Brunetto M, Buendia M, Chen D, Colombo M, et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis. *Journal of Hepatology* 2008; 49(4): 652–657.

Raimondo G, Policcino T, Romano L, Zanetti A. A 2010 update on occult hepatitis B infection. *Pathol Biol (Paris)* 2010; 58(4): 254-57.

Raimondo G, Caccamo G, Filomia R, Pollicino T. Occult HBV infection. *Semin Immunopathol* 2013; 35(1): 39–52.

Rodriguez-Farias F, Buti M, Tabernero D, Homs M. Quasispecies structure, cornerstone of hepatitis B virus infection: mass sequencing approach. *World J Gastroenterol* 2013; 19(41): 6995-7023.

Sablon E, Shapiro F. Advances in molecular diagnosis of HBV infection and drug resistance. *Int J Med Sci* 2005; 2(1): 8-16.

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; 6(6): 384-393.

Said Z. An overview of occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2011; 17(15): 1927-1938.

Schiek A, Schoulze A, Gähler C, Müller T, Haberkorn U, Alexandrov A, et al. Hepatitis B virus hepatotropism is mediated by specific receptor recognition in the liver and not restricted to susceptible hosts. *Hepatology* 2013; 58(1): 43-53.

Seeger C, Mason W. Hepatitis B Virus Biology. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; 64(1): 51-68.

Sheng W, Kao J, Chen P, Huang L, Chang S, Sun H, et al. Evolution of hepatitis B serological markers in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2007; 45(9): 1221-1229.

Soriano V, Barreiro P, Nuñez M. Management of chronic hepatitis B and C in HIV-coinfected patients. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57(5): 815-818.

Soriano V, Puoti M, Peters M, Benhamou Y, Sulkowski M, Zoulim F, et al. Care of HIV patients with chronic hepatitis B: updated recommendations from the HIV-Hepatitis B Virus International Panel. *AIDS* 2008; 22(12): 1399-1410.

Souza M, Passos A, Machado A, Figueiredo J, Esmeraldino L. HIV and hepatitis B virus co-infection: prevalence and risk factors. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004; 37(5): 391-395.

Stanford University. HBVseq: Sequence Analysis. HIV drug resistance database. [Online]. [cited 2015 Jun 16]. Available from: <http://hivdb.stanford.edu/HBV/HBVseq/development/hbvseq.pl?action=showSequenceForm>.

Sucupira M, Melo F, Santos E, Niel C, Rolla V, Arabe J, et al. Patterns of hepatitis B virus infection in Brazilian human immunodeficiency virus infected patients: high prevalence of occult infection and low frequency of lamivudine resistant mutations. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006; 101(6): 655-660.

Tavora L, Hyppolito E, Cruz J, Portela N, Pereira S, Veras C. Hepatitis B, C and HIV co-infections seroprevalence in a northeast Brazilian center. *Arq Gastroenterol* 2013; 50(4): 277-280.

Thio C. Virology and clinical sequelae of drug-resistant HBV in HIV-HBV co-infected patients on HAART. *Antivir Ther* 2010; 15(3 Pt B): 487–491.

Thio C, Smeaton L, Saulynas M, Hwang H, Saravan S, Kulkarni S, et al. Characterization of HIV-HBV co-infection in a multi-national HIV infected cohort. *AIDS* 2013; 27(2): 191–201.

Thomas D. Growing importance of liver disease in HIV-infected persons. *Hepatology* 2006; 43(2): 221-229.

Torbenson M, Thomas D. Occult hepatitis B. *Lancet Infect Dis* 2002; 2(8): 479-486.

Tramuto F, Maida C, Colomba G, Di Carlo P, Vitale F. Prevalence of occult hepatitis B virus infection in a cohort of HIV-positive patients resident in Sicily, Italy. *Biomed Res Int* 2013; 1(1): 1-7.

WHO - World Health Organization - Fact Sheet 204. WHO. [Online].; 2015a [cited 2016 Abr 18]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/index.html>.

WHO - World Health Organization. International travel and health. [Online]. 2015b [cited 2016 Abr 27]. Available from: <http://www.who.int/ith/diseases/hepatitisB/en/>.

WHO - World Health Organization - Fact Sheet 360. WHO. [Online]. 2015c [cited 2016 Abr 22]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/en/>.

WHO - World Health Organization; HIV and hepatitis coinfections. [Online]. 2015d [cited 2016 Abr 27]. Available from: <http://www.who.int/hiv/topics/hepatitis/hepatitisinfo/en/>.

Yano Y, Azuma T, Hayashi Y. Variations and mutations in the hepatitis B virus genome and their associations with clinical characteristics 2015; 7(3): 583-592.

Zhang Y, Zhang B, Theele D, Litwin S, Toll E, Summers J. Single-cell analysis of covalently closed circular DNA copy numbers in a hepadnavirus-infected liver. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100(21): 12372-12377.

ANEXO 1

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
HOSPITAL DAS CLINICAS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

I. DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE: _____

SEXO: () Fem () Masc DATA NASC.: ____/____/____

DOC. DE IDENTIDADE Nº: _____ CPF: _____

ENDEREÇO: _____ Nº: _____ APTO: _____

BAIRRO: _____ CIDADE: _____

CEP: _____ - _____ TELEFONE: _____

2. RESPONSÁVEL LEGAL: _____

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador, etc.): _____

SEXO: () Fem () Masc DATA NASC.: ____/____/____

DOC. DE IDENTIDADE Nº: _____ CPF: _____

ENDEREÇO: _____ Nº: _____ APTO: _____

BAIRRO: _____ CIDADE: _____

CEP: _____ - _____ TELEFONE: _____

II. DADOS SOBRE A PESQUISA CLINICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA

Infecção oculta pelo vírus da Hepatite B em pacientes infectados por HIV

2. PESQUISADOR: Dra. Maria Cássia Jacintho Mendes Corrêa

CARGO/FUNÇÃO: Médico Assistente

INSC. CONS. REGIONAL Nº **52275**

UNIDADE DO HCFMUSP: Divisão Clínica de Moléstias Infecciosas e Parasitárias - Casa da AIDS

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

(Probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

SEM RISCO() RISCO MÍNIMO(X) RISCO MÉDIO() RISCO MAIOR()

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: Doze a dezoito meses.

III. REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL

1. Justificativa e Objetivos da pesquisa

Hepatite B e HIV são transmitidos de forma muito parecida. Então, é comum que alguns portadores do vírus HIV também sejam portadores do vírus da hepatite B. Nestes casos, há maior possibilidade de ocorrer doença crônica no fígado, pois a imunidade (defesa) do organismo fica mais comprometida. Os testes comuns de laboratório que detectam a hepatite B são os marcadores sorológicos, que são anticorpos ou o vírus no sangue do paciente. Mas, algumas vezes, o vírus da hepatite B não é detectado por estes exames comuns. É o que chamamos de hepatite B oculta, ou seja, o vírus da hepatite B existe, porém não é encontrado. Para resolver estes casos, existe um exame que pode ser feito no sangue, que é mais sensível e pode encontrar o vírus da hepatite B, mesmo que ele esteja em pouca quantidade e não foi encontrado nos exames comuns. O objetivo do estudo é saber se o portador de HIV tem ou não o vírus da hepatite B, através de um teste que detecta melhor o vírus no sangue.

2. Procedimentos

Para poder participar deste estudo, você precisa ser um adulto portador do vírus da imunodeficiência humana (HIV), com ou sem marcadores sorológicos para a hepatite B, seguindo as características exigidas pelo protocolo. Caso você aceite participar do estudo, uma amostra de seu sangue será coletada para que alguns exames relativos à hepatite B sejam realizados. Sua participação no estudo é voluntária. Caso você prefira não participar do estudo, não haverá qualquer modificação no seu atendimento médico na Casa da AIDS.

3. Benefícios

Além de descobrir se o indivíduo portador de HIV é também portador do vírus da Hepatite B, esse estudo vai permitir que o seu tratamento e o de outras pessoas sejam feitos, não só para o controle do HIV, mas também para a hepatite B (caso seja detectado o vírus), o que pode diminuir a chance de ocorrer uma doença mais grave no fígado. Se forem encontrados casos de hepatite B oculta em pacientes portadores de HIV, significa que este exame poderá ser utilizado em casos onde o vírus não foi encontrado no exame comum, melhorando não só a sua qualidade de vida, mas, também, a de outros pacientes.

4. Desconforto e Riscos

Os riscos envolvidos são aqueles observados na coleta de sangue (hematoma no local da punção e dor).

IV. ESCLARECIMENTOS DADOS SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

1. Você terá garantia, a qualquer tempo, que receberá as informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para esclarecimentos de qualquer dúvida.

2. Sua participação neste estudo é completamente voluntária. Você pode recusar a participar do estudo ou poderá descontinuar sua participação do mesmo, a qualquer momento, sem qualquer penalidade ou perda dos benefícios aos quais de outra forma faria jus. A Dra. Maria Cássia Corrêa irá prontamente aconselhá-lo sobre as opções alternativas de seguimento ou

tratamento que sejam consideradas apropriadas e o melhor meio de interromper, de forma bem ordenada, sua participação. Se você decidir interromper sua participação no estudo, você deverá entrar em contato com o as pessoas responsáveis pelo estudo no telefone (11) 3120-5290, de forma a permitir que os procedimentos de finalização de sua participação no estudo possam ser iniciados.

3. Sua participação neste estudo será mantida em caráter confidencial e seu nome não será revelado a ninguém que não seja do estudo. Entretanto, autoridades governamentais nacionais responsáveis pela segurança e conduta ética dos estudos com seres humano poderão revisar os registros do estudo, e os registros poderão ser submetidos à divulgação decorrente de outras ordens ou requisitos governamentais. Caso os resultados deste estudo sejam publicados na literatura médica, você não será identificado nominalmente, sendo sua confidencialidade garantida em todas as ocasiões. O comitê de ética poderá ter acesso direto ao seu prontuário médico para verificação dos procedimentos de finalização de sua participação no estudo possam ser iniciados.

4. Você compreende que a Dra. Maria Cássia Corrêa tem o direito de interromper sua participação neste estudo, caso você não siga as instruções do mesmo, ou se considerar que esta interrupção seria de maior benefício para você. Caso seja descoberta qualquer nova informação significativa sobre sua doença enquanto este estudo estiver sendo desenvolvido, você será imediatamente informado e poderá decidir continuar ou interromper sua participação.

5. Caso você venha apresentar indicação de internação hospitalar, durante o período de estudo, ela será feita preferencialmente no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, enfermaria de Moléstias Infecciosas e Parasitárias.

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA

Você será incentivado a fazer perguntas, em qualquer ocasião durante o estudo. Caso você tenha perguntas sobre o estudo ou sobre seus direitos como paciente, por favor, entre em contato com a Dra. Maria Cássia Jacintho M. Corrêa, médica na Casa da AIDS, no telefone (11) 3120-5290. Você também poderá tirar suas dúvidas e obter mais informações entrando em contato com Comitê de Ética em Pesquisa (CEPIAL), pelo telefone (11) 3068-2859.

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

NENHUMA

VII. CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO:

Eu li este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e tive a oportunidade de discuti-lo com um dos membros da pesquisa. Todas as minhas perguntas foram respondidas. Eu fui informado (a) sobre os riscos e benefícios e concordo de livre e espontânea vontade em participar deste estudo.

Eu entendo que posso sair do estudo a qualquer momento e que isso não afetará meu tratamento futuro.

São Paulo, _____ de _____ de _____.

Assinatura do paciente ou seu representante legal

Data ____/____/____

Assinatura do Investigador que obteve o Consentimento, sob carimbo

ANEXO 2



INSTITUTO ADOLFO LUTZ/SES

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Infecção oculta pelo vírus da Hepatite B em pacientes infectados por HIV

Pesquisador: Regina Célia Moreira

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 03049612.4.1001.0059

Instituição Proponente: Instituto Adolfo Lutz

Patrocinador Principal: Fundação de Amparo a Pesquisa de São Paulo ((FAPESP))
Instituto Adolfo Lutz

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 226.393

Data da Relatoria: 21/03/2013

Apresentação do Projeto:

Idem ao parecer anterior.

Objetivo da Pesquisa:

Idem ao parecer anterior.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Idem ao parecer anterior.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Foi realizada a modificação sugerida em relação ao objetivo secundário no projeto "Avaliar a resposta ao tratamento da hepatite oculta frente às diferentes terapias". Este objetivo foi retirado porque houve um erro no envio do arquivo, pois tratava-se de uma das propostas iniciais do trabalho que, posteriormente, havia sido abandonada por ser inviável.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Não foi necessário promover alterações nos termos de apresentação obrigatória.

Recomendações:

Nada a declarar.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado sob o ponto de vista ético.

Endereço: Av. Dr. Arnaldo 355 - 3º andar - Sala 90

Bairro: CEP: Cerqueira César

01.246-902

UF: Município: SP SAO PAULO

Telefone: (11)3068-2859

Fax: (11)3085-3505

E-mail: cepial@ial.sp.gov.br



INSTITUTO ADOLFO LUTZ/SES

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com o item IX. 2 da Resolução CNS nº 196/1996 - cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar os relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo, sob sua guarda, por 5 anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar, perante o CEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Os relatórios parciais deverão ser encaminhados ao CEPIAL a cada seis meses a partir do início da pesquisa.

SAO PAULO, 22 de Março de 2013

Assinador por:
Luz Marina Trujillo
(Coordenador)

Endereço: Av. Dr. Arnaldo 355 - 3º andar - Sala 90

Bairro: CEP: Cerqueira César

01.246-902

UF: Município: SP SAO PAULO

Telefone: (11)3068-2859

Fax: (11)3085-3505

E-mail: cepial@ial.sp.gov.br

São Paulo, 03 de setembro de 2012.

Parecer apresentado à reunião da Comissão de Ética e Pesquisa do Depto de Moléstias Infecciosas e Parasitárias em 03/09/2012.

Ref.: Projeto de Pesquisa: **"Infecção oculta pelo vírus da hepatite B em portadores do HIV"**.

Pesquisador Responsável e Executante: Dra. Maria Cássia Jacintho Mendes Correa

Entidade externa envolvida: Instituto Adolfo Lutz.

Patrocínio: FAPESP. Valor do financiamento: 27.594,00.

Prazo pesquisa – 12 meses.

Trata-se de um projeto multicêntrico retrospectivo e prospectivo que pretende avaliar a presença de infecção oculta pelo vírus da hepatite B (definida pela presença do DNA-VHB em sangue ou tecidos em pacientes com ausência de marcadores sorológicos sugestivos de infecção ativa – níveis séricos de HBsAg indetectáveis, com ou sem Anti-HBc ou anti-HBs, fora do período de "janela imunológica") em pacientes co-infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). Hepatite B oculta ocorre principalmente em indivíduos anti-HBc positivos com infecção crônica pelo HBV, após declínio do HBsAg para um nível indetectável pelos métodos comumente utilizados. A PCR em tempo real para detecção do HBV-DNA pode ser um teste ultrasensível, capaz de diagnosticar os casos de infecção oculta por HBV em pacientes co-infectados pelo HIV.

Estudos prévios realizados no Brasil mostraram a presença de infecção oculta por HBV e sua alta frequência em pacientes HIV positivos, sendo necessário o rastreamento destes casos, tanto para prevenção de progressão para doença hepática crônica nos pacientes co-infectados HBV/HIV, como para prevenção de transmissão da doença.

Seleção da Amostra:

Serão selecionados pacientes HIV positivos na Casa da AIDS que não estejam e nunca estiveram em tratamento para a hepatite B até o momento da coleta de sangue. Serão então analisadas amostra previamente triadas na Casa da AIDS quanto ao perfil sorológico. A confirmação da sorologia será realizada

no laboratório de hepatites do IAL, e somente após a confirmação, as amostras serão testadas pela técnica de PCR em tempo real para o HBV.

Serão analisadas 200 amostras já triadas com os seguintes perfis:

Grupo 1 – 100 amostras – pacientes co-infectados pelo HBV/HIV com perfil sorológico Anti-HBc reagente, Anti-HBs não reagente, e HBsAg não reagente;

Grupo 2 – 100 amostras – pacientes co-infectados pelo HBV/HIV sem marcadores sorológicos para HBV (Anti-HBc, Anti-HBs, e HBsAg não reagentes);

Avaliação infecção oculta pelo HBV:

Para a realização do PCR em tempo real será utilizado um kit comercial (Qlamp® DNA Blood Mini Kit, Qiagen).

Resultados esperados:

Identificar os casos de hepatite B oculta e avaliar a eficácia desta técnica em relação a outras já utilizadas na rotina laboratorial. Os resultados poderão subsidiar a Vigilância Epidemiológica na adequação de medidas de prevenção e controle dessa infecção na população estudada.

Documentos apresentados:

- Cadastro on-line de pesquisa
- Projeto de pesquisa
- Termo de colaboração do Instituto Adolfo Lutz (Laboratório de Hepatites e Núcleo de Doenças Sanguínea e Sexuais)
- Conselho técnico-científico – CTC/IAL
- Termo de consentimento livre e esclarecido
- Avaliação de interesse institucional – Serviço de Extensão ao Atendimento de Pacientes HIV/AIDS – Casa da Adis - Divisão de Moléstias Infecciosas e Parasitárias, atestando ausência de conflito com outro projeto da instituição.

Serão avaliados os pacientes atendidos sequencialmente no serviço. As amostras (soro ou plasma) serão coletadas de forma aleatória, de pacientes inicialmente que alegam ser HIV positivos apenas, sem marcadores sorológicos para HBV. Posteriormente, os pacientes serão divididos nos grupos apresentados no projeto, sendo o grupo 1 constituído apenas por amostras de pacientes HIV positivos com Anti-HBc isolado e o grupo 2 apenas HIV positivo, sem marcadores para HBV.”

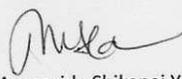
O referido projeto tem finalidade acadêmica e constitui projeto de dissertação de mestrado da aluna Samira Julien Calux.

A aluna participará da seleção e convocação dos pacientes participantes. A orientação do projeto é responsabilidade da Profa Regina Célia Moreira. A Dra. Maria Cássia Mendes Corrêa é pesquisadora convidada e participará da convocação dos pacientes incluídos.

O projeto está planejado satisfatoriamente, é relevante e não há questões éticas pendentes.

Aprovado.

A Comissão aprovou o presente projeto com base no parecer do relator.



Profª Maria Aparecida Shikanai Yasuda
Coordenadora da Comissão de Ética e Pesquisa
do Depto de Moléstias Infecciosas e Parasitárias

ANEXO 3

Pacientes com perfil de susceptibilidade ao HBV

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-2	F	45	X		X	X							NR	NR	NR	ND	433	852	0,51	<40
BO-9	M	49	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	1168	741	1,58	<40
BO-12	F	50	X			X			X				NR	NR	NR	ND	537	1273	0,42	<40
BO-17	F	52	X					X		X			NR	NR	NR	ND	632	1087	0,58	88
BO-20	F	55	X	X	X								NR	NR	NR	ND	449	1206	0,37	<40
BO-22	F	44	X	X	X								NR	NR	NR	ND	391	492	0,79	<40
BO-23	F	64	X			X	X	X					NR	NR	NR	ND	871	682	1,28	44
BO-25	M	43	X		X	X							NR	NR	NR	ND	823	1117	0,74	<40
BO-27	M	50	X			X				X			NR	NR	NR	ND	613	535	1,15	<40
BO-33	M	51	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	361	1160	0,31	<40
BO-35	M	52	X	X			X						NR	NR	NR	ND	333	1027	0,32	96287

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-44	M	40	X	X					X				NR	NR	NR	ND	1283	1403	0,91	<40
BO-47	M	39	X		X	X							NR	NR	NR	ND	655	925	0,71	<40
BO-56	F	51	X	X									NR	NR	NR	ND	811	641	1,27	<40
BO-59	F	66	X	X	X			X			X	X	NR	NR	NR	ND	540	357	1,51	<40
BO-61	F	60	X			X			X				NR	NR	NR	ND	909	1033	0,88	53
BO-62	M	47	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	139	375	0,37	350
BO-64	M	45	X		X	X							NR	NR	NR	ND	768	1296	0,59	2116
BO-65	F	62	X	X	X								NR	NR	NR	ND	427	664	0,64	<40
BO-67	M	45	X	X	X								NR	NR	NR	ND	494	734	0,67	<40
BO-68	F	67	X	X						X			NR	NR	NR	ND	1009	1362	0,74	43
BO-71	F	37	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	1042	571	1,82	<40
BO-74	M	40	X	X	X								NR	NR	NR	ND	1057	781	1,35	<40
BO-79	F	52	X	X		X	X	X					NR	NR	NR	ND	261	746	0,35	<40
BO-81	F	58	X	X				X				X	NR	NR	NR	ND	769	627	1,23	<40
BO-82	M	49	X			X			X				NR	NR	NR	ND	666	724	0,92	<40
BO-86	M	43	X	X	X								NR	NR	NR	ND	719	787	0,91	<40

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-87	F	42	X			X		X		X			NR	NR	NR	ND	491	810	0,61	<40
BO-89	M	55	X			X	X	X					NR	NR	NR	ND	475	917	0,52	<40
BO-94	F	35	X			X		X		X			NR	NR	NR	ND	1262	1763	0,72	<40
BO-97	F	52	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	725	306	2,37	<40
BO-99	F	47				X			X				NR	NR	NR	ND	378	411	0,92	<40
BO-100	F	62		X		X				X			NR	NR	NR	ND	818	578	1,42	<40
BO-110	F	57	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	563	597	0,94	<40
BO-113	M	52				X				X			NR	NR	NR	ND	780	678	1,15	<40
BO-116	F	47	X		X	X							NR	NR	NR	ND	1068	1363	0,78	<40
BO-117	M	50				X		X			X		NR	NR	NR	ND	563	1501	0,38	<40
BO-127	M	49				X	X	X					NR	NR	NR	ND	735	1245	0,59	<40
BO-129	F	42				X	X						NR	NR	NR	ND	508	636	0,80	<40
BO-130	M	54		X		X		X			X		NR	NR	NR	ND	178	910	0,20	12976
BO-132	M	63	X	X				X			X		NR	NR	NR	ND	351	1352	0,26	<40
BO-133	M	20	X	X				X			X	X	NR	NR	NR	ND	672	665	1,01	<40
BO-136	F	48	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	305	694	0,44	2511

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-141	F	51	X	X	X								NR	NR	NR	ND	518	896	0,58	<40
BO-144	M	52	X		X							X	NR	NR	NR	ND	884	491	1,80	<40
BO-149	F	54	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	584	1036	0,56	<40
BO-151	M	42				X			X				NR	NR	NR	ND	429	294	1,46	<40
BO-152	F	55	X	X	X								NR	NR	NR	ND	311	802	0,39	<40
BO-154	M	41	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	41	634	0,06	47378
BO-157	M	70	X	X						X			NR	NR	NR	ND	368	686	0,54	<40
BO-165	M	66	X			X	X	X					NR	NR	NR	ND	757	916	0,83	<40
BO-166	F	44	X	X				X		X			NR	NR	NR	ND	637	728	0,88	<40
BO-168	F	53	X	X				X			X	X	NR	NR	NR	ND	71	759	0,09	50
BO-170	M	57	X		X	X							NR	NR	NR	ND	494	856	0,58	<40
BO-173	M	54	X			X	X	X					NR	NR	NR	ND	686	614	1,12	<40
BO-176	M	30											NR	NR	NR	ND	858	1251	0,69	14328
BO-179	F	32											NR	NR	NR	ND	918	1070	0,86	9685
BO-181	F	48											NR	NR	NR	ND	507	1583	0,32	12023
BO-182	M	28											NR	NR	NR	ND	435	1315	0,33	21683

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-183	M	38											NR	NR	NR	ND	549	809	0,68	14735
BO-186	F	57											NR	NR	NR	ND	604	817	0,74	<40
BO-188	M	29											NR	NR	NR	ND	537	1333	0,40	12545
BO-189	F	40											NR	NR	NR	ND	399	1124	0,35	17246
BO-191	M	30											NR	NR	NR	ND	628	533	1,18	10261
BO-194	F	31											NR	NR	NR	ND	751	1317	0,57	101
BO-199	F	43		X				X		X			NR	NR	NR	ND	836	537	1,56	<40
BO-200	F	50	X			X			X				NR	NR	NR	ND	911	979	0,93	<40
BO-201	M	49	X		X	X							NR	NR	NR	ND	545	681	0,80	<40
BO-202	M	53	X	X				X			X	X	NR	NR	NR	ND	403	650	0,62	<40
BO-203	M	42	X		X	X							NR	NR	NR	ND	1002	2109	0,48	<40
BO-209	F	47	X					X				X	NR	NR	NR	ND	409	1124	0,36	<40
BO-210	M	43				X		X		X			NR	NR	NR	ND	394	684	0,58	<40
BO-212	M	59	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	730	636	1,15	<40
BO-215	F	30				X				X			NR	NR	NR	ND	965	952	1,01	<40
BO-216	F	51	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	139	1221	0,11	2946655

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-217	F	46	X	X	X								NR	NR	NR	ND	861	861	1,00	<40
BO-219	F	71	X							X		X	NR	NR	NR	ND	897	1227	0,73	<40
BO-225	F	53	X	X				X			X	X	NR	NR	NR	ND	524	866	0,61	<40
BO-228	M	36											NR	NR	NR	ND	672	1381	0,49	114755
BO-230	M	32											NR	NR	NR	ND	52	300	0,17	1640821

F: feminino; M: masculino; NR: não reagente; ND: não detectado.

ANEXO 4

Pacientes em tratamento com antirretrovirais

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	HBV-DNA (UI/mL)	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-1	F	57	X			X		X		X			NR	NR	R	ND	ND	138	459	0,30	1312
BO-2	F	45	X		X	X							NR	NR	NR	ND	ND	433	852	0,51	<40
BO-3	M	65	X	X		X	X						NR	R	R	ND	ND	595	193	3,08	<40
BO-4	M	58	X	X	X	X							R	NR	R	ND	ND	527	551	0,96	<40
BO-5	M	58	X		X	X							R	NR	NR	ND	ND	656	542	1,21	89
BO-6	F	42	X	X	X	X							R	NR	NR	ND	ND	926	1096	0,84	<40
BO-7	M	45	X	X								X	NR	NR	R	ND	ND	614	866	0,71	<40
BO-8	M	43	X	X									R	NR	NR	ND	ND	628	943	0,67	<40
BO-9	M	49	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	ND	1168	741	1,58	<40
BO-10	M	44	X	X							X	X	R	NR	NR	ND	ND	238	95	2,50	<40
BO-11	F	63	X	X	X								R	NR	NR	ND	ND	955	730	1,31	<40
BO-12	F	50	X			X			X				NR	NR	NR	ND	ND	537	1273	0,42	<40
BO-13	F	56	X					X		X			NR	NR	R	ND	ND	1828	1876	0,97	<40

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	HBV-DNA (UI/mL)	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-14	F	55	X	X				X		X			R	NR	NR	ND	ND	1219	401	3,04	<40
BO-15	M	40	X	X	X								NR	NR	R	ND	ND	784	952	0,82	<40
BO-16	F	35	X	X	X	X		X		X			R	NR	NR	ND	ND	414	715	0,58	<40
BO-17	F	52	X					X		X			NR	NR	NR	ND	ND	632	1087	0,58	88
BO-18	M	66	X			X							R	NR	NR	ND	ND	1353	555	2,44	48
BO-19	F	61	X	X						X			R	NR	NR	ND	ND	398	369	1,08	<40
BO-20	F	55	X	X	X								NR	NR	NR	ND	ND	449	1206	0,37	<40
BO-21	M	69									X		R	NR	R	ND	ND	473	749	0,63	<40
BO-22	F	44	X	X	X								NR	NR	NR	ND	ND	391	492	0,79	<40
BO-23	F	64	X			X	X	X					NR	NR	NR	ND	ND	871	682	1,28	44
BO-24	M	45	X	X						X			R	NR	NR	ND	ND	921	989	0,93	<40
BO-25	M	43	X		X	X							NR	NR	NR	ND	ND	823	1117	0,74	<40
BO-26	M	47	X	X		X							NR	NR	R	ND	ND	279	430	0,65	<40
BO-27	M	50	X			X				X			NR	NR	NR	ND	ND	613	535	1,15	<40
BO-28	M	45	X			X				X			R	NR	R	ND	ND	629	524	1,20	<40
BO-29	M	50	X			X							NR	NR	R	ND	ND	819	1360	0,60	<40

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	HBV-DNA (UI/mL)	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-30	F	48	X			X	X	X					R	NR	NR	ND	ND	590	1189	0,50	<40
BO-31	M	66	X			X	X	X			X		NR	NR	R	ND	ND	894	1285	0,70	52
BO-32	M	55				X				X			R	NR	NR	ND	ND			#DIV/0!	
BO-33	M	51	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	ND	361	1160	0,31	<40
BO-34	M	61	X	X			X	X					R	NR	R	ND	ND	968	906	1,07	<40
BO-35	M	52	X	X			X						NR	NR	NR	ND	ND	333	1027	0,32	96287
BO-36	M	42	X			X		X		X	X		R	NR	R	ND	ND	983	1762	0,56	<40
BO-37	M	62		X				X		X			R	NR	R	ND	ND	513	1587	0,32	<40
BO-38	M	55	X	X	X		X	X		X			NR	NR	R	ND	ND	210	794	0,26	280
BO-39	M	59	X	X	X			X				X	NR	NR	R	ND	ND	828	654	1,27	<40
BO-40	M	49	X		X	X							R	NR	R	ND	ND	1591	1438	1,11	<40
BO-41	M	46	X	X	X								R	NR	R	ND	ND	661	711	0,93	<40
BO-42	F	53	X		X	X							R	NR	NR	ND	ND	588	807	0,73	<40
BO-43	F	41	X	X					X				R	NR	R	ND	ND	674	612	1,10	<40
BO-44	M	40	X	X					X				NR	NR	NR	ND	ND	1283	1403	0,91	<40
BO-45	M	57	X	X						X			R	NR	NR	ND	ND	414	1673	0,25	<40

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	HBV-DNA (UI/mL)	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-46	M	42	X			X				X			R	NR	NR	ND	ND	616	624	0,99	<40
BO-47	M	39	X		X	X							NR	NR	NR	ND	ND	655	925	0,71	<40
BO-48	F	52	X	X	X	X							R	NR	R	ND	ND	477	887	0,54	<40
BO-49	M	48	X			X							R	NR	NR	ND	ND	363	496	0,73	<40
BO-50	M	44			X	X							R	NR	R	ND	ND	720	1686	0,43	<40
BO-51	M	52	X		X	X							R	NR	R	ND	ND	902	1327	0,68	<40
BO-52	F	43	X				X	X			X		R	NR	NR	ND	ND	487	579	0,84	<40
BO-53	F	50	X	X	X								R	NR	NR	ND	ND	565	675	0,84	<40
BO-54	M	25	X	X			X	X					R	NR	NR	ND	ND	1192	1374	0,87	5035
BO-55	F	53	X			X							NR	NR	R	ND	ND	1430	702	2,04	<40
BO-56	F	51	X	X									NR	NR	NR	ND	ND	811	641	1,27	<40
BO-57	M	41	X			X	X	X					R	NR	NR	ND	ND	650	590	1,10	<40
BO-58	M	52	X		X	X							NR	NR	R	ND	ND	528	1456	0,36	<40
BO-59	F	66	X	X	X			X			X	X	NR	NR	NR	ND	ND	540	357	1,51	<40
BO-60	M	36	X	X		X	X	X					R	NR	NR	ND	ND	722	1648	0,44	370
BO-61	F	60	X			X			X				NR	NR	NR	ND	ND	909	1033	0,88	53

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	HBV-DNA (UI/mL)	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-62	M	47	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	ND	139	375	0,37	350
BO-63	M	53	X	X	X			X		X			R	NR	NR	ND	ND	146	112	1,30	<40
BO-64	M	45	X		X	X							NR	NR	NR	ND	ND	768	1296	0,59	2116
BO-65	F	62	X	X	X								NR	NR	NR	ND	ND	427	664	0,64	<40
BO-66	M	52	X		X	X							R	NR	R	ND	ND	469	2969	0,16	6403
BO-67	M	45	X	X	X								NR	NR	NR	ND	ND	494	734	0,67	<40
BO-68	F	67	X	X						X			NR	NR	NR	ND	ND	1009	1362	0,74	43
BO-69	F	58	X	X	X								R	NR	NR	ND	ND	1475	457	3,23	<40
BO-70	M	55	X				X	X				X	R	NR	NR	ND	ND	813	939	0,87	<40
BO-71	F	37	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	ND	1042	571	1,82	<40
BO-72	M	57	X			X		X		X			NR	NR	R	ND	ND	1057	781	1,35	<40
BO-73	M	51	X	X			X	X					R	NR	R	ND	ND	806	1244	0,65	<40
BO-74	M	40	X	X	X								NR	NR	NR	ND	ND	1057	781	1,35	<40
BO-75	M	40	X	X	X								R	NR	R	ND	ND	358	727	0,49	<40
BO-76	M	46	X		X	X							R	NR	R	ND	ND	1038	1616	0,64	<40
BO-77	M	48	X	X	X								R	NR	R	ND	ND	939	1383	0,68	<40

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	HBV-DNA (UI/mL)	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-78	M	48	X		X	X							R	NR	NR	ND	ND	535	775	0,69	<40
BO-79	F	52	X	X		X	X	X					NR	NR	NR	ND	ND	261	746	0,35	<40
BO-80	M	57	X			X		X		X			R	NR	NR	ND	ND	562	826	0,68	<40
BO-81	F	58	X	X				X			X		NR	NR	NR	ND	ND	769	627	1,23	<40
BO-82	M	49	X			X			X				NR	NR	NR	ND	ND	666	724	0,92	<40
BO-83	F	54	X	X	X								R	NR	NR	ND	ND	702	1092	0,64	<40
BO-84	F	41	X	X			X						R	NR	NR	ND	ND	738	970	0,76	<40
BO-85	M	62	X					X		X	X		NR	NR	R	ND	ND	721	1408	0,51	<40
BO-86	M	43	X	X	X								NR	NR	NR	ND	ND	719	787	0,91	<40
BO-87	F	42	X			X		X		X			NR	NR	NR	ND	ND	491	810	0,61	<40
BO-88	M	45	X	X				X		X	X		R	NR	R	ND	ND	607	370	1,64	<40
BO-89	M	55	X			X	X	X					NR	NR	NR	ND	ND	475	917	0,52	<40
BO-90	M	55	X			X	X						R	NR	R	ND	ND	367	1362	0,27	76393
BO-91	F	35	X		X	X							R	NR	NR	ND	ND	1394	589	2,37	<40
BO-92	F	53	X	X	X								R	NR	NR	ND	ND	1161	993	1,17	<40
BO-93	M	52	X		X	X							R	NR	R	ND	ND	392	687	0,57	<40

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	HBV-DNA (UI/mL)	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-94	F	35	X			X	X			X			NR	NR	NR	ND	ND	1262	1763	0,72	<40
BO-95	M	52	X	X							X	X	R	NR	R	ND	ND	218	1183	0,18	193
BO-96	M	41	X		X	X							R	NR	NR	ND	ND	585	777	0,75	88
BO-97	F	52	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	ND	725	306	2,37	<40
BO-98	M	45			X	X							R	NR	R	ND	ND	851	619	1,37	<40
BO-99	F	47				X			X				NR	NR	NR	ND	ND	378	411	0,92	<40
BO-100	F	62		X		X				X			NR	NR	NR	ND	ND	818	578	1,42	<40
BO-101	M	53	X	X				X			X	X	R	NR	R	ND	ND	301	1310	0,23	<40
BO-102	M	65			X	X							R	NR	R	ND	ND	470	416	1,13	<40
BO-103	M	53				X	X	X					R	NR	R	ND	ND	573	811	0,71	<40
BO-104	M	44	X	X	X								R	NR	NR	ND	ND	721	836	0,86	<40
BO-105	M	51	X	X				X			X	X	NR	R	R	Detectado	< 10	325	768	0,42	<40
BO-106	M	44	X	X						X			R	NR	R	ND	ND	85	895	0,09	1147
BO-107	F	46	X	X	X								R	NR	NR	ND	ND	588	339	1,73	<40
BO-108	M	51	X	X				X					NR	NR	R	ND	ND	500	761	0,66	897
BO-109	M	50			X	X							R	NR	R	ND	ND	398	874	0,46	<40

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	HBV-DNA (UI/mL)	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-110	F	57	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	ND	563	597	0,94	<40
BO-111	M	49	X	X				X			X	X	NR	NR	R	ND	ND	581	1303	0,45	<40
BO-112	M	50	X	X						X			NR	R	R	Detectado	462	825	1464	0,56	<40
BO-113	M	52				X				X			NR	NR	NR	ND	ND	780	678	1,15	<40
BO-114	M	61				X				X			R	R	R	ND	ND	520	1375	0,38	<40
BO-115	M	53			X	X							R	NR	R	ND	ND	610	513	1,19	<40
BO-116	F	47	X		X	X							NR	NR	NR	ND	ND	1068	1363	0,78	<40
BO-117	M	50				X		X				X	NR	NR	NR	ND	ND	563	1501	0,38	<40
BO-118	F	69				X			X				R	NR	R	ND	ND	967	893	1,08	<40
BO-119	M	58				X				X			NR	NR	R	ND	ND	718	1262	0,57	117
BO-120	M	48		X	X					X	X		NR	NR	R	ND	ND	562	1653	0,34	232
BO-121	M	44	X			X				X			R	NR	NR	ND	ND	890	1084	0,82	<40
BO-122	F	65	X	X	X								NR	R	NR	Detectado	< 10	699	936	0,75	<40
BO-123	M	56	X	X								X	NR	R	NR	ND	ND	377	1202	0,31	<40
BO-124	M	40			X	X							R	NR	R	ND	ND	944	1203	0,78	<40
BO-125	M	52	X	X				X				X	R	NR	R	ND	ND	546	1334	0,41	<40

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	HBV-DNA (UI/mL)	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-126	M	47	X	X			X	X					R	NR	R	ND	ND	941	1245	0,76	<40
BO-127	M	49				X	X	X					NR	NR	NR	ND	ND	735	1245	0,59	<40
BO-128	F	55				X			X				R	NR	NR	ND	ND	264	905	0,29	<40
BO-129	F	42				X	X						NR	NR	NR	ND	ND	508	636	0,80	<40
BO-130	M	54		X		X		X				X	NR	NR	NR	ND	ND	178	910	0,20	12976
BO-131	M	51			X	X							R	NR	NR	ND	ND	1059	712	1,49	<40
BO-132	M	63	X	X				X				X	NR	NR	NR	ND	ND	351	1352	0,26	<40
BO-133	M	20	X	X				X			X	X	NR	NR	NR	ND	ND	672	665	1,01	<40
BO-134	M	34			X								R	NR	R	ND	ND	646	1354	0,48	<40
BO-135	M	50	X	X							X		R	NR	R	ND	ND	1023	832	1,23	<40
BO-136	F	48	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	ND	305	694	0,44	2511
BO-137	M	51				X	X	X					R	NR	NR	ND	ND	229	530	0,43	<40
BO-138	M	60		X		X				X			NR	NR	R	ND	ND	442	571	0,77	80
BO-139	M	38				X	X						R	NR	R	ND	ND	673	959	0,70	<40
BO-140	F	44				X				X			R	NR	NR	ND	ND	732	800	0,92	<40
BO-141	F	51	X	X	X								NR	NR	NR	ND	ND	518	896	0,58	<40

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	HBV-DNA (UI/mL)	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-142	M	43				X		X				X	R	NR	NR	ND	ND	733	1411	0,52	<40
BO-143	M	64	X				X	X					R	NR	NR	ND	ND	792	1335	0,59	<40
BO-144	M	52	X		X							X	NR	NR	NR	ND	ND	884	491	1,80	<40
BO-145	M	32	X	X	X								R	NR	R	ND	ND	323	1595	0,20	68374
BO-146	F	52	X	X						X			R	NR	NR	ND	ND	1219	524	2,33	71
BO-147	F	48	X	X	X								R	NR	NR	ND	ND	1439	928	1,55	<40
BO-148	M	60				X			X				NR	NR	R	ND	ND	1593	1228	1,30	<40
BO-149	F	54	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	ND	584	1036	0,56	<40
BO-150	M	64	X	X	X	X							NR	R	NR	ND	ND	598	1168	0,51	<40
BO-151	M	42				X			X				NR	NR	NR	ND	ND	429	294	1,46	<40
BO-152	F	55	X	X	X								NR	NR	NR	ND	ND	311	802	0,39	<40
BO-153	M	73			X	X							NR	NR	R	ND	ND	579	745	0,78	<40
BO-154	M	41	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	ND	41	634	0,06	47378
BO-155	F	45	X	X						X			R	NR	R	ND	ND	722	862	0,84	1639398
BO-156	F	46				X				X			R	NR	NR	ND	ND	584	921	0,63	<40
BO-157	M	70	X	X						X			NR	NR	NR	ND	ND	368	686	0,54	<40

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	HBV-DNA (UI/mL)	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-158	M	50	X	X	X					X			R	NR	NR	ND	ND	613	430	1,43	<40
BO-159	M	44			X	X							R	NR	R	ND	ND	744	970	0,77	<40
BO-160	M	49	X	X	X								R	NR	R	ND	ND	644	577	1,12	<40
BO-161	M	63			X								R	NR	NR	ND	ND	583	975	0,60	<40
BO-163	M	49							X				R	NR	R	ND	ND	748	1088	0,69	<40
BO-164	M	54	X	X	X								NR	NR	R	ND	ND	685	646	1,06	<40
BO-165	M	66	X			X	X	X					NR	NR	NR	ND	ND	757	916	0,83	<40
BO-166	F	44	X	X				X		X			NR	NR	NR	ND	ND	637	728	0,88	<40
BO-168	F	53	X	X				X			X	X	NR	NR	NR	ND	ND	71	759	0,09	50
BO-170	M	57	X		X	X							NR	NR	NR	ND	ND	494	856	0,58	<40
BO-173	M	54	X			X	X	X					NR	NR	NR	ND	ND	686	614	1,12	<40
BO-174	M	64	X			X	X	X					R	NR	R	ND	ND	922	1293	0,71	<40
BO-177	M	44				X		X					R	NR	R	ND	ND	35	962	0,04	524994
BO-195	F	54	X			X			X				R	NR	NR	ND	ND	778	617	1,26	<40
BO-196	F	45	X	X		X		X		X			R	NR	NR	ND	ND	361	626	0,58	<40
BO-197	M	54	X		X	X							R	NR	NR	ND	ND	855	883	0,97	<40

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	HBV-DNA (UI/mL)	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-198	M	52	X	X				X			X	X	R	NR	R	ND	ND	485	1013	0,48	<40
BO-199	F	43		X				X		X			NR	NR	NR	ND	ND	836	537	1,56	<40
BO-200	F	50	X			X			X				NR	NR	NR	ND	ND	911	979	0,93	<40
BO-201	M	49	X		X	X							NR	NR	NR	ND	ND	545	681	0,80	<40
BO-202	M	53	X	X				X			X	X	NR	NR	NR	ND	ND	403	650	0,62	<40
BO-203	M	42	X		X	X							NR	NR	NR	ND	ND	1002	2109	0,48	<40
BO-204	F	21	X			X		X		X			R	NR	NR	ND	ND	617	766	0,81	169032
BO-205	M	40	X	X			X	X					R	NR	R	ND	ND	737	959	0,77	<40
BO-206	M	39	X	X	X								R	NR	NR	ND	ND	236	159	1,48	<40
BO-207	M	63	X				X	X				X	R	NR	R	ND	ND	1176	709	1,66	<40
BO-208	F	53			X	X							R	NR	NR	ND	ND	596	323	1,85	<40
BO-209	F	47	X					X				X	NR	NR	NR	ND	ND	409	1124	0,36	<40
BO-210	M	43				X		X		X			NR	NR	NR	ND	ND	394	684	0,58	<40
BO-211	M	54				X	X						R	NR	NR	ND	ND	659	405	1,63	<40
BO-212	M	59	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	ND	730	636	1,15	<40
BO-213	M	52	X	X	X								R	NR	R	ND	ND	503	458	1,10	<40

Identificação do paciente	Sexo	Idade	Lamivudina	Tenofovir	Efavirenz	Zidovudina	Atazanavir	Ritonavir	Neviraprina	Lopinavir	Raltegravir	Outros	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	HBV-DNA (UI/mL)	CD4	CD8	CD4/CD8	HIV-RNA (cópias/mL)
BO-214	F	42	X	X			X				X		R	NR	NR	ND	ND	421	596	0,71	<40
BO-215	F	30				X				X			NR	NR	NR	ND	ND	965	952	1,01	<40
BO-216	F	51	X	X			X	X					NR	NR	NR	ND	ND	139	1221	0,11	2946655
BO-217	F	46	X	X	X								NR	NR	NR	ND	ND	861	861	1,00	<40
BO-219	F	71	X							X		X	NR	NR	NR	ND	ND	897	1227	0,73	<40
BO-220	M	67			X	X							R	NR	R	ND	ND	550	550	1,00	<40
BO-221	M	43	X	X			X	X					R	NR	NR	ND	ND	217	790	0,27	101
BO-222	M	47				X			X				R	NR	NR	ND	ND	1090	1135	0,96	<40
BO-223	M	55			X	X							R	NR	R	ND	ND	1751	1601	1,09	<40
BO-224	M	56				X				X			R	NR	NR	ND	ND	536	582	0,92	<40
BO-225	F	53	X	X				X			X	X	NR	NR	NR	ND	ND	524	866	0,61	<40
BO-226	M	63				X			X				R	NR	NR	ND	ND	386	1038	0,37	<40
BO-227	M	40				X			X				R	NR	NR	ND	ND	890	560	1,59	<40

F: feminino; M: masculino; R: reagente; NR: não reagente; ND: não detectado.

ANEXO 5

Pacientes portadores do HIV virgens de tratamento

Identificação do Paciente	Sexo	Idade	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	Quantificação HBV-DNA (UI/mL)	CD4	CD8	CD4/CD8	Quantificação HIV-RNA (Cópias/mL)
BO-162	M	52	R	NR	NR	ND	ND	68	602	0,11	456
BO-167	M	47	NR	NR	R	Detectado	< 10	480	740	0,65	34513
BO-169	M	71	NR	NR	R	ND	ND	419	1914	0,22	<40
BO-171	M	27	NR	NR	R	ND	ND	441	1590	0,28	7271
BO-172	M	22	R	NR	NR	ND	ND	308	-	-	78000
BO-175	M	24	R	NR	R	ND	ND	728	878	0,83	434067
BO-176	M	30	NR	NR	NR	ND	ND	858	1251	0,69	14328
BO-178	M	24	R	NR	NR	ND	ND	612	3301	0,19	538445
BO-179	F	32	NR	NR	NR	ND	ND	918	1070	0,86	9685
BO-180	M	60	R	NR	R	ND	ND	141	578	0,24	25084
BO-181	F	48	NR	NR	NR	ND	ND	507	1583	0,32	12023
BO-182	M	28	NR	NR	NR	ND	ND	435	1315	0,33	21683
BO-183	M	38	NR	NR	NR	ND	ND	549	809	0,68	14735
BO-184	M	25	R	NR	NR	ND	ND	64	525	0,12	510828

Identificação do Paciente	Sexo	Idade	Anti-HBs	HBsAg	Anti-HBc Total	Pesquisa HBV-DNA	Quantificação HBV-DNA (UI/mL)	CD4	CD8	CD4/CD8	Quantificação HIV-RNA (Cópias/mL)
BO-185	M	38	NR	NR	R	Detectado	30	661	659	1,00	7615
BO-186	F	57	NR	NR	NR	ND	ND	604	817	0,74	<40
BO-187	F	40	R	NR	R	Detectado	< 10	556	760	0,73	14439
BO-188	M	29	NR	NR	NR	ND	ND	537	1333	0,40	12545
BO-189	F	40	NR	NR	NR	ND	ND	399	1124	0,35	17246
BO-190	M	32	R	NR	R	ND	ND	587	-	-	26551
BO-191	M	30	NR	NR	NR	ND	ND	628	533	1,18	10261
BO-192	M	21	R	NR	NR	ND	ND	652	454	1,44	671
BO-193	M	36	R	NR	R	ND	ND	335	978	0,34	313420
BO-194	F	31	NR	NR	NR	ND	ND	751	1317	0,57	101
BO-218	F	40	R	NR	NR	ND	ND	485	1168	0,42	7929
BO-228	M	36	NR	NR	NR	ND	ND	672	1381	0,49	114755
BO-229	M	22	R	NR	NR	ND	ND	685	1218	0,56	23996
BO-230	M	32	NR	NR	NR	ND	ND	52	300	0,17	1640821
BO-231	F	55	R	NR	NR	ND	ND	1338	581	2,30	<40
BO-232	F	32	R	NR	NR	ND	ND	346	1182	0,29	66454

F: feminino; M: masculino; R: reagente; NR: não reagente; ND: não detectado