

UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE

FACULDADE DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Trabalho de Culminação de Curso:

Frequência e Factores de Risco Associados ao Vírus da Hepatite B (HBV) em Indivíduos Infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), no Centro de Saúde do Alto-Maé, na Cidade de Maputo

AUTORA: Liliana Cândida Dengo

UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Trabalho de Culminação de Curso:

Frequência e Factores de Risco Associados ao Vírus da Hepatite B (HBV) em Indivíduos Infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), no Centro de Saúde do Alto-Maé, na Cidade de Maputo

SUPERVISORES:

dra. Elsa Salvador

Departamento de Ciências Biológicas
Faculdade de Ciências
Universidade Eduardo Mondlane

dra. Cynthia Semá

Departamento de Imunologia
Instituto Nacional de Saúde
Ministério da Saúde

Março de 2010

DECLARAÇÃO DE HONRA

Eu declaro, por minha honra, que este relatório é meu trabalho e que não contém material previamente publicado ou escrito por outra pessoa, sem referências apropriadas.

Nenhum material contido neste relatório foi submetido, como tese de licenciatura, à Universidade Eduardo Mondlane ou a outra Instituição de Ensino Superior .

Todas as contribuições feitas por outrém para a elaboração deste relatório, foram devidamente registadas.

Liliana Cândida Dengo

A Estudante

Maputo, Março 2010

AGRADECIMENTOS

As minhas supervisoras, cuja força, determinação e sucesso, inspirou a culminação desta licenciatura. Não poderia ter feito esta transição: licenciatura→vida profissional, de mãos dadas com pessoas melhores. A quem tenho que agradecer pelo apoio, atenção, paciência, cuidado, amizade e vezes sem conta, perdão. A quem tenho que agradecer pela oportunidade de trabalhar com mulheres batalhadoras, vencedoras e tão inspiradoras.

Quando eu crescer quero ser como vocês.

Ao pessoal do Centro de Saúde do Alto-maé, em especial ao sr. Afonso e ao técnico de laboratório Absalão, sem os quais a pesquisa simplesmente não teria acontecido.

A minha família, amigos e colegas de curso, pelo apoio incondicional e constante

A minha mãe, minha alma e meu coração, por me ensinar a amar sempre e sem medo. A apaixonar-me por tudo o que faço e com paixão viver a vida.

Ao meu Pai, meu Herói! Meu pilar, meu ponto de apoio. Que me ensinou a vencer a luta diária e constante da vida com persistência, empenho, dedicação e a levantar sempre com dignidade, olhar em frente e seguir.

Ao meu marido e ao meu filho, a quem amo incondicionalmente e sobre todas as coisas. Ao meu marido por ter acompanhado passo a passo, o desenrolar da minha licenciatura, dando a mão a cada queda e celebrando cada pequena conquista

A Deus pai, engenhoso, maravilhoso e perfeito em todas as suas criações. Que nos governa com mestria e amor, guiando-nos pelos misteriosos caminhos do nosso viver

Obrigado, Obrigado, Obrigado!

DEDICATÓRIA

Daniel Ntsumi Dengo Baloi, minha vida, minha luz, minha estrela. Que com este passo alcançado, mãe possa te passar parte da herança que tem para te dar. Dignidade, luta, empenho, esperança, paixão pela vida, persistência, dedicação... na esperança que isto te sirva de exemplo e trampolim para alcançares sempre mais e melhor.

Mãe ama-te muito

GLOSSÁRIO

Anticorpo: Anticorpos (Imunoglobulinas) são moléculas glicoprotéicas presentes no soro e nos tecidos, produzidas, nos vertebrados, pelos linfócitos B, em resposta a exposição a substâncias estranhas conhecidas como antígenos.

Antígeno: Qualquer molécula que seja estranha ao organismo e grande o suficiente para se ligar a um anticorpo e iniciar uma resposta imune.

Biossegurança: Regras que asseguram segurança à vida.

Carcinoma hepato-celular: Cancro originários das células epeliais do Fígado

Cirrose Hepática: doença degenerativa do fígado caracterizada pela substituição do parenquima funcional, por tecido fibroso e adiposo.

Co-infecção: Infecção simultânea por dois agentes biológicos

Doença Infecto-contagiosa: Doença altamente contagiosa e infecciosa.

Doença necro-inflamatória: Doença caracterizada por necrose (morte patológica dos tecidos vivos) e inflamação.

Endemia: Doença que se alastra numa região e tem causas exclusivamente locais.

Epidemia: Surto periódico de uma doença infecciosa.

Estado de portador inactivo de HBsAg: Infecção persistente do fígado pelo HBV sem doença

Estádios Imunológicos de Infecção pelo HIV: Intervalos pré-determinados caracterizados pelo número de linfócitos T auxiliares CD4⁺.

Estudo longitudinal: Estudo em que se analisa num determinado momento e num determinado espaço, as características que se pretende estudar.

Estudo transversal: Estudo em que se analisa de forma contínua, durante um período, as características que se pretende estudar.

Gestação: Gravidez

Hemodiálise: Separação de substâncias colóides e cristalóides contidas no sangue, por difusão através de certas membranas porosas.

Hemólise: Ruptura de hemácias.

Hepatite: Inflamação do fígado.

Hepatite B crónica: Doença necro-inflamatória do fígado causada pela infecção pelo HBV

Hepatite B resolvida: Infecção pelo HBV sem evidência virológica, bioquímica ou histológica de infecção ou doença vírica activa

IgG: Anticorpo importante na imunidade do recém nascido

IgM: Anticorpo abundante na resposta imune secundária

Imunodepressão: Diminuição das células do Sistema Imunitário.

Imunossupressão: Supressão na produção nas células do sistema imunitário devido a vários factores.

Linfócitos T auxiliares: Classe de pequenos agranulócitos (Células brancas sem granulos), produzidas na medula óssea, e que nos primeiros dias de vida colonizam o Timo (por isso denominadas T). Estas células coordenam a imunidade celular e humoral.

Marcadores replicativos de HBV: Marcadores celulares que mostram a replicação do HBV.

Macrófagos: Qualquer célula do corpo, que não seja linfócito, que seja especializada em fagocitose. Normalmente derivada de monócitos do sangue e funcionam na maior parte das vezes como células apresentadoras de antígenos.

Morbilidade: Relação entre os casos de moléstia e o número de habitantes de um aglomerado populacional.

Periodo de Janela Imunológica: Periodo em que imunologicamente, o indivíduo afectado não manifesta os sintomas da doença

Prevalência: Dados relacionados a um tema que se mostram com valores superiores.

Prognóstico: Parecer do médico sobre o curso e resultado de uma doença.

Rastreamento: Investigação.

Reactivação da hepatite B: Reaparecimento da doença necro-inflamatória activa do fígado, num indivíduo conhecido por ter estado de portador inactivo do AgHBs ou uma hepatite B resolvida.

Reactivação da replicação do HBV: Quando em indivíduos com HBV latente, este volta a replicar-se.

Seroconversão do HBeAg: Perda do HBeAg e detecção do antiHBe num indivíduo previamente AgHBe positivo e antiHBc negativo, associado com uma diminuição do DNA do HBV no soro para um valor inferior a 10^5 cópias por ml.

Terapêutica: Aplicação de remédios para tratamento de alguma doença.

Triagem: Selecção

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Distribuição mundial do vírus da Hepatite B (HBV) pelas diferentes zonas endémias.	5
Figura 2. Estrutura do vírus da Hepatite B (HBV)	8

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1	9
Concentração de Linfócitos T <i>auxiliares</i> CD4 ⁺ por microlitro de sangue, nos diferentes estádios imunológicos de infecção pelo HIV	
Tabela 2	19
Análise univariada dos dados sócio-demográficos na população de estudo	
Tabela 3	21
Análise univariada de factores de risco na população de estudo	
Tabela 4	22
Análise da contagem de linfócitos T <i>auxiliares</i> CD4 ⁺ e CD8 ⁺ na população de estudo	

LISTA DE GRÁFICOS

	Página	
Gráfico 1	História natural da Infecção por HIV	10
Gráfico 2	Evolução dos diferentes marcadores serológicos durante Infecção aguda pelo HBV	11
Gráfico 3	Evolução dos diferentes marcadores serológicos durante Infecção crónica pelo HBV	11
Gráfico 4.	Frequência de HBV em indivíduos HIV positivos no Centro de Saúde do Alto-Maé	17

LISTA DE ABREVIATURAS

Anti-HBs	Anti-corpo para o HBsAg
Anti-HBc	Anti-corpo para o HBcAg
Anti-Hbe	Anti-corpo para o HBeAg
CHP	Carcinoma Hepatocelular Primário
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EDTA	Ácido tetraacético etileno diamínico (anticoagulante)
EIA	Ensaio Imuno-enzimático
ELISA	Ensaio imunoenzimático ligado à enzima
HbcAg	Antígeno central para Hepatite B
HbeAg	Antígeno primário para Hepatite B
HbsAg	Antígeno de superfície para Hepatite B
HBV	Vírus da Hepatite B
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IgG	Imunoglobulina do tipo G
IgM	Imunoglobulina do tipo M
INS	Instituto Nacional de Saúde
ITS	Infecção de Transmissão Sexual
TARV	Tratamento anti-retroviral
TCD4⁺	Linfócitos auxiliares timo-dependentes com marcadores CD4
TCD8⁺	Linfócitos auxiliares timo-dependentes com marcadores CD8
WHO	<i>World Health Organization</i> (Organização Mundial da Saúde)
PAV	Programa Alargado de Vacinação
<i>p</i>	Significância estatística
UNGASS	Declaração de Compromisso em HIV e SIDA na Sessão Especial da Assembléia das Nações Unidas sobre o HIV/SIDA

LISTA DE ANEXOS

- Anexo 1 Termo de Consentimento
- Anexo 2 Questionário
- Anexo 3 Informação sobre o presente estudo, dirigida ao paciente
- Anexo 4 Requisição para contagem de linfócitos TCD4+ e TCD8 e marcadores HBV
- Anexo 5 Citometria de Fluxo
- Anexo 6 ELISA
- Anexo 7 Autorização por parte do Comité Nacional da Bioética para Saúde, para realização do presente estudo
- Anexo 8 Autorização por parte do Ministério da Saúde para realização do presente estudo
- Anexo 9 Credencial da Direcção de Saúde da Cidade de Maputo para a realização do presente estudo

RESUMO

A hepatite é uma doença infecciosa que constitui um problema de saúde pública mundial. De entre os diferentes vírus que causam hepatite, o vírus da Hepatite B (HBV), representa uma das maiores causas mundiais de hepatite crónica, cirrose e carcinoma hepatocelular, apesar da vacina para hepatite B estar disponível desde os anos 80. O presente estudo teve como objectivo principal determinar a frequência do HBV em indivíduos serologicamente positivos para o vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), determinar as suas características sócio-demográficas, analisar alguns factores de risco associados ao HBV e analisar os valores de Linfócitos T *auxiliares* CD4⁺ na população de estudo. Para este estudo foi usada uma amostra de 300 pacientes sero-positivos para o HIV provenientes da consulta de doença crónica do centro de saúde do Alto-maé, que procuraram esta unidade sanitária durante o período de Maio à Outubro de 2009, para realizar a contagem de linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺, que é feita no laboratório de imunologia do Instituto Nacional de Saúde (INS), em Maputo. Foi analisada a presença de marcadores serológicos (antígeno de superfície, HbsAg) para Hepatite B e estudados, por meio de um questionário, os factores de risco associados a seropositividade para o HBV. Foi também calculada a taxa de co-infecção HIV e HBV. O questionário avaliou dados sócio-demográficos como: sexo, idade, raça, estado civil, nível de escolaridade; e factores de risco como: número de parceiros sexuais, transfusão sanguínea prévia, história de infecções transmitidas sexualmente, uso de drogas injectáveis, imunização para Hepatite B, história familiar de hepatite B, consumo de álcool e tabaco, gravidez e aborto. Os dados foram organizados em tabelas e gráficos e analisados estatisticamente, com a utilização do programa SPSS versão 15. Foi encontrada uma frequência de HBV de 30.3%. Os dados mostraram maior frequência de HBV em indivíduos com uma média de 34 anos de idades, do sexo feminino, do estado civil solteiro, de raça negra, com nível de escolaridade primário, com história de infecção de transmissão sexual e com apenas um parceiro sexual. Os factores de risco associados a seropositividade para o HBV que se mostraram estatisticamente significativos, após a análise multivariada foram história familiar de hepatite B, múltiplos parceiros sexuais e nas mulheres a gestação. Pelo exposto conclui-se que é urgente a necessidade de estudos mais profundos e o investimento para que a testagem para o HBV ocorra de rotina nos serviços de saúde, de modo a que haja diagnóstico e tratamento precoces.

INDICE

Declaração de Honra	I
Agradecimentos	II
Dedicatória	III
Glossário	IV
Lsta de Figuras	VII
Lista de Tabelas	VIII
Lista de Gráficos	IX
Lista de Abreviaturas	X
Lista de Anexos	XI
Resumo	XII
1. Introdução	4
1.1. Problema e Justificação do Estudo	6
1.2. Revisão Bibliográfica	8
1.3. Diagnóstico Serológico de Hepatite B	10
2. Objectivos	12
2.1. Objectivo Geral	12
2.2. Objectivos Específicos	12
3. Hipóteses	12
4. Area de Estudo	13
5. Metodologia	13
5.1. Procedimentos	14
5.2. Testes Laboratoriais	14
5.3. Considerações Éticas	15
5.4. Análise Estatística	16

6. Resultados	17
6.1. Frequência do Vírus da Hepatite B	17
6.2. Características Sócio-Demográficas na População de Estudo	18
6.3. Factores de Risco para Infecção pelo Vírus da Hepatite B	20
6.4. Análise dos Valores de Linfócitos Auxiliares TCD4 ⁺ e TCD8 ⁺	22
6.5. Análise Multivariada dos Factores de Risco	22
7. Discussão dos Resultados	23
8. Conclusão	27
9. Recomendações	29
10. Referências Bibliográficas	30
11. Anexos	34

1. INTRODUÇÃO

Infeções de transmissão sexual (ITS's) como a Hepatite B causada pelo HBV e algumas infecções características do Síndrome de Imunodeficiência Humana (SIDA), representam nos dias de hoje um dos maiores problemas de saúde pública dos países em desenvolvimento. Milhões de pessoas são afectadas por estas infecções devido ao fraco acesso a cuidados de saúde, nutrição inadequada e condições de vida adversas (Moges *et al.*, 2006).

ITS's provocadas por HIV e HBV constituem um grande peso económico para países em desenvolvimento e existem evidências que o controlo das mesmas pode contribuir para a redução da transmissão do HIV (Moges *et al.*, 2006)

O HBV é altamente infeccioso e encontra-se associado a mortalidade e morbilidade de longo curso devido a complicações como cirrose, hipertensão portal e carcinoma hepatocelular (Drosten *et al.*, 2004). Estima-se que actualmente cerca de dois biliões de pessoas estejam infectadas pelo HBV e que 350 milhões possuam infecção crónica (Moges *et al.*, 2006; Parani e Almeida, 2005).

O mundo divide-se em regiões de baixa, intermédia e alta endemicidade para o HBV (fig.1). Moçambique, que faz parte das regiões de alta endemicidade, possui, segundo relatório da Nações Unidas, uma prevalência de HBV estimada entre 5-20% (Ramanlal, 2007).

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) vem-se alastrando em taxas alarmantes por todo o mundo. Foi estimado em finais de 2006, que 39.5 milhões de pessoas estavam infectadas pelo HIV e que a maioria destes casos se encontravam na África sub-saariana. Segundo a assembleia geral das Nações Unidas sobre o HIV/SIDA (UNGASS), até 2007, em Moçambique, cerca de 16% da população encontrava-se infectada pelo HIV, o que corresponde a cerca de 1.6 milhões de pessoas.

Segundo Pereira (2006) citando Rustgi (1984), em indivíduos HIV positivos a prevalência de infecção por HBV é 10 vezes mais elevada quando comparada com a prevalência na população em geral. Este facto é sustentado pela WHO (2004) que afirma que a co-infecção por HBV tem sido reportada em 90% dos casos de pacientes infectados por HIV.

O risco de HBV associado a doença de fígado terminal encontra-se exacerbado em casos de co-infecção com HIV (Chang *et al.*, 2009; Hoffman *et al.*, 2009; Nunes-Hernandez *et al.*, 2009 e Rosenthal *et al.*, 2009) e a presença do HBV no portador do HIV reveste-se de importância clínica, pois a ocorrência desta co-infecção favorece um pior prognóstico do paciente e acelera a progressão da doença pelo HBV. Esta co-infecção ocorre entre 10 a 50% (De Souza *et al.*, 2004)

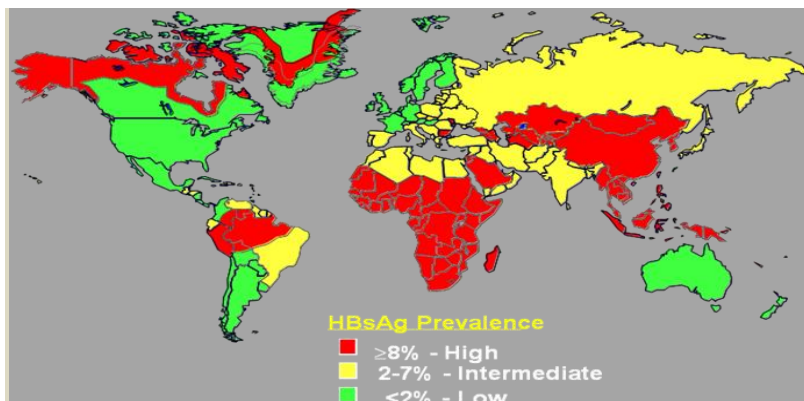


Figura 1. Distribuição mundial do Vírus da Hepatite B (HBV) pelas diferentes regiões endémicas
(Fonte: www.rit.edu)

1.2. PROBLEMA E JUSTIFICAÇÃO DO ESTUDO

Altas taxas de infecções por HBV têm sido reportadas em indivíduos HIV positivos em todo o mundo (Chang *et al.*, 2009; De Souza *et al.*, 2004; Moges *et al.*, 2006; Ruta *et al.*, 2005) e algumas evidências clínicas chamam atenção para esta co-infecção.

Segundo Knipe *et al* (2007) Ruta *et al.*, (2005), Hoffman *et al.* (2009), Nunes-Hernandez *et al.* (2009) e Rosenthal *et al.* (2009), em indivíduos previamente curados de hepatite B, severamente imunodeprimidos, na fase final do Síndrome de Imunodeficiência Humana (SIDA), pode ocorrer uma reactivação da replicação do HBV, algumas vezes acompanhada pela exacerbação da doença aguda do fígado que pode levar a morte por cirrose ou carcinoma hepatocelular primário.

O HBV não possui efeito directo sobre os níveis de linfócitos TCD4⁺, ou sobre a carga de HIV, mas é influenciado pelo tratamento anti-retroviral (TARV), precisamente pela lamiduvina e pelo tenovir, que podem conduzir a resolução da infecção por este vírus (Stuart *et al.*, 2009; Kosi *et al.*, 2010 e Reijnders *et al.*, 2010). Por outro lado, segundo Lewin *et al.* (2009) a coinfeção por HIV também não influencia na dinâmica do tratamento da hepatite crónica.

Segundo Martelli *et al* (1990), Chun *et al.* (2010), Sellier *et al.* (2010) Nunes-Hernandez *et al.* (2009) Rosenthal *et al.* (2009) e Stuart *et al.* (2009) as investigações epidemiológicas sobre a dinâmica de transmissão da infecção pelo HBV e pelo HIV, ganharam um novo impulso, não só pela similaridade dos mecanismos de transmissão (sexual, vertical e parenteral), mas também pela similaridade dos factores de risco associados aos grupos mais acometidos por ambas infecções.

A prevalência da infecção pelo HBV, na população moçambicana, tem sido notificada pelo rastreamento serológico realizado nos bancos de sangue, em inquéritos epidemiológicos regionais com finalidade de pesquisa e tem como população de estudo refugiados, doadores de sangue e populações mistas (com e sem HIV) (Ramanlal, 2007).

Estudos de prevalência e perfil sócio-demográfico constituem bases de dados com informações básicas para formular estratégias de prevenção. Resultados sobre a frequência e factores de risco associados ao HBV ajudam-nos a identificar o problema e chamam a atenção para que haja avaliação rotineira do HBV na população moçambicana em geral e não somente em determinados grupos .

1.3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O HBV é um vírus pertencente a família *Hepadnaviridae*, género *Orthohepadnavirus*. Estruturalmente, é um vírus pequeno, com *vírion* envelopado, contendo genoma DNA circular de cadeia parcialmente dupla. O genoma é rodeado por uma capa antigénica (HBcAg) e um envelope contendo antígeno de superfície glicoprotéico para a hepatite B (HBsAg) (fig. 2). Partículas contendo HBsAg e grande número de *vírions* são libertadas no soro de pessoas infectadas. (Murray *et al*, 1998).

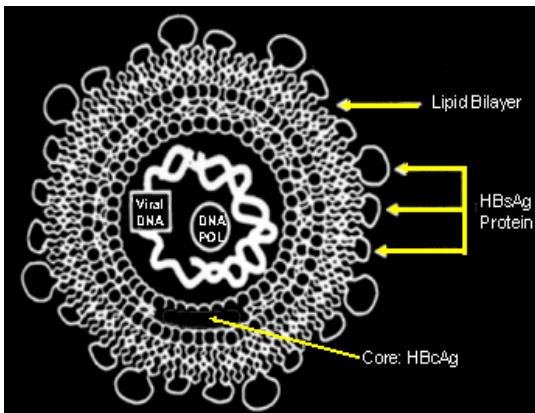


Figura 2. Estrutura do vírus da Hepatite B (HBV). Vê-se no centro da figura, o genoma viral (DNA) e a DNA Polimerase rodeados pelo antígeno central para o HBV (HBcAg). Vê-se também a bicamada lipídica e proteínas do antígeno de superfície (HBsAg) (Fonte:www.techno.msu.ac.th)

O sangue e os líquidos corporais são os veículos primários de transmissão deste vírus, que por ser resistente e suportar extremos de temperatura e humidade, também se pode propagar por contacto com secreções corporais, como o sêmen, saliva, suor, lágrimas, leite materno e efusões patológicas. A transfusão de sangue, diálise, acidentes por picada de agulha entre profissionais de saúde, abuso de drogas endovenosas e actividade homossexual constituem as principais categorias de risco para infecção por HBV. Em um terço dos pacientes, a fonte de infecção é desconhecida. Em regiões endémicas, como a África e sudoeste Asiático, a disseminação de uma mãe infectada para o recém-nascido durante o nascimento (transmissão vertical), é comum. Estas infecções neonatais com frequência levam a um estado de portador vitalício. (Cotran, *et al.*, 2000).

O HIV é um vírus que pertence à família *Retroviridae*, subfamília *Lentivirinae*, caracterizada por vírus lentos, com evolução lenta da doença associados a doenças neurológicas e imunossupressoras. (Murray *et al*, 1998).

Um factor determinante na patogenia do HIV ao Homem é o tropismo aos macrófagos e linfócitos T *helper* (auxiliares) que expressam o marcador de superfície CD4. A imunossupressão induzida pelo HIV resulta da redução de linfócitos T CD4⁺, que compromete as funções *auxiliares*. A perda de linfócitos T CD4⁺, permite o desenvolvimento de infecções intracelulares características do SIDA. (Murray *et al*, 1998).

A célula TCD4⁺ pode ser vista como um dos maiores reguladores da defesa do corpo humano. A célula T CD4⁺ secreta factores solúveis (citocinas) e influencia a função de praticamente todas as outras células do sistema imune (activação de macrófagos, síntese de anticorpos, etc.). (Cotran, *et al.*. 2000).

As células TCD4⁺ tem um papel preponderante no diagnóstico da infecção pelo HIV. Sendo que, dependendo da quantidade de células circulantes, estaremos em presença de um estágio característico de infecção por este vírus.

Tabela 1. Concentração de Linfócitos T *auxiliares* CD4⁺ por microlitro (µl) de sangue, nas diferentes fases de infecção pelo HIV

Estadío Imunológico (células/µl de sangue)	Fase
<1000	Infecção Primária
1000-500	Infecção Aguda
500-200	Latencia Clínica/ Fase Crónica
>200	Sintomas Constitucionais, Doenças Oportunistas e Morte/ SIDA

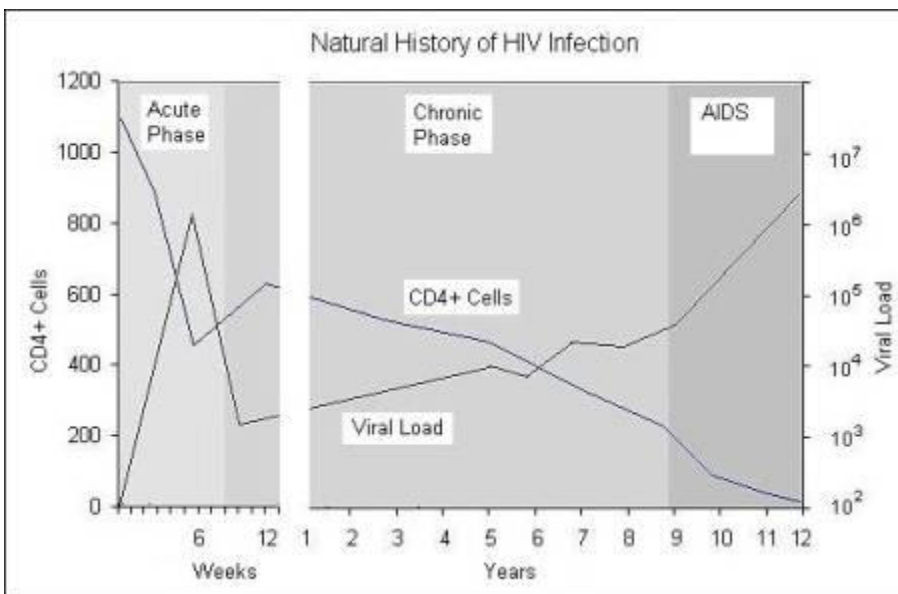


Gráfico 1. História natural da infecção por HIV. Concentração de Linfócitos T *auxiliares* CD4⁺ por microlitro (μ l) de sangue e da carga viral, ao longo do tempo, nas diferentes fases de infecção (fase aguda/ acute phase, fase crónica/ cronic phase e SIDA/ AIDS) pelo HIV. **Fonte:** hivmedicine.aidsportugal.com

1.4. DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DA INFECÇÃO POR HBV

Os marcadores imunológicos da infecção por HBV mais utilizados são o antígeno de superfície (HBsAg), os anticorpos específicos contra o antígeno de superfície (anti-HBs), os anticorpos contra o antígeno central (anti-HBc) que podem ser da subclasse IgM ou IgG, e o antígeno primário (HbeAg) e seu anticorpo específico anti-HBe, estes marcadores podem ser detectados por imunoensaios enzimáticos (EIA).

O primeiro marcador a ser detectado no sangue no período de Janela Imunológica, é o HBsAg, que, por sua vez, encontra-se muito elevado na fase aguda; o segundo marcador a ser detectado é o HBeAg, que indica alto grau de replicação viral; em casos em que ocorre evolução normal, o HBeAg em poucas semanas é seroconvertido em anti-HBe. O terceiro marcador serológico a ser encontrado é o anti-HBc, ainda na fase aguda, em seguida há o aparecimento gradativo do anti-HBc IgG, ao mesmo tempo que ocorre um desaparecimento do anti-HBc IgM (Da Silva, 2007). Os gráficos 3 e 4 mostram a evolução destes marcadores serológicos durante a infecção aguda e durante a infecção crónica.

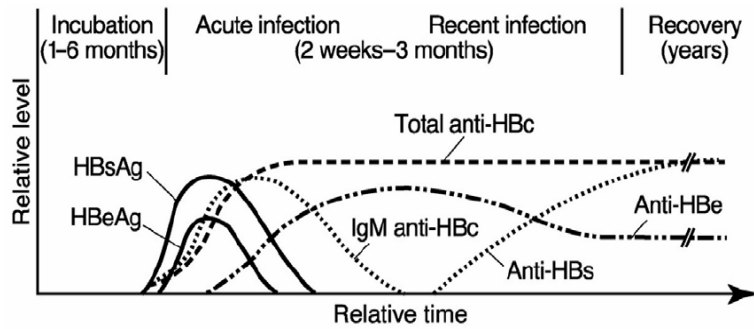


Gráfico 2. Variação dos marcadores serológicos do vírus da Hepatite B (HBV): HbsAg, HbeAg e HbcAg, a níveis e tempo relativo, durante a infecção aguda, que corresponde a Incubação, infecção aguda propriamente dita e recuperação que pode levar anos. (Fonte: Da Silva, 2007)

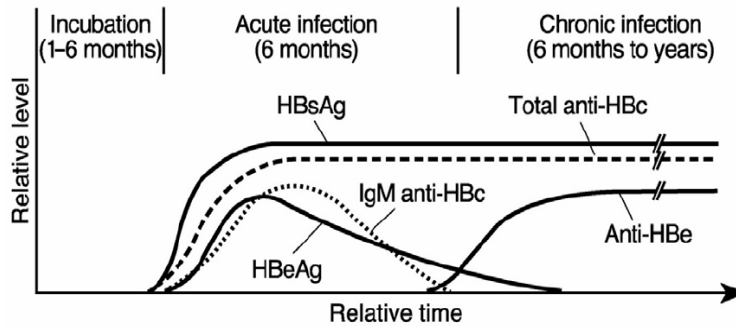


Gráfico 3. Variação dos marcadores serológicos do vírus da Hepatite B (HBV): HbsAg, HbeAg e HbcAg, a níveis e tempo relativo, durante infecção crônica, que corresponde a Incubação, infecção aguda e infecção crônica que pode levar de seis meses a anos. (Fonte: Da Silva, 2007)

2. OBJECTIVOS

2.1. OBJECTIVO GERAL

- Estimar a frequência do vírus da hepatite B (HBV) em indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) nas consultas de triagem e doença crónica do Centro de Saúde do Alto-Maé, em Maputo.

2.2. OBJECTIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar as características sócio-demográficas dos indivíduos co-infectados por HBV-HIV;
- Identificar os factores de risco associados a transmissão do HBV;
- Determinar a média de linfócitos T auxiliares CD4⁺, no grupo de indivíduos co-infectados pelo HBV e HIV;

3. HIPÓTESES

H₀: 15% dos indivíduos que frequentam as consultas de triagem e doença crónica do Centro de Saúde do Alto-Maé encontram-se co-infectados por HIV-HBV;

H₁: Os indivíduos que frequentam as consultas de triagem e doença crónica do Centro de Saúde do Alto-Maé não se encontram co-infectados por HIV-HBV;

H₀: De entre os indivíduos co-infectados por HIV-HBV, 60% apresentam como factores de risco múltiplos parceiros sexuais, história de drogas endovenosas e história de transfusão sanguínea.

H₁: Os indivíduos co-infectados por HIV-HBV, não apresentam como factores de risco múltiplos parceiros sexuais, história de drogas endovenosas e história de transfusão sanguínea.

4. ÁREA DE ESTUDO

O recrutamento para o presente estudo realizou-se no Centro de Saúde do Alto-Maé. O Centro de Saúde do Alto-Maé localiza-se no distrito urbano N°1, do município de Maputo, no bairro do Alto-Maé, esquina das avenidas Eduardo Mondlane e Albert Lithuli. Este Centro possui três (3) gabinetes para atendimento de indivíduos seropositivos. Nomeadamente, duas (2) consultas de triagem para adultos e um gabinete para atendimento de indivíduos seropositivos que estejam ou não em tratamento anti-retroviral (TARV).

A análise laboratorial das amostras decorreu no Laboratório de Imunologia do Departamento de Imunologia do Instituto Nacional de Saúde (INS), que se encontra também localizado no distrito urbano N°1 do Município de Maputo, bairro da Polana, no recinto do Hospital Central de Maputo sito entre as avenidas Eduardo Mondlane, Salvador Allende, Agostinho Neto e Tomás Nduda.

O Laboratório de Imunologia possui 5 unidades: Laboratório de Imunologia Celular; Laboratório de Biologia Molecular, Laboratório de Isolamento Viral, Laboratório de Serologia e a Unidade de Pesquisa Clínica. As análises das amostras do presente estudo decorreram nos laboratórios de Serologia e de Imunologia Celular.

5. METODOLOGIA

O presente estudo foi de carácter transversal, ou seja, analisou-se dados sócio-demográficos, comportamentais e serológicos do grupo de estudo num determinado momento no tempo e espaço, não se fez o acompanhamento da evolução clínica deste grupo.

Foram recrutados 500 indivíduos para os quais, considerou-se como critérios de inclusão, teste rápido positivo para o HIV e idade igual ou superior a 18 anos. E como critério de exclusão gravidez e distúrbios psiquiátricos.

5.1. PROCEDIMENTOS

1. Foram identificados os candidatos que preenchiam os requisitos para participar do estudo e solicitou-se a sua participação no mesmo. Estes saíam da consulta de doença crónica com uma requisição para contagem de Linfócitos TCD4⁺.
2. Foi-lhes explicado o propósito e as condições para participação no estudo.
3. Foi-lhes pedido que assinassem ou que colocassem a sua impressão digital, para o caso dos participantes que não sabiam escrever, num consentimento escrito (ANEXO 1).
4. Foi-lhes aplicado um questionário para recolha de dados sócio-demográficos e comportamentais (ANEXO 2).
5. Foi-lhes entregue uma ficha informativa sobre o estudo (ANEXO 3).
6. Foi anexada, à requisição que traziam, uma outra com pedido para análise de marcadores HBV e código de estudo (ANEXO 4).
7. No laboratório, o sangue foi colhido para tubos identificados com o código do estudo. Estes tubos eram de 6ml e continham EDTA.
8. Os tubos foram transportados para o laboratório de Imunologia, dentro de 4 horas, no interior de uma caixa térmica contendo gelo e um suporte apropriado para tubos, sem contacto das amostras com o exterior, para se proceder a análise laboratorial.

5.2. TESTES LABORATORIAIS

No laboratório, as amostras foram codificadas e submetidas a contagem de linfócitos T CD4⁺ pela técnica de citometria de fluxo, usando o Fasc Calibur (técnica descrita no ANEXO 5).

Depois de efectuada a contagem de linfócitos T CD4⁺, as mesmas foram alicotadas com pipetas de *Pasteur* para separação do plasma. O plasma foi armazenado em croviais devidamente

identificados, com código interno e da pesquisa, a uma temperatura de -80°C, num congelador, no laboratório de isolamento viral, até ao momento de execução do teste serológico para HBV.

Determinou-se o marcador serológico do HBV, HbsAg (antígeno de superfície), por meio de um ensaio imunoenzimático ligado a enzima (ELISA descrito no ANEXO 6), Hepanostika.

Determinou-se o marcador serológico HbsAg, pois este aparece antes do início dos sintomas de doença hepática e sua persistência na circulação caracteriza uma replicação crónica dos *vírions* do HBV.

5.3. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este estudo é um componente de um trabalho para tese de mestrado que tem como Título: “*Frequência e Variabilidade Genética do Vírus da Hepatite b (HBV) em indivíduos seropositivos para o vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) em Moçambique*”, teve aprovação por parte do Comité de Bioética para a Saúde (ANEXO 7), do Ministério da Saúde (ANEXO 8) e da Direcção de Saúde da Cidade de Maputo (ANEXO 9).

O recrutamento para o presente estudo foi de carácter voluntário. Os participantes assinaram o consentimento e para aqueles que não sabiam escrever foi usada a impressão digital. Os participantes foram informados que iriam sentir um pequeno desconforto ao serem picados no momento da extracção do sangue.

A confidencialidade dos dados dos participantes foi assegurada a todo o momento.

5.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis e as amostras foram submetidas a análise numa base de dados pelo programa “SPSS” versão 15. Para variáveis quantitativas foi usado um intervalo de confiança a 95%.

Foram feitas análises de estatística descritiva (proporções, percentagens, medias, medianas e desvio padrão, etc.) e calcularam-se frequencias. Fez-se também análise multivariada com recurso ao teste do Qui-quadrado (*Pearson*) e teste T-student. Todas as inferências foram efectuadas ao nível de significância de 5%.

O cálculo da frequência HBV foi feito através da fórmula (Jekel *et al.*, 1996):

$$F_{HBV} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de casos}}{\text{N}^{\circ} \text{ total da população estudada}} \times 100\%$$

Onde:

F_{HBV}: *Frequência do HBV*

Os factores de risco foram submetidos a análise univariada com vista a determinar para cada um deles a significância estatística; e posteriormente a análise multivariada por um modelo de regressão logística com o objectivo de determinar os factores de risco que juntos possuíssem significância estatística.

6. RESULTADOS

Durante o período de Maio à Outubro de 2009, 500 indivíduos foram convidados para participar do estudo. Destes, apenas 300 participaram de facto no estudo, sendo que 110 indivíduos não regressaram ao Centro de Saúde para a colheita de sangue, 20 participantes tinham amostra de sangue inadequada para a análise (hemolisada ou insuficiente) e 70 apresentavam questionários invalidados.

6.1 FREQUÊNCIA DE HBV

Do total de 300 indivíduos HIV positivos que participaram do estudo, 91 indivíduos obtiveram resultado positivo no teste serológico para o marcador HbsAg, indicando uma frequência de HBV de 30.3% na população de indivíduos HIV positivos que frequentam as consultas triagem e doença crónica no Centro de Saúde do Alto-Maé.

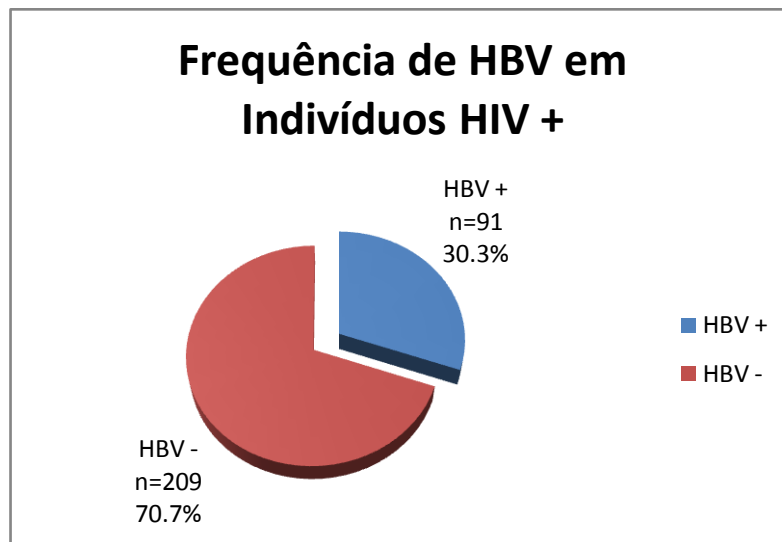


Gráfico 4. Frequência do vírus da Hepatite B (HBV) em Indivíduos HIV⁺ no Centro de Saúde do Alto-Maé

6.2. CARACTERÍSTICAS SOCIO-DEMOGRÁFICAS DA POPULAÇÃO DO ESTUDO

Do total de pacientes que participaram do estudo, 211 (70.3%) eram do sexo feminino e 89 (29.7%) eram do sexo masculino. No grupo de indivíduos co-infectados (n=91), 63 (69,2%) indivíduos eram do sexo feminino e 28 (30.8%) eram do sexo masculino. Embora, existam mais indivíduos do sexo feminino co-infectados, esta diferença não é estatisticamente significativa ($p=0.789$).

A idade média encontrada nos indivíduos co-infectados HBV/HIV foi de 34,36 (IC: 32.72-36.01), e nos indivíduos negativos para o HBV foi 36.48 (IC: 35.07-37.90). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as idades do grupo HBV⁺ e o grupo HBV⁻ ($p=0.11$).

No grupo de indivíduos co-infectados, 89 (97.8%) eram de raça negra e 2 (2.2%) eram mestiços. No grupo de indivíduos HBV negativos 209 (69.7%) eram de raça negra e 2 (1.0%) eram de raça mista. Não foram, encontradas diferenças estatisticamente significativas em relação a raça nos grupos HBV⁺ e HBV⁻ ($p=0.389$).

No grupo de indivíduos co-infectados, 15 indivíduos (3.9%) não apresentavam nenhum nível de escolaridade, 54 indivíduos (14.1%) possuíam nível primário, 19 (5%) possuíam nível básico, 13 (3.4%) possuíam nível médio e 2 (0.5%) nível superior. Para os indivíduos HBV negativos a o nível com maior percentagem de indivíduos foi o nível primário com 140 dos indivíduos (36.6%). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os níveis primários nos grupos HBV⁺ e HBV⁻ ($p=0.954$).

Em relação ao estado civil, constatou-se que a maior parte dos indivíduos co-infectados por HBV/HIV (n=68; 74,7%) eram solteiros. ($p=0.032$).

Tabela 2. Análise da características Sócio-Demográficas da População do Estudo

Características	HBV negativo n=209	HBV positivo n=91	Totais	P value
Sexo				0,789
Masculino	61 (29,2)	28(30,8)	89 (29.7)	
Feminino	148(70,8)	63(69,2)	211 (70.3)	
Idade				0,11
Media (SD)	36,48 (10.4)	34,36 (7.9)		
IC	35,07-37,90	32,72-36,01		
Mínima	18	19		
Máxima	75	56		
Raça				0,389
Negra	207 (99)	89 (97.8)	296 (98.7)	
Mista	2 (1)	2 (2.2)	4 (1.3)	
Estado Civil				*0,032
Solteiro	121 (57.9)	68 (74.7)	189 (63.0)	
Casado	77 (36.8)	19 (20.9)	96 (32.0)	
Divorciado	2 (1.0)	0 (0.0)	2 (0.7)	
Viúvo	9 (4.3)	4 (4.4)	13 (4.3)	
Nível de escolaridade				0.954
Nenhum	34 (8.9)	15 (3.9)	49 (12.8)	
Primário	140 (36.6)	54 (14.1)	195 (51)	
Básico	54 (14.1)	19 (5)	74 (19.4)	
Médio	41(10.7)	13 (3.4)	54 (14.1)	
Superior	8 (2.1)	2 (0.5)	10 (2.6)	

6.3 FACTORES DE RISCO PARA A INFECCÃO POR HBV

A maior parte dos indivíduos HBV positivos afirmaram que não consumiam álcool (n=75, 82.4%) e o mesmo verificou-se no grupo de indivíduos HBV negativos (n=152, 73.1%). ($p=0.082$).

Em relação ao uso de drogas endovenosas nos indivíduos HBV positivos, nenhum indivíduo afirmou consumir drogas e 4 (1.9%) dos indivíduos HBV negativos afirmaram consumir. ($p=0.318$).

Tanto os indivíduos HBV⁺ assim como os HBV⁻ afirmaram não consumir tabaco (92.3% no grupo dos HBV negativos e 95.6% no grupo dos HBV positivos). $p=0.219$

Dos indivíduos que afirmaram alguma vez na vida ter tido infecções de transmissão sexual (57), 21 (77.8%) estavam co-infectados. $p=0.186$

De um total de 34, apenas nove (9.9%) indivíduos afirmaram alguma vez ter feito transfusão sanguínea. $p=0.381$

A maioria dos pacientes co-infectados (n=60, 65.9%) afirmaram possuir relação monogâmica (com apenas um parceiro sexual). $p= 0.052$

A maioria dos indivíduos do sexo feminino (n=178) afirmaram ter tido pelo menos uma gestação, e destes 54 (30.7%) eram seropositivos para o HBV. $p=0.905$

106 indivíduos do sexo feminino que participaram da pesquisa tinham já sofrido um aborto e destes 26 (27.4%), eram seropositivos para o HBV. $p=0.681$

Para factores de risco como imunização para HBV e história familiar de Hepatite B não se encontrou associação estatística significativa, uma vez que para o primeiro encontrou-se apenas um indivíduo seropositivo e para o segundo, dois.

Para todos os factores de risco, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre o grupo de indivíduos seropositivos e o grupo de indivíduos seronegativos para o HBV

Tabela 3. Análise univariada dos factores de risco na população de estudo

Características	HBV negativo n=209	HBV positivo n=91	Totais	P value
Consumo de Álcool				0,082
Sim	56 (26.9)	16 (17.6)	72 (24.1)	
Não	152 (73.1)	75 (82.4)	227 (75.9)	
Consumo de Drogas Endovenosas				0,318
Sim	4 (1.9)	0 (0.0)	4 (1.3)	
Não	205 (98.1)	91 (100.0)	296 (98.7)	
Consumo de Tabaco				0,219
Sim	16 (7.7)	4 (4.4)	20 (6.7)	
Não	193 (92.3)	87 (95.6)	280 (93.3)	
Transusão de Sangue Prévia				0,381
Sim	25 (12.0)	9 (9.9)	34 (11.3)	
Não	184 (88.0)	82 (90.1)	266 (88.7)	
Número de Parceiros Sexuais				0,052
0	26 (12.6)	19 (20.9)	45 (15.1)	
1	153 (73.9)	60 (65.9)	213 (71.5)	
2	22 (10.6)	7 (7.7)	29 (9.7)	
3	6 (2.9)	2 (2.2)	8 (2.7)	
4	0 (0.0)	2 (2.2)	2 (0.7)	
6	0 (0)	1 (1.1)	1(0.3)	
Frequência de ITS				0,186
1	36 (54.5)	21 (77.8)	57 (61.3)	
2	23 (34.8)	4 (14.8)	27 (29.0)	
3	6 (9.1)	2 (7.4)	8 (8.6)	
4	1 (1.5)	0 (0.0)	1 (1.1)	
Gravidez				0,905
Sim	124 (69.7)	54 (30.7)	178	
Não	24 (72.7)	9 (27.3)	33	
NA	61 (68.5)	28 (31.5)	89	
Aborto				0,681
Sim	77 (72.6)	29 (27.4)	106	
Não	70 (67.3)	34 (32.7)	104	
NA	61 (68.5)	28 (31.5)	89	
História Familiar de Hepatite B				
Sim	1 (33.3)	2(67.7)	3	
Não	208 (70)	89 (30)	297	
Imunização para o HBV				
Sim	3	1	4	
Não	206	90	296	

6.4. ANÁLISE DOS VALORES DE LINFÓCITOS TCD4⁺ e TCD8⁺

Os valores de linfócitos T CD4⁺ encontrados foram ligeiramente maiores para os indivíduos HBV⁺ quando comparados aos indivíduos HBV⁻ (diferença de 30 $\mu\text{l}/\text{mm}^3$), enquanto que os valores de linfócitos T CD8⁺ foram elevados (entre 1-10262) e apresentaram uma diferença de 200 $\mu\text{l}/\text{mm}^3$ entre indivíduos HBV⁺ e HBV⁻, sendo maior nos indivíduos seropositivos para HBV. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos, para os valores de linfócitos TCD4⁺ e TCD8⁺.

Tabela 4 Análise dos valores de linfócitos TCD4⁺ e CD8⁺ na população de estudo

Características	HBV negativo n=209	HBV positivo n=91	Totais	P value
Valores de CD4				0,635
Media (SD)	380.3 (240.9)	410.5 (266.1)		
IC	347.5-413.2	355.1-465.9		
Mínimo	0	8		
Máximo	1729	1984		
Valores de CD8				0,526
Media (SD)	1188.3 (968.0)	1308.4 (901.7)		
IC	1056.3-1320.3	1120.6-1496.2		
Mínimo	1	260		
Máximo	10262	6258		

6.5. ANÁLISE MULTIVARIADA DOS FACTORES DE RISCO

Todas as variáveis que na análise univariada mostraram-se com um *p* significativo (valor igual ou superior a 0.25) foram submetidas a um modelo de regressão logística.

A análise multivariada por regressão logística, demonstrou que o HBV estava independentemente associado aos seguintes factores: consumo de álcool/estado civil solteiro; e consumo de álcool/linfócitos T CD8⁺ <5000.

7.DISSCUSSÃO DOS RESULTADOS

Segundo Ramanlal (2007) citando Conjeevaram e Lok (2001), a prevalência de infecção por HIV e HBV em doadores de sangue na cidade de Maputo é de 10.6%. Um estudo sul-africano realizado para prevalência de HBV num campo de refugiados moçambicanos, reportou que 56% dos indivíduos lá presentes tiveram expostos, alguma vez, no passado, ao HBV. A prevalência de HBV nos pacientes do presente estudo é de 30.3%, que é maior que os 20% estipulados para a zona subsaariana, segundo (Paranfi e Almeida, 2005) e que se encontra na média dos valores encontrados nos estudos acima descritos. Este número é maior do que o número encontrado por Ramanlal em 2007 na mesma área de estudo, provavelmente porque a mesma população amostral não foi tratada e teoricamente poderá ter propagado o vírus, uma vez que após o estudo não foi introduzida imunização para o HBV. Se se fizer uma projecção de um estudo para daqui a 20 anos, na mesma área de estudo, com uma população de estudo com a mesma média de idades (34 anos de idade) acredita-se que a prevalência será bem menor, uma vez que esta população seria a que foi abrangida pela imunização para HBV presente no PAV. Por outro lado, o aumento da população sero-positiva para o HIV também pode estar na origem do aumento da população HBV⁺.

A população do presente estudo apresenta-se como sendo do sexo feminino e 34 anos idade. A mulher, sexo frágil, está exposta a prostituição, analfabetismo, pobreza, falta de informação, violência doméstica, violação sexual, poligamia não institucionalizada e mais afecções negativas da sociedade. Por outro lado os mecanismos de transmissão envolvem aspectos comportamentais adquiridos ao longo da vida, tais como uso de drogas, exposição a sangue e hemoderivados, ou seja o efeito cumulativo de riscos comportamentais que aparece geralmente na idade da população amostral do presente estudo.

Segundo Pereira (2006) citando Rustgi (1984), em indivíduos HIV positivos, a prevalência de infecção por HBV, é 10 vezes mais elevada quando comparada com a prevalência na população em geral, uma que vez que, segundo WHO (2004), dependendo dos factores de risco envolvidos

na transmissão da infecção, a co-infecção com HBV tem sido reportada em 90% dos casos de pacientes infectados por HIV. Neste estudo não existem diferenças significativas no que diz respeito a seropositividade de HBV de indivíduos seropositivos quando comparada a de indivíduos seronegativos, provavelmente porque a população de estudo não apresenta a mutação no gene da polimerase do HIV que normalmente aumenta esta taxa.

Martelli *et al.* (1990), Alfonso *et al.* (1999), Nunes-Hernandez *et al.* (2009) e Rosenthal *et al.* (2009), afirma que estudos epidemiológicos têm identificado como factores de risco à infecção pelo HBV, práticas sexuais com múltiplos parceiros, uso de drogas endovenosas, transfusões sanguíneas e infecções de transmissão sexual. Exceptuando as infecções de transmissão sexual, que também se mostraram presentes na análise multivariada de Chung *et al.*, (2010) e que constituem uma das principais vias de transmissão de HBV no presente estudo, nenhum dos factores mencionados acima se mostrou estatisticamente significativo no presente estudo, provavelmente porque a maior parte deles não se encontra na origem da transmissão do HBV, excluindo o número de parceiros sexuais, uma vez que a população seropositiva para o HBV apresentava na sua maioria relações monogâmicas, facto que contrasta com o INJAD (2001) que aponta que 45% das mulheres e 85% dos homens apresentam dois ou mais parceiros sexuais (www.inde.gov.mz).

Factores como uso de drogas endovenosas ou não, eram ligeiramente elevados para a população seronegativa quando comparada a população sero-positiva. A hemodiálise como factor de risco não foi testada, uma vez que é um procedimento raro na população em estudo devido a insuficiência de meios para tal.

No estudo feito por Ramanlal em 2007, na Cidade de Maputo, no mesmo Centro de Saúde, os factores de risco que se mostraram significativos foram: a situação económica, uso de agulhas não esterilizadas, tatuagem, escarificação ou *piercings* feito sem cuidados e baixo nível de escolaridade, dos quais, só o último encontra-se no presente estudo e se confirmou significativo, o que não é de todo surpreendente uma vez que este é um facto comunmente relatado, e se

justifica em função das baixas condições de higiene , promiscuidade e acesso restrito a cuidados d saúde consequentes.

Alguns estudos mostram taxas altas de transfusão sanguínea, como é o caso de Martelli *et. al.*, (1990) feito em presidiários, que mostrou uma incidência de 10.9% da mesma em indivíduos seropositivos para o HBV. O presente estudo, assim como o de Ramanlal (2007) mostrou baixas taxas para este factor, provavelmente devido a introdução dos testes de HBV nos bancos de sangue.

Associação estatística entre factores de risco para infecção de HBV, ao contrário do que aconteceu no estudo de Ramanlal (2007) e no estudo d Araújo (2006) que mostraram uma alta prevalência em grupos de indivíduos com uma média de idades na casa dos 30, mostrou uma média de 34 anos. Houve no entanto, nos três estudos, uma associação forte com indivíduos do sexo feminino, como descrito em outros grupos populacionais, provavelmente devido a exposição mais frequente aos factores de risco envolvidos na transmissão, particularmente contacto sexual com múltiplos parceiros.

Não foram encontradas diferenças significativas entre os factores de risco quando analisados comparativamente (HBV/HIV), ou seja os mesmos factores de risco influenciam quase que nas mesmas proporções tanto para indivíduos HIV⁺ /HBV⁺ assim como para indivíduos HIV⁻ /HBV⁺. Não existem factores de risco ligados somente a um dos vírus, pode-se portanto afirmar, em concordância com Martelli *et al* (1990), Chun *et al.* (2010), Sellier *et al.* (2010) Nunes-Hernandez *et al.* (2009) Rosenthal *et al.* (2009) e Stuart *et al.* (2009) que o HIV e o HBV partilham dos mesmos factores de risco.

A imunização para HBV, no presente estudo foi pouco significativa, 1/300. Ramanlal (2007) chama a atenção para que se introduza no sistema de saúde vacinação a indivíduos adultos seropositivos para o HIV. Questão controversa, uma vez que, segundo Pereira (2006), a associação estatística encontrada durante a sua pesquisa, sugere que os níveis de linfócitos

TCD4⁺ influenciam fortemente a resposta a vacina para HBV. Afirmando até a existencia de vários relatórios que descrevem resposta inadequada a vacina de HBV em indivíduos infectados por HIV enquanto que para Chun *et al.* (2010) a prevelencia de HBV em individuos seropositivos para o HIV baixou de 34% em 1989 para 9% em 2008 devido a introdução da vacina para HBV. A população amostral não foi abrangida pela imunização para o HBV que foi introduzida em 2002 no Programa Alargado de Vacinação (PAV) e ainda não é prática comum a imunização da população adulta, provavelmente por falta de meios do estado.

8. CONCLUSÃO

Em conclusão, os dados do presente estudo indicam que a prevalência de HBV em indivíduos seropositivos na Cidade de Maputo é alta, sendo 30.3%.

Os indivíduos HBV positivos são na sua maioria do sexo feminino, com 34 anos de idade, com ensino primário, de raça negra e do estado civil solteiro. Portanto seria difícil definir o perfil epidemiológico de um indivíduo co-infectado por HIV-HBV, uma vez que este, no presente estudo, possui as mesmas características sócio-demográficas que a maioria da população da Cidade de Maputo

Estes indivíduos apresentam apenas um parceiro sexual, história de infecção por transmissão sexual pelo menos uma vez na vida, e não apresentam como antecedentes transfusão sanguínea, uso de drogas endovenosas, consumo de álcool ou de tabaco.

Pela diferença pouco significativa entre os factores de risco em indivíduos HIV⁺ /HBV⁺ e HIV⁻ /HBV⁺ conclui-se que o HIV e o HBV partilham dos mesmos factores de risco (dentre os estudados).

As baixas percentagens adquiridas para grande parte destes factores de risco, devem-se em grande parte, a uma falha na comunicação entre o entrevistador e o entrevistado. Como é o exemplo de perguntas como “número de parceiros sexuais”, em que o entrevistado respondia, “número de parceiros sexuais com preservativo” ou omitia a verdade por não se sentir confortável, ou então estado civil, em que “solteiro” poderia ser “vivendo maritalmente”, “divorciado” ou solteiro de facto .

Apesar da reactivação comprovada de HBV que acontece em indivíduos HIV imunologicamente deprimidos (>200 células TCD4⁺ / μ l de sangue), na amostra em estudo, maior parte dos indivíduos co-infectados encontravam-se na fase crónica de infecção por HIV (200-500 células TCD4⁺ / μ l de sangue), apresentando na sua maioria uma média de 410.5 células TCD4⁺/ μ l de sangue.

Um estudo genético provavelmente mostraria que esta população de estudo não possui uma mutação genética a nível da polimerase vírica, mutação que leva a reactivação do HBV.

Face ao exposto pelos resultados, aceita-se a hipótese H_0 para a frequência do Vírus da Hepatite B na Cidade de Maputo, uma vez que esta apresenta-se nesta pesquisa acima de 15%, sendo de 30% e nega-se H_1 .

Nega-se H_0 para as hipóteses relacionadas com os factores de risco, uma vez que nenhum dos factores de risco, quando analisados univariadamente, se apresentaram estatisticamente significativos. E aceita-se H_1 , pelo exposto no periodo acima.

9. RECOMENDAÇÕES

- Recomenda-se aos prestadores de cuidados de saúde, que se façam testes para o HBV a todos os indivíduos que se dirigirem ao Centro de Saúde, principalmente em mulheres grávidas, para se proteger o recém-nascido.
- Recomenda-se que se trate a infecção do fígado em indivíduos seropositivos para o HIV e HBV uma vez que o último é responsável por mortalidade não relacionada com SIDA em indivíduos severamente imunodeprimidos.
- Recomenda-se, para estudos novos de co-infecção, acrescentar, factores de risco que possam estar associados somente ao HBV, uma vez que a transmissão deste vírus ocorre por outros fluídos para além do sangue, tais como: suor, saliva, sêmen, lágrimas, leite materno e efusões patológicas.
- Sugere-se também que se aumente em futuros estudos, mais factores de risco que possam estar associados os dois vírus, tais como, uso de preservativo, tatuagem, escarificação, extração dentária, vacinas tradicionais feitas nos curandeiros por meio de laminas, uso de agulhas não esterilizadas, *piercings* e até mesmo religião.
- Recomenda-se ainda, que ao se elaborar o questionário, tenha-se em conta o nível de percepção e o tipo de resposta que um indivíduo é capaz de dar, de modo a se evitar repostas ambíguas, com duplo sentido ou até mesmo incorretas e incompletas.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfonso Gil R; Hurtado Navarro I; Espacio Casanovas A; Santos Rubio G; Tomás Dols S. Prácticas de riesgo y seroprevalencia al VIH, VHB y VHC en los pacientes del Centro de Información y Prevención del SIDA de Valencia. Gac Sanit;13(1):16-21, 1999 Jan-Feb.
- Chang JJ, S Sirivichayakul, A Avihingsanon. Impaired quality of the hepatitis B virus (HBV)-specific T-cell response in human immunodeficiency virus type 1-HBV coinfection. Journal of Virology 83(15): 7649-7658. August 2009
- Chun HM, AM Fieberg, K Huppler. Epidemiology of Hepatitis B Virus Infection in a US Cohort of HIV-Infected Individuals during the Past 20 Years. Clinical Infectious Diseases 50: 426-436. 2010
- Cotran, R. S., V. Kumar, T. Collins. (2000). Robbins Patologia Estrutural e Funcional. 6ª edição. Guanabara Koogan SA. Rio de Janeiro, Brasil. pp(211-224; 769-762).
- Da Silva D. (2007) SoroFrequência de hepatites b e c em doadores do hemonúcleo do Município de Foz do Iguaçu-PR entre os anos de 2004-200. Trabalho de fim de curso de Biomedicina. Faculdade União das Américas-UNIAMÉRICA. Foz do Iguaçu – PR
- De Souza, M. G., A. D. C. Passos, A. A. Machado, J. F. C. Figueiredo, L. E. Esmeraldino. (2004). Co-infecção HIV e vírus da hepatite B: prevalência e fatores de risco. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 37(5):391-395, set-out.
- Hoffmann CJ, EC Seaberg, S Young, and others. Hepatitis B and long-term HIV outcomes in coinfecting HAART recipients. AIDS 23(14): 1881-1889. September 10, 2009.
- Jekel JF, Elmore JG, Katz DL. Epidemiology biostatistics and preventive medicine. Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders Company. 1996.

- Knipe, D. M., P. M. Howley, D. E. Griffin, M. A. Martin, R. A. Lamb, B. Roizman, S. E. Strauss. (2007). Fields Virology. Vol I. 5th edition. a Walters Klumer business, Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, USA. pp(455; 512; 3005).
- Kosi LM, T Reiberger, K Rutter. High rates of HBeAg seroconversion and HBsAg loss with Tenofovir + Emtricitabine in patients with HBV-HIV co-infection irrespective of CD4+ cell count. 60th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD 2009). Boston. October 30-November 1, 2009.
- Lewin SR, RM Ribeiro, A Avihingsanon. Viral dynamics of hepatitis B virus DNA in human immunodeficiency virus-1-hepatitis B virus coinfecting individuals: Similar effectiveness of lamivudine, tenofovir, or combination therapy. *Hepatology* 49(4): 1113-1121. April 2009.
- Martelli, C. M. T., A. L. C. de Andrade, S. D. D. Cardoso, P. L. C. S. Sousa, S. Almeida e Silva, M. A. De Sousa, F. Zicker. (1990). Soroprevalência e fatores de risco para a infecção pelo vírus da hepatite B pelos marcadores AgHBs e anti-HBs em prisioneiros e primodoadores de sangue. Rev. Saúde públ., S, Paulo, 24: 270-6.
- Moges, Feleke, Y. Kebede, A. Kassu, A. Mulu, M. Tiruneh, G. Degu, S. Adugna, A. Alem, F. Wale. (2006). Seroprevalence of HIV, Hepatitis B and Syphilis among street dwellers in Gondar city, north west Ethiopia. Ethiop. J. Health Dev; 20 (3).
- Murray, P, R. K. S. Rosenthal, G. S. Kobayashi, M. A. Pfaller. (1998). Medical Microbiology. 3rd Edition. Mosby Inc. Missouri, USA. pp(507-516; 523-530)
- Nunez-Fernandez C, L Martin-Carbonero, ME Valencia. Liver Complications Have Reached a Plateau as Cause of Hospital Admission and Death in HIV Patients in Madrid. AIDS Research and Human Retroviruses. March 25, 2009 [Epub ahead of print].

- Owiredu, W.K., A. Kramvis, M.C. Kew. (2001). Hepatitis B virus DNA in serum of healthy black African adults positive for hepatitis B surface antibody alone: possible association with recombination between genotypes A and D. J Med Virol, **64**(4): p. 441-54.
- Paranfi, R. e D. Almeida. (2005). HBV epidemiology in Latin America. Journal of Clinical Virology 34 Suppl. 1 S130 S133
- Pereira, Rui Alberto Roldão de Almeida. A. D. Hg Mussi, V. C. de Azevedo e Silva, F. J. D. Souto. (2006). Hepatitis B Virus infection in HIV-positive population in Brazil: results of a survey in the state of Mato Grosso and a comparative analyses with other regions of Brazil; BioMedCentral; BMC Infectious Diseases2006, **6**:34
- Ramanlal, N. A. (2007). Serological markers of Hepatitis B and C virus among HIV infected and high risk uninfected individuals attending the Voluntary Counselling and Testing centre for HIV in Maputo, Mozambique. Tese de Mestrado. 82pp. Australia. The School of Public Health, University of Sydney.
- Reijnders JG, T de Vries-Sluijs, BE Hansen. Five year tenofovir therapy is associated with maintained virologic response, but significant decline in renal function in HIV/HBV coinfecting patients. 60th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD 2009). Boston. October 30-November 1, 2009.
- Rosenthal E, D Salmon-Céron, C Lewden. Liver-related deaths in HIV-infected patients between 1995 and 2005 in the French GERMIVIC Joint Study Group Network (Mortavic 2005 Study in collaboration with the Mortalité 2005 survey, ANRS EN19). HIV Medicine. February 13, 2009 [Epub ahead of print].
- Ruta, S. M., R. F. Matusa, C. Sultana, L. Manolescu, C. A. Kozinetz, M. W. Kline, C. Cernescu. (2005). High Prevalence of Hepatitis B Virus Markers in Romanian Adolescents With Human Immunodeficiency Virus Infection; MedGenMed; Medicine 7(1): 68

- Sellier P, N Schnepf, I Jarrin, and others. Description of liver disease in a cohort of HIV/HBV coinfecting patients. Journal of Clinical Virology 47(1): 13-17. 2010
- Stuart JW Cohen, M Velema, R Schuurman. Occult hepatitis B in persons infected with HIV is associated with low CD4 counts and resolves during antiretroviral therapy. Journal of Medical Virology 81(3): 441-445. March 2009.
- WHO, Hepatitis B surface antigen assays: operational characteristics (Phase I) Report 2 WHO, 2004.

- *Internet:*

<http://www.rit.edu/~japfaa/infectious.html>

http://www.techno.msu.ac.th/.../pig-hepatitis_b_2.gif

<http://www.inde.gov.mz/hivmz/powerpoint/Comportamento.ppt>

http://data.unaids.org/pub/Report/2008/mozambique_2008_country_progress_report_pt.pdf

<http://hivmedicine.aidsportugal.com/imagens2006/image002.jpg>

ANEXOS

ANEXOS

ANEXO 1

TERMO DE CONSENTIMENTO

Título do Projecto: Frequência e variabilidade genética do vírus da hepatite B (HBV) em indivíduos seropositivos para o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) em Moçambique

Pesquisadoras responsáveis: Cynthia Amino Semá e Liliana Dengo

Nome do Utente _____ Código _____

a) Consentimento assinado

Eu, _____, (Nome do Utente) confirmo que fui informado(a) de forma satisfatória de que o presente estudo tem por finalidade estudar a frequência e caracterizar geneticamente o vírus da Hepatite B em indivíduos HIV positivos.

Neste sentido, fui esclarecido (a) da natureza da minha participação, dos riscos e benefícios que dela decorrem, e ainda do direito que tenho de me retirar do estudo a qualquer momento, sem prejuízo do actual tratamento médico ou outro que venha posteriormente.

Fui informado (a) que terei acesso aos meus resultados, e se necessário, serei encaminhado para uma consulta de acompanhamento de forma a receber o tratamento adequado.

Confirmo também que se tiver perguntas a fazer, poderei contactar a qualquer momento as investigadoras do estudo: Cynthia Amino Semá, no Departamento de Imunologia do Instituto Nacional de Saúde, Recinto do HCM, pelo Tel: 82-8950630 ou Liliana Dengo, pelo Tel: 82-8300010

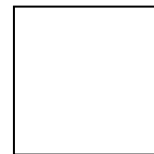
Assinatura/ Impressão digital do Utente _____

Data ____/____/____

B.I. _____; Arquivo de Identificação _____;

Data de emissão ____/____/____

Assinatura do Técnico/Enfermeiro _____ Data ____/____/____



ANEXO 2



Instituto Nacional de Saúde – Departamento de Imunologia

Frequência e variabilidade genética do vírus da hepatite B (HBV) em indivíduos seropositivos para o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) em Moçambique

Centro de Saúde do Alto-Maé

Dados Sócio-Demográficos			
Nome			
NID		Código do Estudo	
Idade em anos		Sexo: Masculino	Feminino
Local de nascimento:	Raça:		
Estado civil:	N° de Parceiros Sexuais actualmente (1 ano):		
Profissão:			
Residência (Bairro, Localidade):			
Grau de escolaridade:		Primário <input type="checkbox"/> Básico <input type="checkbox"/> Médio <input type="checkbox"/> Superior <input type="checkbox"/>	

História Médica			
Consumidor de Álcool:	Sim	Não	Se sim, desde quando?
Consumidor de Tabaco:	Sim	Não	Se sim, desde quando?
Transfusão de sangue prévia:	Sim	Não	Se sim, quando?
História de drogas endovenosa:	Sim	Não	Se sim, desde quando?
Qual a droga endovenosa você usa?		Outras drogas?	
Especifique:		Se sim, especifique:	
Imunização de Hepatite B	Sim	Não	Se sim, quando?
História prévia de ITS's	Sim	Não	Se sim, quando e quantas vezes?

História familiar de hepatite B	Sim	Não	Se sim, quando?
Gravidez	Sim	Não	Se sim, quantas?
Aborto	Sim	Não	Se sim, quantos?
Dados Clínicos e Laboratoriais			
Peso (Kg)	Estádio clínico HIV (OMS):		
Altura (m)	Resultado HBV		
HBV DNA, cópias/ML	LyT CD4+, cel./mm ³		
HBsAg	LyT CD4+, %		
Anti-HBsAg	LyT CD8+, cel./mm ³		
HbeAg	CD4+/CD8+ Racio		
HBV DNA, cópias/mL			

Observações Adicionais

Nome do Médico _____

Assinatura do Médico _____

Data (dd/mm/aa) ____/____/____

ANEXO 3

INFORMAÇÃO AO PACIENTE

Título do Projecto: Frequência e variabilidade genética do vírus da hepatite B (HBV) em indivíduos seropositivos para o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) em Moçambique

Pesquisadora Responsável: Cynthia Amino Semá e Liliana Dengo

Finalidades do estudo

O vírus da hepatite B é um vírus altamente infeccioso e é o maior causador de hepatite crónica, cirrose e cancro do fígado. Quando associado ao HIV, o vírus da Hepatite B pode trazer complicações no diagnóstico e tratamento. Este estudo tem como objectivo principal estudar a frequência e caracterizar geneticamente o vírus da Hepatite em indivíduos HIV positivos. Espera-se que com estudo se possa conhecer o peso da infecção pelo vírus da hepatite e a estirpe responsável por esta infecção nos indivíduos com evidência serológica da infecção pelo HIV, o que poderá permitir a adopção de medidas que visem o controle desta infecção.

Procedimentos: Se concordar em participar neste estudo, vamos fazer perguntas sobre os seus dados pessoais e as suas características sócio-demográficas. Será necessário efectuar-se uma recolha de 10 ml de sangue venoso a partir da veia do braço. Este método de colheita é desconfortável, mas é importante para garantir que se realizem todos os testes laboratoriais necessários para o estudo, que consistem no diagnóstico serológico do vírus da Hepatite B e diagnóstico molecular.

Riscos e Benefícios

Este estudo não apresenta nenhum risco para si. A colheita da amostra obedecerá as medidas de biosegurança internacional, a apenas haverá um desconforto causado pela picada da agulha no momento de extracção do sangue.

O estudo poderá ser benéfico tanto para si, na medida em você poderá obter os resultados da testagem e os mesmos poderão fornecer uma informação sobre o seu estado serológico em relação ao vírus da Hepatite B, permitindo desta forma que você tenha um acompanhamento e tratamento atempado caso seja diagnóstico com hepatite B.

Duração do Estudo

O estudo terá uma duração aproximada de um mês para a colheita das amostras. Será solicitado que você regresse 2 meses depois da colheita para proceder com o levantamento dos seus resultados.

Garantia de Confidencialidade

Os dados serão tratados com rigorosa confidencialidade. Contudo, eles poderão ser analisados pela autoridade supervisora do estudo. A informação obtida será utilizada para publicação científica, contudo não haverá prejuízo no seu direito de confidencialidade.

Participação voluntária

Você é livre de decidir se deseja participar ou não deste estudo, e em qualquer momento você pode sair do estudo, sem nenhuma consequência de restrição do serviço prestado nesta unidade

sanitária. Mesmo se decidir não participar, isto não terá qualquer consequência negativa no seu atendimento. Se estiver disposto a participar deste estudo, ser-lhe-à pedido que assine o formulário de “Consentimento Informado”. Se não poder assinar, poderá dar a sua impressão digital.

ANEXO 4

Frequência e Factores de Risco Associados ao HBV em Indivíduos Infectados pelo HIV na Cidade de Maputo

Instituto Nacional De Saúde Departamento De Imunologia	Pedido em ___/___/___ por
	Proveniência: Centro de Saúde do Alto-Maé
	Informação clínica: Estudo Prevalência de HBV
	Exames Pedidos:
	Contagem CD4/CD8
	Marcadores HBV
Nome	Observações:
NID/ATS	
Idade/Sexo	
Residência	

ANEXO 5

Citometria de Fluxo

Citometria de fluxo é uma técnica utilizada para contar, examinar e classificar partículas microscópicas suspensas em meio líquido em fluxo. Permite a análise de vários parâmetros simultaneamente, sendo conhecida também por *citometria de fluxo multiparamétrica*. Através de um aparelho de detecção óptico-eletrónico são possíveis análises de características físicas e/ou químicas de uma simples célula.

Um feixe de luz (normalmente laser) de um único comprimento de onda (cor) é direccionado a um meio líquido em fluxo. Um número de detectores são apontados ao local onde o fluxo passa através do feixe de luz; um na linha do feixe de luz (*Forward Scatter* ou *FSC*) e vários perpendiculares a este (*Side Scatter* ou *SSC*) além de um ou mais detectores fluorescentes. Cada partícula suspensa passando através do feixe dispersa a luz de uma forma, e os corantes químicos fluorescentes encontrados na partícula ou juntos a partícula podem ser excitados emitindo luz de menor frequência do que o da fonte de luz. Esta combinação de luz dispersa e fluorescente é melhorada pelos detectores, e analisando as flutuações de brilho de cada detector (uma para cada pico de emissão fluorescente) é possível explorar vários tipos de informação sobre a estrutura física e química de cada partícula individual. FSC correlaciona-se com o volume celular e SSC depende da complexidade interna da partícula (por exemplo: forma do núcleo, quantidade e tipo dos grânulos citoplasmáticos e rugosidade da membrana). Alguns citómetros de fluxo do mercado tem eliminado a necessidade da fluorescência e usado somente dispersão de luz para sua medição. Outros citómetros de fluxo formam imagens de cada fluorescência da célula, dispersão de luz e transmissão de luz.

Citómetros de fluxo

Modernos citómetros de fluxo são capazes de analisar várias partículas em cada segundo, em "tempo real", e podem ativamente separar e isolar partículas com propriedades específicas. Um citómetro de fluxo é similar a um microscópio, excepto que ao invés de produzir imagens da célula, citómetro de fluxo oferece "alta quantidade" (para um grande número de células) automatizado quantificação de um conjunto de parâmetros. Para analisar uma única célula de tecido biológico a suspensão deve ser primeiro preparada.

Um citómetro de fluxo tem 5 principais componentes:

- Um fluxo de célula -
- Uma fonte de luz - normalmente são usadas lâmpadas (mercúrio, xenon); lasers de alto poder (argon, kripton); lasers de poder baixo (argon (488nm), red-HeNe (633nm), green-HeNe, HeCd (UV)); diode lasers (azul, verde, vermelho e violeta).
- Um detector e conversor sistema analógico para digital (ADC)- gerando FSC e SSC assim como sinais fluorescentes.
- Um sistema de amplificação - linear ou escala logarítmica.
- Um computador para análise de sinais.

Os parâmetros possíveis de medir são: volume e complexidade morfológica das células, pigmentos celulares como clorofila, ADN (análise de tipo de células, cinética celular, proliferação, etc.), RNA, análise e classificação de cromossomas, proteínas, antigénios à superfície celular (marcadores CD), antigénios intracelulares (várias citosinas, mediadores secundários, etc.), antigénios nucleares, actividade enzimática, pH, cálcio ionizado intracelular, magnésio, potencial membrana, fluidez membrana, apoptose (quantificação, medidas da degradação do DNA, potencial da membrana mitocondrial, alterações na permeabilidade, actividade da caspase), viabilidade celular, monitorização da electropermeabilização das células, caracterização da multi resistência a fármacos em células tumorais, glutatona, várias combinações (ADN/antigénios de superfície, etc.). Esta lista é muito longa e está em constante expansão.

A hematologia foi uma das primeiras disciplinas médicas a se beneficiar das aplicações clínicas da citometria de fluxo. Algumas destas aplicações são atualmente utilizadas regularmente para o diagnóstico ou a seguinte terapêutica das diferentes afecções. Estas aplicações concernem bem também ao estudo funcional das células sadias que coloca em evidência a natureza patológica das células analisadas. A imunologia utiliza a citometria de fluxo para a detecção ou identificação de sub-tipos de células implicadas na imunidade.



Fig2: Citómetro de fluxo (Fasc Calibur) usado para a contagem de células (Fonte: Becton Dickinson Biosciences, 2004).

ANEXO 6

ELISA: Hepanostika HBsAg Ultra

Este teste detecta a presença do antígeno de superfície para Hepatite B (HBsAg) e tem uma especificidade de 99.98% para amostras de plasma. A detecção deste antígeno é o método mais usado para determinar a presença do vírus da Hepatite B.

Componentes do Kit *Hepanostika*:

- Water Buffer
- Diluente
- Control Positivo
- Control Negativo
- TMB (substrato)

Procedimentos:

1. Adiciona-se 25µl de diluente em todos os poços
2. Adiciona-se 100µl de amostra nos poços destinados para tal
3. Adiciona-se 100µl de Controlo nos poços destinados para tal
4. Incuba-se a 37° durante 60 minutos
5. Adiciona-se 50µl de conjugado em todos os poços
6. Incuba-se a 37° durante 60 minutos
7. Lava-se 6 vezes com solução de lavagem
8. Adiciona-se 100µl de TMB em todos os poços
9. Incuba-se na camara escura por 30 minutos
10. Adiciona-se Adiciona-se 100µl de H₂SO₄ (STOP solution) em todos os poços
11. Faz-se leitura a 450/690 nm

ANEXO 7

ANEXO 8

ANEXO 9