

PAULA MACHADO RIBEIRO MAGALHÃES

**PERFIL DE PRODUÇÃO DE ANTICORPOS APÓS VACINAÇÃO
PARA HEPATITE B EM DOADORES SANGUÍNEOS POSITIVOS
PARA ANTI-HBc e NEGATIVOS PARA HBsAg e ANTI-HBs**

RECIFE

2005

PAULA MACHADO RIBEIRO MAGALHÃES

**PERFIL DE PRODUÇÃO DE ANTICORPOS APÓS VACINAÇÃO PARA
HEPATITE B EM DOADORES SANGUÍNEOS POSITIVOS PARA ANTI-
HBc e NEGATIVOS PARA HBsAg e ANTI-HBs**

Orientador: **Prof. Dr. Luiz Cláudio Arraes de Alencar**

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-graduação de Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical.

RECIFE, 2005.

Magalhães, Paula Machado Ribeiro

Perfil de produção de anticorpos após vacinação para Hepatite B em doadores sanguíneos positivos para Anti-HBc e negativos para HBsAg e Anti-HBs / Paula Machado Ribeiro Magalhães. – Recife : O Autor, 2005.

60 folhas : il., fig., tab., quadros.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Medicina Tropical, 2005.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Medicina tropical – Doenças infecto-contagiosas. 2. Hepatite B – Pacientes portadores – Anti HBc isolado – Resposta vacinal. 3. Perfis sorológicos pós-vacinação – Análise. I. Título.

**616.98
616.911**

**CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)**

**UFPE
BC2006-109**



RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DA MESTRANDA

PAULA MACHADO RIBEIRO MAGALHÃES

No dia 27 de outubro de 2005, às 14h00, na Sala Prof. Murillo La Greca do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco – C.C.S./UFPE, os Professores: Prof. Dr. **Demócrito de Barros Miranda Filho** (Depto. de Clínica Médica-UPE – Membro Externo), Prof.^a. Dr.^a. **Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho** (Depto. de Fisiologia e Farmacologia-UFPE – Membro Interno) e a Prof.^a. Dr.^a. **Patrícia Muniz Mendes Freire de Moura** (Instituto de Ciências Biológicas-UPE – Membro Externo), componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, arguíram a mestranda **PAULA MACHADO RIBEIRO MAGALHÃES** sobre a sua Dissertação intitulada **"Perfil de produção de anticorpos após vacinação para Hepatite B em doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e Negativos para HBsAg e anti-HBs"**. Ao final da arguição de cada membro da Banca Examinadora e resposta da mestranda, as seguintes menções foram publicamente fornecidas.

Prof. Dr. Demócrito de Barros Miranda Filho

Aprovado

Prof.^a. Dr.^a. Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho

APROVADA

Prof.^a. Dr.^a. Patrícia Muniz Mendes Freire de Moura

Aprovado

Demócrito de Barros Miranda Filho

Prof. Dr. Demócrito de Barros Miranda Filho

Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho

Prof.^a. Dr.^a. Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho

Patrícia Muniz Mendes Freire de Moura

Prof.^a. Dr.^a. Patrícia Muniz Mendes Freire de Moura

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA-CEP/HUOC

Recife, 10 de agosto de 2004.

Para: Dr. Luiz Cláudio Arraes de Alencar

De: Prof. Wilson de Oliveira Jr.

Senhor Pesquisador:

Informamos a V.Sa. que o seu Projeto *Perfil de produção de anticorpos após vacinação para hepatite* - Protocolo no.30.017.2004 - foi analisado e APROVADO, de acordo com as disposições da Resolução 196/96-CNS/MS.

Solicitamos-lhe seja-nos encaminhado Relatório Final ou Parcial (caso a pesquisa seja interrompida antes do preestabelecido).


COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA/HUOC
 Prof. Wilson de Oliveira Jr.
Coordenador

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Luiz Cláudio Arraes**, inestimável orientador e amigo. Sempre generoso no compartilhamento dos conhecimentos. As palavras pouco traduzirão a respeito da gratidão de tê-lo como orientador.

Ao meu imprescindível amigo **Prof. Dr. Jailson Correia**, pela sua eterna disponibilidade e sua infinita sabedoria aliada à disciplina. Itens fundamentais que auxiliaram na finalização deste trabalho.

Ao **Mestrado de Medicina Tropical da UFPE**, sem o qual nada seria possível. Aos seus funcionários **Walter Leite e Jupira**, sempre, indispensáveis.

A **Dra. Josimar Nobre**, do Setor de Imunologia do IMIP, pela execução de todos os nossos testes sorológicos, a alma do nosso trabalho esteve em suas mãos. Meu sincero agradecimento.

Ao Instituto Materno Infantil de Pernambuco (**IMIP**), na pessoa do **Dr. Antônio Carlos Figueira**, superintendente da instituição, que acolheu de forma generosa o nosso trabalho.

Ao Hospital Universitário Oswaldo Cruz (**HUOC**), instituição que através do seu **Comitê de Ética e Pesquisa**, permitiu a realização desse projeto.

A Fundação **HEMOPE**, na pessoa de **Josiete Correia**, que nos ajudou em diversas etapas do estudo.

Ao colega **Francisco Mozart**, pelo apoio logístico eficiente e presteza inabalável.

A **Dra. Silvana Barreto**, chefe do setor de Sorologias do Laboratório Municipal de Saúde Pública do Recife, pelos esclarecimentos teóricos preciosos sobre sorologias.

As funcionárias do ambulatório de Infectologia do IMIP, **Izaura e Daniele**, pela prestatividade na recepção dos doadores.

A **CAPES** que através da sua concessão de bolsa ajudou a permitir a realização desse estudo.

Aos meus grandes amigos, **Carlos Eduardo Padilha, Cibele Fontes, André Longo**, tantos que me incentivaram.

A minha compreensiva família: **Expedito Solaney, Alexandre Moreno e Maria Clara**.

Sempre muito obrigado!

S U M Á R I O

RESUMO	v
ABSTRACT.....	vi
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. EPIDEMIOLOGIA.....	2
1.2 O VÍRUS B E SUA PATOGENIA	5
1.2.1 Patologia	6
1.3 MARCADORES SOROLÓGICOS DO HBV	7
1.4 IMPORTÂNCIA DO MARCADOR ANTI-HBc.....	9
1.4.1 Frequência e Significado do Anti-HBc isolado	10
1.4.2 Anti-HBc e biologia molecular	12
1.5 VACINAÇÃO CONTRA VHB EM PORTADORES DE ANTI-HBc ISOLADO.....	13
1.5.1 Resposta anamnética (rápida) de anti-HBs;.....	14
1.5.2 Resposta primária (lenta) de anti-HBs:.....	14
1.5.3 Ausência de produção de níveis protetores de anti-HBs (<10 miliUI/ml):	15
1.6 VACINAS RECOMBINANTES CONTRA VHB.....	15
1.7 JUSTIFICATIVA	16
2 OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GERAL.....	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3 SUJEITOS E MÉTODOS.....	19
3.1 DESENHO DE ESTUDO.....	19
3.2 OPERACIONALIZAÇÃO DA PESQUISA.....	19
3.2.1 População de estudo.....	19
3.2.2 Local de estudo	20
3.2.3 Amostragem	20
3.2.4 Categorização de variáveis	21
3.2.5 Definição de casos.	21
3.3 LEVANTAMENTO DE DADOS, COLETA E ACONDICIONAMENTO DE MATERIAL	22
3.3.1 Testes laboratoriais	23
3.3.2 Banco de dados e análise dos dados	24
3.3.3 Limitações Metodológicas	25
3.3.4 Considerações éticas	25

4. RESULTADOS	27
5. DISCUSSÃO	36
5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS DOADORES SANGÜÍNEOS DO ESTUDO	36
5.2 FREQUÊNCIA DE RESPOSTA PROTETORA À VACINAÇÃO EM DOADORES SANGÜÍNEOS POSITIVOS PARA ANTI-HBC E NEGATIVOS PARA HBSAG E ANTI-HBS.....	37
5.3 FREQUÊNCIA DOS PERFIS DE RESPOSTA À VACINAÇÃO.....	38
5.4 FREQUÊNCIA DO ANTI-HBC APÓS RETESTAGEM	41
5.5 FREQUÊNCIA DO VHB POR PCR NOS NÃO RESPONDEDORES DO ESTUDO	41
5.6 ALGUMAS ALTERNATIVAS PARA DIMINUIR RESULTADOS FALSO-POSITIVOS	42
6. CONCLUSÕES.....	45
7. RECOMENDAÇÕES.....	46
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
9 ANEXOS	55
ANEXO I – QUESTIONÁRIO	56
ANEXO II – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	58

RESUMO

O anticorpo contra o antígeno do centro (ou do core), o anti-HBc, do vírus da hepatite B (VHB) é considerado o mais sensível e duradouro marcador sérico da infecção pelo VHB. Algumas vezes o anti-HBc é encontrado na ausência de outros marcadores como por exemplo o anti-HBs ou o HBsAg. O significado clínico do encontro isolado do anti-HBc permanece incerto. Existem algumas explicações para este achado: primeiro, o encontro do anti-HBc pode ser um resultado apenas falso-positivo. Segundo, o indivíduo pode ter ficado imune após contato com o VHB, porém não possui anti-HBs detectável. Terceiro, estes indivíduos com anti-HBc isolado podem ser portadores crônicos do VHB com ausência ou não detecção de HBsAg. Além do que o encontro isolado do anti-HBc pode ser pelo fato do indivíduo se encontrar na fase de “janela imunológica” quando o HBsAg desapareceu mas o anti-HBs ainda não está detectável. Uma última hipótese menos provável é que a presença do anti-HBc possa ter sido devida a uma passagem passiva deste anticorpo. Exceto a situação de “janela imunológica” todas as outras explicações hipotéticas teriam teoricamente esclarecimento com o uso de técnicas de biologia molecular. Porém, como é cara e laboriosa não é utilizada de rotina. Haja vista a importância tanto do ponto de vista do indivíduo como para os serviços de saúde de elucidar se o anti-HBc isolado é falso-positividade do teste ou contato prévio com o VHB alguns serviços de saúde têm utilizado a vacinação contra o VHB nestes indivíduos para distinguir entre estas duas situações. O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta contra vacina recombinante para VHB em doadores sanguíneos portadores de anti-HBc e negativos para HBsAg e anti-HBs. O modelo do estudo foi do tipo *quasi-experimental* sem grupo controle, não randomizado. Vinte e quatro doadores entre 22 e 76 anos receberam três doses de 20 mcg de Engerix®-B nos meses 0, 1 e 6. Amostras sanguíneas foram coletadas 30 dias após primeira e terceira dose de vacina e testadas para anti-HBs pela técnica imunoenzimática por fluorescência. Os resultados mostraram que após a primeira e terceira dose de vacina a taxa de soroproteção (anti-HBs >10 miliUI/ml) foi de 61,9% e 87,5%, respectivamente. A taxa de resposta tipo anamnésica com produção rápida de anticorpos foi de 38% e tipo primária ou lenta foi de 47,6%. A taxa de não respondedores ao final do esquema vacinal foi de 12,5%. Doadores estes potencialmente suspeitos de serem portadores inativos de VHB e que foram submetidos à pesquisa de DNA do VHB pela PCR sendo todos negativos para este teste. O uso da vacina recombinante contra VHB ajudou a elucidar a situação imunológica da maioria dos indivíduos do presente estudo. Portanto, a estratégia da vacinação parece ser prática e pouco laboriosa para esclarecimento diagnóstico neste grupo de doadores.

Palavras-chaves: VHB; hepatite B; anti-HBc isolado; DNA de VHB; marcadores sorológicos, vacina contra VHB.

ABSTRACT

Antibody to hepatitis B core antigen (anti-HBc) is considered a sensitive and specific serum marker of hepatitis B virus (HBV) infection. Anti-HBc can be found in serum samples from persons who have been exposed to HBV. Infrequently, anti-HBc is detected in the absence of either hepatitis B surface antigen (HBsAg) or antibody to hepatitis B surface antigen (anti-HBs). The significance of finding anti-HBc as the sole marker of HBV infection remains uncertain. There are five possible explanations for this finding. First, could be due to false-positive results of the tests. Second, the loss of anti-HBs with time after resolution of HBV infection. Third, absence of HBsAg or undetectable HBsAg in individuals carriers of HBV. Fourth, the “window phase” when HBsAg has disappeared before anti-HBs becomes detectable. Finally, a passive transfer of anti-HBc is possible. It is very important to health services and patients distinguish whether isolated anti-HBc is related to false-positive results or to a prior exposure to HBV resolved or not. Almost always in a previous exposure to HBV a single injection of HBV vaccine always leads to an anamnestic anti-HBs response (anti-HBs titer exceeding 50 IU/l after 30 days after the first vaccination), providing evidence against chronic infection and enhancing protective immunity. For the false-positive results situation it's expected a primary anti-HBs response (anti-HBs titers exceeding 10 IU/l after the third vaccination). The aim of this study was to evaluate the response to hepatitis B recombinant vaccine in blood donors positive for anti-HBc but negative for HBsAg and anti-HBs in Recife. It was a *quasi*- experimental study without control group. Twenty-four blood donors with an age range of 22-76 years received three 20 mcg doses of Engerix-B® at 0, 1 and 6 months. Sera from each subject were obtained and tested for anti-HBs, after first and third vaccination, by enzyme-linked fluorescent immunoassay (commercial kit VIDAS®). After the first and third vaccinations, the anti-HBs titers exceeding or equal to 10 IU/

l (seroprotection) was 61,9% and 87,5%, respectively. This study observed anamnestic response as 38% and the primary response was found as 47,6%. This study found frequencies comparable with some others regions of the world. There was no anti-HBs response in three (12,5%) subjects. HBV DNA determination by PCR analysis was done in those who did not responded after vaccination but anyone was positive. In conclusion, this study using HBV vaccination was useful to detect false positive results (primary response) or past infection by HBV (anamnestic response) in our blood donors. For whom no specific follow-up is required. This strategy is the most practical approach to clarify the meaning of isolated anti-HBc in most of blood donors.

Keywords: HBV; hepatitis B, isolated anti-HBc; HBV-DNA; serological markers; HBV vaccine.

L I S T A D E T A B E L A S

TABELAS	Pág.
Tabela 1. Distribuição das variáveis sexo e idade em 24 doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg e anti-HBs vacinados contra VHB em Recife, 2005.....	28
Tabela 2 Frequência de fatores de risco para VHB em 24 doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg e anti-HBs vacinados contra VHB em Recife, 2005.....	29
Tabela 3 Taxas de soroproteção em 24 doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg e anti-HBs vacinados contra VHB em Recife, 2005.....	30
Tabela 4 Distribuição dos tipos de resposta após vacinação contra VHB segundo variável sexo em 24 doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg e anti-HBs em Recife, 2005.....	31
Tabela 5 Distribuição dos tipos de resposta após vacinação contra VHB segundo variável idade e idade em 24 doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg e anti-HBs em Recife, 2005.....	32
Tabela 6 Distribuição de 21 doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg e anti-HBs segundo perfil de resposta a vacinação contra VHB em Recife, 2005.....	33
Tabela 7 Distribuição dos tipos de resposta após vacinação contra VHB em 24 doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg e anti-HBs segundo presença do anti-HBc após retestagem em Recife, 2005.....	34

L I S T A D E A B R E V I A T U R A S E S I G L A S

Anti-HBc	–	Anticorpo contra o centro do VHB
Anti-HBc IGM	–	Anticorpo contra o centro do VHB classe IGM
Anti-Hbe	–	Anticorpo contra a proteína e do VHB
Anti-HBs	–	Anticorpo contra o antígeno de superfície do VHB
CccDNA	–	Ácido Desoxirribonucleico covalentemente fechado em círculo
CHC	–	Carcinoma hepatocelular
DNA	–	Ácido Desoxirribonucleico
ELFA	–	Técnica imunoenzimática baseada em fluorescência
ELISA	–	Técnica imunoenzimática por colorimetria
FUNASA	–	Fundação Nacional de Saúde
HBeAg	–	Antígeno da proteína e do VHB
HBsAg	–	Antígeno de superfície do VHB
HBcAg	–	Antígeno do centro do VHB
HBxAg	–	Antígeno x do VHB
HUOC	–	Hospital Universitário Oswaldo Cruz
IMIP	–	Instituto Materno Infantil de Pernambuco
IMC	–	Índice de Massa Corpórea
MS	–	Ministério da Saúde do Brasil
OMS	–	Organização Mundial de Saúde
PCR	–	Reação em Cadeia de Polimerase
PNHV	–	Programa Nacional de Controle e Prevenção de Hepatites Virais
RIA	–	Radioimunoensaio
UI	–	Unidades Internacionais
VHB	–	Vírus da Hepatite B

1. INTRODUÇÃO

Das diversas causas de formas graves de doença do fígado, poucas têm tanta importância global e epidemiológica como a hepatite pelo vírus B (MAYNARD, 1990; HOLLINGER; LIANG, 2001). A hepatite B pode ser apontada como uma das viroses mais importantes do gênero humano que atinge milhões de pessoas em todo o mundo (OMS, 2001) (CHISARI; FERRARI, 1997).

Hepatite é um termo genérico que significa, “inflamação do fígado”, aguda ou crônica. Pode ser causada por uma variedade de agentes como os vírus “hepatotrópicos” A, B, C, D e E. Todos estes vírus podem produzir doença clínica semelhante. A evolução, no entanto, para cronicidade é comum só a alguns tipos (B, C e D). A persistência crônica da infecção, principalmente do vírus da hepatite B (VHB), resulta em graves consequências clínicas durante toda a vida, como insuficiência hepática crônica, cirrose e carcinoma hepatocelular (CHC) (BEASLEY, 1988) (MCMAHON, 1997).

Mais recentemente, foram descobertos os vírus da hepatite G e o TTV (do inglês: *transfusion transmitted virus*) ainda sem importância clínica estabelecida (MAHONEY; KANE, 1999).

Apesar da diversidade da prevalência da infecção pelo VHB entre os países do mundo, esforços comuns para controlar a infecção foram implementados (KANE, 1995). Nessa perspectiva, os programas de imunização contra o VHB já parecem reduzir o impacto global desta infecção em populações de alguns países específicos (FORTUIN, 1993). Entretanto, como nem todos os países implementaram programas de imunização, mantiveram-se reservatórios de infecção (CUSTER *et al*, 2004).

Mesmo com a existência dos programas de vacinação, grande número de pessoas, já está infectada ou se infectará. Esse grupo da população necessitará de assistência e

terapêutica adequada além de políticas públicas específicas de saúde por parte dos gestores ao longo de toda a vida (OMS, 2003).

1.1. EPIDEMIOLOGIA

A hepatite B é um dos maiores problemas de saúde pública no mundo. Estima-se que 350 milhões de pessoas estejam cronicamente infectadas pelo VHB (OMS, 2005).

A cada ano ocorrem 4 milhões de casos, clínicos agudos por VHB, e aproximadamente 25% dos portadores, 1 milhão de pessoas, morrem anualmente por hepatite crônica agudizada, cirrose ou câncer primário do fígado. O VHB é o responsável por mais de 80% de todos os casos de CHC no mundo. É a segunda causa conhecida, após o tabaco, de carcinogênese humana. Entre os casos agudos, entre adultos, cerca de 5 a 10% evoluirão para forma crônica os quais 25% a 50% desenvolverão, cirrose ou CHC em 20 ou 30 anos (OMS, 2005).

As vias de transmissão incluem contato sexual (hetero ou homossexual), uso de drogas injetáveis, exposição percutânea ou contato íntimo com sangue ou secreções contaminados além da transmissão materno-infantil (vertical). A transmissão por contato pessoa a pessoa, acontece principalmente em áreas hiperendêmicas entre a população infantil (CDC, 1990).

O VHB pode permanecer viável por longos períodos fora do organismo humano. Um portador crônico pode eliminar grande quantidade de vírus através de lesões ou superfícies abertas. Os portadores crônicos são indivíduos que permanecem com o marcador HBsAg, antígeno de superfície do VHB, positivo por mais de seis meses (CDC, 1991).

Podem ser assintomáticos (inativos) quando não possuem evidência de dano hepatocelular ou sintomáticos (ativos). Os inativos, apesar de cursarem com evolução

benigna, tem grande importância epidemiológica por permanecerem transmitindo o vírus sendo importante elo na cadeia de transmissão (MS, 2002).

O mundo pode ser dividido, do ponto de vista epidemiológico, em três áreas em relação à infecção crônica pelo VHB: alta endemicidade onde a prevalência do HBsAg é superior a 8%, intermediária quando entre 2 e 8% e baixa onde menor que 2% (OMS, 2001)(**figura 1**).

Alta endemicidade é a condição da África Subsaariana, da Bacia Amazônica, Sudeste da Ásia, China, parte do Oriente Médio, alguns países da Europa Oriental e Ilhas do Pacífico (excluindo Japão, Austrália e Nova Zelândia), locais em que 70 a 90% da população foram infectadas antes dos 40 anos, e 8 a 20% são portadores crônicos, sendo, a transmissão vertical mãe-filho e a infecção horizontal de criança para criança, as formas mais comuns de infecção (HOLLINGER; LIANG, 2001) (GITLIN, 1997).

São consideradas como de endemicidade intermediária as áreas da Europa Oriental, Mediterrâneo, parte da América do Sul, Oriente Médio e Rússia. Nessas regiões 20 a 55% da população é portadora de anti-HBs. A transmissão pelo VHB ocorre em todas as faixas etárias (ZUCKERMAN, 1996).

No restante do mundo, que inclui os países mais desenvolvidos (América do Norte, Europa Ocidental e Austrália) a prevalência do HBsAg é de menos de 2% e a prevalência total de infectados previamente (prevalência do anti-HBs (anticorpo contra antígeno de superfície)) é inferior a 10% (MAHONEY; KANE, 1999). Nessas condições, a infecção neonatal e na infância é muito rara. Nessas áreas, existem grupos de alto risco bem estabelecidos, que são: os usuários de drogas endovenosas, homossexuais masculinos, profissionais da área da saúde, pacientes de hemodiálise ou sujeitos a tratamento clínico por hemoderivados.

No Brasil calcula-se que 15% da população, 2 milhões de pessoas, tiveram contato com o vírus da hepatite B e que os casos crônicos devem corresponder a 1% da população (MS, 2002).

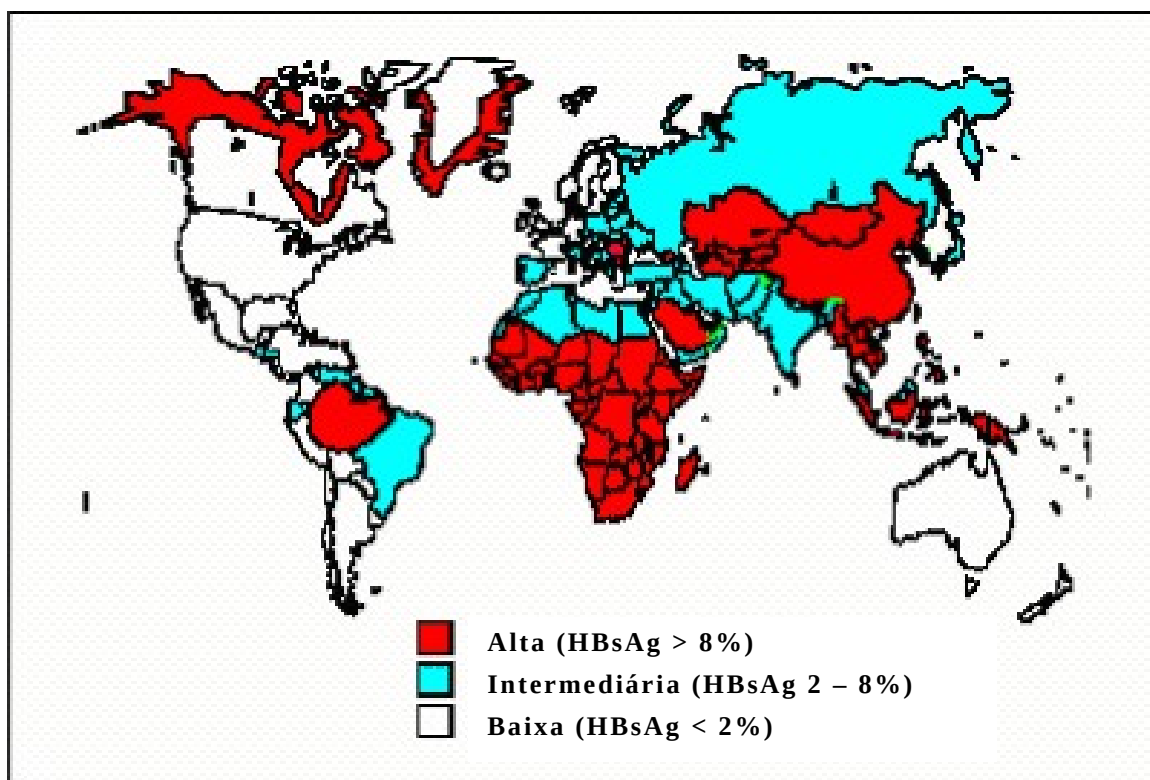
Alguns estudos referem aumento da endemicidade no sentido do Sul/Sudeste para o Norte/Nordeste: prevalência de HBsAg de 0,5% (baixa) na Região Sul e Centro-Oeste, 2% no Sudeste e 2,5% no Nordeste (intermediária) e 8% (alta) no Norte (HADLER *et al*, 1987).

Estudos mais recentes encontraram taxas de 0,64% (Sudeste) e 3,35% (Norte) de presença de HBsAg (ROSINI *et al*, 2003; TAVARES-NETO *et al*, 2004).

Porém o Brasil carece ainda de dados oficiais sobre hepatites virais. Recentemente criado, o Programa Nacional para a Prevenção e Controle das Hepatites (PNHV), iniciou inquérito soro-epidemiológico domiciliar nacional (MS, 2002). Infelizmente os dados deste inquérito não foram disponibilizados até o momento do término desta pesquisa.

De modo geral, a taxa de letalidade dos pacientes hospitalizados é de 0,8% a 2%, podendo aumentar nos indivíduos com mais de 40 anos de idade e ser maior nos casos associados ao vírus da hepatite D (Delta). A taxa de mortalidade brasileira é de 0,6 por 100.000 habitantes (FUNASA, 2003).

Figura 1. Distribuição geográfica da endemicidade do VHB.



1.2 O VÍRUS B E SUA PATOGENIA

O vírus da hepatite B (VHB) foi o primeiro entre os causadores das hepatites humanas a ter suas proteínas e seu genoma identificados e caracterizados (KANN; GERLICH, 1999) (BLUMBERG *et al*, 1969).

O VHB pertence à família *Hepadnaviridae*. Tem estrutura genômica compacta e multicompartimentada, constituída de dupla hélice incompleta de DNA com 3.200 bases de nucleotídeos. Circula no sangue na forma de vírion completo intacto (partícula de Dane), indicativa de replicação viral, e na forma de outras partículas esféricas constituídas só pelo envelope viral (GOMES, 2003).

O HBV contém componentes da sua superfície e do seu centro (do *core*) que são antigenicamente distintos. Há codificação de múltiplas proteínas através destas estruturas genômicas que são sobrepostas (*overlapping*): o gene *S* codifica o antígeno de superfície, o

HBsAg, o gene *C* a proteína solúvel HBeAg e o antígeno central HBcAg. O gene *X* codifica o HbxAg, proteína de importância clínica ainda desconhecida que pode estar envolvida no processo de hepatocarcinogênese (LOK; MCMAHON, 2001). O maior gene, *P*, codifica uma proteína que funciona como uma transcriptase reversa como também uma DNA polimerase (SEEGER; MASON, 2000).

O ciclo de replicação viral começa com o acoplamento do vírion ao hepatócito. Dentro do núcleo do hepatócito há mais síntese de fita de DNA do HBV e o genoma viral é convertido num DNA circular covalentemente fechado conhecido como cccDNA (GANEM; SCHNEIDER, 2001).

Muitos agentes antivirais têm pouco ou nenhum efeito sobre o cccDNA, o que provavelmente explica o rápido reaparecimento de DNA do VHB no plasma após cessação de terapia anti-viral (LOCARNINI; BIRCH, 1999).

1.2.1 Patologia

A lesão morfológica típica das hepatites é a infiltração panlobular por células mononucleares, a necrose de células hepáticas, a hiperplasia de células de Kupffer e graus variados de colestase (DIENSTAG; ISSELBACHER, 2005). Particularmente, em relação à hepatite B, o encontro, de portadores crônicos sem lesão histológica e funções hepáticas normais, sugere que o VHB não seja diretamente citopático e que o desfecho clínico seja resultante da capacidade imunológica do hospedeiro (LOK; MCMAHON, 2001). Essa teoria é corroborada pelo fato de que indivíduos com deficiência na imunidade celular são mais propensos a permanecerem infectados cronicamente (ROBINSON, 1995).

1.3 MARCADORES SOROLÓGICOS DO HBV

A estrutura genômica complexa do VHB produz uma diversidade de antígenos que induz a produção de anticorpos específicos. Esses elementos ou marcadores presentes no soro permitem identificar a infecção pelo VHB como também estabelecem a ocorrência ou não de replicação viral. Em 1982 foram definidas as nomenclaturas dos marcadores sorológicos e suas siglas, tanto dos antígenos como dos seus anticorpos (DEINHARDT):

HBsAg: surge aproximadamente seis semanas após a infecção e desaparece em torno do terceiro mês. Sua presença indica infectividade e sua permanência após o sexto mês caracteriza o estado de portador crônico (SHERLOCK; DOOLEY, 1997). Esse antígeno eleva-se no soro antes do aumento das transaminases e do surgimento dos sintomas clínicos de hepatite viral (DIENSTAG; ISSELBACHER, 2005).

Anti-HBs: anticorpo geralmente considerado como o marcador de cura e de imunidade. A vacinação contra o VHB, objetiva, incitar a produção específica desse anticorpo, o que nem sempre acontece. Entretanto, níveis não detectáveis de anti-HBs, dependentes da resposta individual, podem ser protetores contra HBV (ZUCKERMAN, 1996). Por outro lado, níveis detectáveis não significam necessariamente imunidade protetora e ausência do vírus. Nesse sentido, a concomitância de anti-HBs e presença de vírus está bem estabelecida (ARRAES *et al*, 2003). Uma possível interpretação para esse perfil sorológico pode ser que o anti-HBs presente se dirija a epítomos de cepas de HBV diferentes daquela responsável pela infecção atual do paciente (CHAU; CHUN; DECKER *et al*, 1991).

HBeAg: a presença desse marcador indica replicação viral e maior infectividade. No entanto, a ausência desse antígeno não afasta a possibilidade de transmissão, uma vez que infecção por cepas mutantes incapazes de sintetizar HBeAg podem manter a infectividade (AKARCA; LOK, 1995). Essas variantes mutantes denominadas de mutantes

pré-core/core atualmente já compreendem 30 a 50 % dos casos de hepatite B em alguns países (CHU C-J *et al*, 2003).

Anti-HBe: geralmente associado com imunidade, ausência de HBeAg e perda da infectividade do HBV. Entretanto, esse conceito não pode ser tomado de modo definitivo, uma vez que a concomitância de anti-HBe e HBV-DNA já foi demonstrada (BONINO; HOYER; NELSON *et al*, 1986).

Anti-HBc: primeiro anticorpo a ser detectado quando da infecção pelo HBV. Em geral, aparece logo após o HBsAg, permanecendo positivo por muitos anos, seja qual for o destino desta infecção, cura ou cronicidade. É o mais sensível e duradouro marcador (ARRAES *et al*, 2003).

A persistência desse anticorpo o torna o melhor indicador de infecção passada. Quando detectado juntamente com outro marcador, a correta interpretação é pouco polêmica: associado ao HBsAg indica estado de portador do vírus e acompanhado do anti-HBs traduz geralmente resolução da doença (ALTER; SEEF, 1998; ZUCKERMAN; ZUCKERMAN, 2000).

O quadro a seguir sintetiza a interpretação clássica dos marcadores sorológicos e virológicos da hepatite pelo VHB:

Quadro 1 .INTERPRETAÇÃO DOS MARCADORES SOROLÓGICOS E VIROLÓGICOS DA HEPATITE B

HBsAg	HBeAg	Anti-HBc IgM	Anti-HBc Total(IgG)	Anti-HBe	Anti-HBs	DNA de VHB quantitativo	Interpretação
+	-	-	-	-	-	+	Fase de incubação
+	+	+	+	-	-	+	Fase aguda
+	+	-	+	-	-	+	Portador com replicação viral*
+	-	-	+	+	-	-/+	Portador com replicação Viral ausente ou baixa*
-	-	-	+	-	-	Quando não dosado	° Anti-HBs em títulos baixos? ° HBsAg em títulos baixos?
-	-	-	+	-	-	+	HBsAg em títulos baixos
-	-	-	+	-	-	-	Cicatriz sorológica com Anti-HBs e títulos baixos
-	-	-	+	+	+	-	Imunidade pós hepatite B
-	-	-	+	-	+	-	Imunidade pós hepatite B
-	-	-	-	-	+	-	Imunidade pós vacina da hepatite B
-	-	-	-	-	-	-	Ausência de contato prévio

*Estado de portador assintomático (inativo) ou c/ doença crônica

Fonte: modificado a partir de Dienstag; Isselbacher, 2005.

1.4 IMPORTÂNCIA DO MARCADOR ANTI-HBc

O marcador sorológico anti-HBc foi introduzido no início da década de 1980 em hemocentros de alguns países e continua a ser valorizado principalmente a fim de impedir a transmissão do VHB em transfusões sanguíneas (MOSLEY *et al*, 1995).

O anticorpo do antígeno do core (centro) do VHB (anti-HBc) é considerado o mais sensível e duradouro marcador sérico para infecção pelo VHB (DEINHARDT, 1982). A sua maior sensibilidade frente a outros marcadores do VHB é decorrente de: o anti-HBc está quase sempre presente quando qualquer outro marcador de VHB estiver presente; há situações, citadas adiante, onde só o anti-HBc é detectado; o anti-HBc permanece detectável durante período maior que os outros marcadores sorológicos de VHB. Por isso o anti-HBc popularizou-se nas triagens sorológicas de hemocentros.

Porém a alta sensibilidade e baixa especificidade do anti-HBc acarreta superestimação dos doadores “infectados” pelo vírus B. Em que pese que o HBsAg, marcador

também testado pelos hemocentros, é altamente específico na detecção de sangue portador de VHB, limitar a triagem do VHB nos hemocentros somente a esse marcador é temerário, haja vista a transitoriedade, diferentemente da longevidade do anti-HBc, da permanência do HBsAg após a infecção (KORELITZ *et al*, 1997) que pode acarretar, ao contrário do anti-HBc, subestimação dos sangues infectados.

No Brasil, a introdução do teste de detecção para anti-HBc começou a partir de 1993. Taxas alarmantes de detecção desse marcador resultaram em descarte importante de sangue e queda do estoque de sangue e derivados em hemocentros de capitais brasileiras. Na região Amazônica, por exemplo, a taxa de descarte de doações sanguíneas é de 43,7% (ANN; CLEMENS *et al*, 2000).

Apesar das importantes taxas de descartes de doadores sanguíneos a pesquisa do anti-HBc ainda é necessária como teste de triagem para a segurança transfusional. Mesmo que haja uma superestimação, dos doadores “infectados”, haja vista a alta sensibilidade e baixa especificidade desse marcador, é bem documentado o encontro de casos de infecção pelo VHB após transfusões sanguíneas de doadores anti-HBc isolado (ZUCKERMAN; ZUCKERMAN, 2000).

1.4.1 Frequência e Significado do Anti-HBc isolado

A prevalência de anti-HBc isolado tem variado de 0,1% a 20% em várias populações (MCMAHON *et al*, 1992). As mais baixas prevalências foram encontradas em áreas com baixa endemicidade para o VHB com taxas que variaram de 0,5%, encontrada, por exemplo, em colegiais americanos a 4% da população (HADLER *et al*, 1984; GROB *et al*, 2000).

As mais altas prevalências têm sido encontradas em populações que residem em regiões endêmicas para infecção pelo VHB como Senegal (20,1%) e Shanghai (13,2%) (HU *et al*, 1984; FERET *et al*, 1987).

No Brasil a prevalência de anti-HBc isolado é melhor relatada entre os doadores sanguíneos por falta de estudos de base populacional. Em um hemocentro de São Paulo, há em torno de 3,49% de descarte de doações por presença do anti-HBc e 10% desse total é devido a presença isolada do anti-HBc (ALMEIDA NETO *et al*, 2001).

Em Pernambuco, o HEMOPE, em 2003, descartou 3. 203 (3,6%) das suas 86. 577 doações sanguíneas devido a presença do anti-HBc (comunicação pessoal: Josiete Correia). Porém não foi possível saber quantas dessas doações possuíam positividade apenas para o anti-HBc. Se considerarmos a mesma taxa do hemocentro de São Paulo, teremos no Hemope por volta de 320 doações descartadas anualmente por presença isolada do anti-HBc.

O encontro do anti-HBc com outros marcadores para Hepatite B tem sua interpretação já bem definida: anti-HBc associado ao HBsAg indica estado de portador do vírus e ao anti-HBs geralmente traduz imunidade (SHERLOCK; DOOLEY, 1997). Porém o significado do encontro isolado do anti-HBc sem nenhum outro marcador para Hepatite B permanece incerto e bastante controverso, podendo ser devido a:

a) Paciente imune (infecção resolvida) com anti-HBs aquém do nível de detecção, porém com persistência do anti-HBc (ZUCKERMAN; ZUCKERMAN, 2000).

b) Portador do VHB com HBsAg indetectável ou incapacidade de produção/expressão do HBsAg (verdadeiros “HBsAg negativos”) ou supressão da replicação do HBV (GROB *et al*, 2000);

c) Falso-positividade dos testes, decorrente de: erros técnicos no laboratório, raro atualmente, reações cruzadas ou ainda por limitações da especificidade dos testes (KLEIMAN *et al*, 1997; PARKINSON *et al*, 1990);

d) Período de “janela imunológica” onde já não se detecta HBsAg e o anti-HBs ainda não aumentou a níveis detectáveis, porém a caracterização da infecção pelo VHB pode ser feita através de outros testes sorológicos (testagem para anti-HBc-IgM)(RAKELA *et al*, 1980; DIENSTAG; ISSELBACHER, 2005).

Finalmente, alguns autores discutem uma quinta possibilidade de transferência passiva do anti-HBc (URAL; FINDIK, 2001).

Excluindo a situação de janela imunológica, todas as outras quatro situações quanto ao diagnóstico de hepatite, presente ou passada, pelo VHB têm sua avaliação às vezes limitada pelos testes sorológicos e podem necessitar do uso de técnicas de biologia molecular (“padrão ouro” da presença do VHB) para tentar verificar aqueles doadores possivelmente virêmicos (EVANS; LONDON, 1999). Essas técnicas não são utilizadas de rotina nos hemocentros ou serviços de saúde em virtude do seu custo e têm apresentado grande variabilidade nos resultados encontrados.

1.4.2 Anti-HBc e biologia molecular

Quando as técnicas de biologia molecular são usadas para ratificação dos resultados sorológicos, a frequência de viremia nos soros anti-HBc isolados têm variado de 0 até 90% (ARRAES *et al*, 2003). Esta variação se deve a fatores virológicos, imunológicos e metodológicos. A localização geográfica provavelmente deve ser a principal fonte de variação de positividade de DNA de VHB entre doadores sanguíneos anti-HBc isolados.

Luo e colaboradores (1991) detectaram DNA de VHB em 35% desses doadores na China e Nandi e Banerjee (1992) encontraram positividade em 24% nesse mesmo grupo na Índia.

Porém em uma região de intermediária prevalência de infecção pelo VHB como o Alasca só 3,8% dos indivíduos anti-HBc isolados tiveram positividade para DNA de VHB (SILVA *et al*, 1998). Um outro estudo nos Estados Unidos, área considerada como de baixo risco para VHB, não detectou presença de genoma viral em nenhum doador anti-HBc isolado (DOUGLAS *et al*, 1993).

No Brasil, um estudo com doadores do Estado de São Paulo não encontrou DNA de VHB por PCR em nenhum indivíduo positivo para anti-HBc isolado (ALMEIDA NETO *et al*, 2001).

Em Recife, Arraes e colaboradores (2003) também não detectaram positividade de DNA de VHB em nenhum doador sanguíneo portador de Anti-HBc isolado.

O desafio de elucidar o significado imunológico do encontro isolado do anti-HBc levou alguns pesquisadores e serviços de saúde a utilizar a estratégia da vacinação contra o próprio VHB neste grupo como uma alternativa de diagnóstico (DRAELOS *et al*, 1987; AL-MEKHAIZEEM *et al*, 2001).

1.5 VACINAÇÃO CONTRA VHB EM PORTADORES DE ANTI-HBc ISOLADO

Vários e importantes estudos demonstraram que indivíduos portadores de anti-HBc isolado quando vacinados para VHB apresentam três distintos padrões sorológicos de

resposta à vacinação (DRAELOS *et al*, 1987; MCMAHON *et al*, 1992; AOKI *et al*, 1993; SILVA *et al*, 1998; SÜNBÜL *et al*, 2000; URAL; FINDIK, 2001):

1.5.1 Resposta anamnética (rápida) de anti-HBs;

O significado clínico da produção de altos títulos de anti-HBs após vacinação não está claro, mas sugere fortemente memória imunológica prévia (WILLIAMS *et al*, 2003).

McMahon e colaboradores (1992) encontraram, 8,1% dos indivíduos anti-HBc isolado com padrão de resposta anamnética categorizada como anti-HBs com título maior ou igual a 50miliUI/ml logo após a primeira dose de vacina, sugerindo serem esses indivíduos já previamente imunes ao VHB, porém, com títulos de anti-HBs não detectáveis antes da vacinação.

Este tipo de resposta rápida de anti-HBs foi encontrado numa frequência que variou de 16% como na China até 41,6% como na Turquia (LOK; LAI; WU, 1988; URAL; FINDIK, 2001);

1.5.2 Resposta primária (lenta) de anti-HBs:

Taxas de produção de anti-HBs semelhante à observada em pacientes não imunes ao VHB, têm sido encontradas em 48,4 a 88,9% de portadores de anti-HBc isolado que foram vacinados (MCMAHON *et al*, 1992; LOK *et al*, 1988; SÜNBÜL *et al*, 2000). O encontro deste padrão de resposta similar ao encontrado em indivíduos soronegativos para VHB tem reforçado a hipótese de que o achado isolado de anti-HBc em doadores sanguíneos em áreas de baixa ou moderada prevalência para infecção pelo VHB, são na maioria resultados falso-positivos (SILVA *et al*, 1998; MCINTYRE *et al*, 1993).

1.5.3 Ausência de produção de níveis protetores de anti-HBs (<10 mIU/ml):

A incapacidade de produção de anti-HBs tem sido atribuída ao estado de portador crônico do VHB (ZUCKERMAN; ZUCKERMAN, 2000).

O estudo do Alasca encontrou 19,6% dos adultos saudáveis portadores de anti-HBc isolado incapazes de produzir níveis protetores de anti-HBs após vacinação (MACMAHON *et al*, 1992). Em outros estudos de diversas regiões geográficas com prevalências diferentes para o VHB como Turquia, China e Hong Kong reportaram-se taxas de 9,1%, 22,9% e 28% respectivamente de portadores de anti-HBc isolado não respondedores ao término de três doses de vacina (LOK *et al*, 1988; LAI *et al*, 1992; SÜNBÜL *et al*, 2000).

1.6 VACINAS RECOMBINANTES CONTRA VHB

As vacinas produzidas por engenharia genética, com técnica de recombinação de DNA contendo HBsAg, são amplamente usadas no mundo. Particularmente, a Engerix®-B, produzida na Bélgica, é considerada uma vacina padrão e tem sido avaliada desde da década de 1980. Sua imunogenicidade, eficácia protetora e tolerabilidade estão bem estabelecidas (ASSAD; FRANCIS, 2000).

As vacinas recombinantes contra VHB tem sido utilizadas numa variedade de indivíduos usando diversos esquemas vacinais.

Por exemplo, o esquema de imunização para adultos da Engerix®-B, segundo o fabricante, é a administração de 20 mcg nos 0, 1 e 6 meses, conhecido como “esquema de 3 doses”. A vacina deve ser administrada via intramuscular na região deltóide (GLAXOSMITHKLINE, 2005).

Comparado com indivíduos saudáveis, a imunogenicidade da vacina é reduzida em alguns grupos: dialíticos, portadores de malignidade com imunossupressão, pacientes

aguardando transplante hepático, usuários de drogas injetáveis e portadores de certas doenças (infecção por HIV). O fator contribuinte para redução de imunogenicidade na maior parte desse grupo é a presença de algum grau de deterioração da função imune (KEATING; NOBLE, 2003).

Soroproteção é definida como título de anti-HBs >10miliUI/ml após o término do esquema vacinal escolhido (CDC,1990). Definição esta, que continua às vezes a ser polêmica (JACK *et al*, 1999). Soroconversão é apenas a detecção de título de anti-HBs.

Menor taxa de resposta vacinal em pacientes saudáveis tem sido associada ao sexo masculino, idade aumentada, tabagismo, uso de álcool, aumento de massa corpórea, doenças concomitantes, certos tipos de antígenos leucocitários humanos (HLA) ou haplótipos (ROSMAN; LIEBER, 1999; SMART *et al*,1991; MARINHO *et al*, 1999).

Particularmente, em relação à idade, a resposta vacinal é diminuída em indivíduos, com idade a partir de 30 anos (ROOME *et al*, 1993). A eficácia global da vacina é de 80 a 90% ao considerar todos que recebem a vacina e 99% para os que apresentam soroproteção (BARTLETT; GALLANT, 2004).

1.7 JUSTIFICATIVA

Em vista da necessidade de se definir a situação imunológica dos doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg e anti-HBs que são encaminhados para os serviços de saúde foi construído um algoritmo investigativo usando a vacinação contra VHB para diferenciar doadores imunes ao VHB de falso-positivos que é importante para o prognóstico, tratamento e bem estar dos doadores. Sendo esta a principal motivação do presente estudo.

A possibilidade de implementar uma rotina mais racional por parte dos serviços com o seguimento apenas dos indivíduos com padrão de resposta vacinal sugestivos de cronicidade ao VHB também foi bem motivadora.

Além do que, não foram encontrados estudos que pesquisassem perfis de produção de anti-HBs após vacinação contra VHB, neste grupo de indivíduos, na região Nordeste do Brasil.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Descrever as respostas sorológicas à vacinação com 3 doses de vacina recombinante contra VHB em doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg e anti-HBs.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Nos doadores vacinados com 3 doses de vacina recombinante contra VHB:

- Descrever taxas de soroproteção após primeira e terceira dose de vacina;
- Descrever perfis de produção de anti-HBs após vacinação;
- Verificar a presença do marcador anti-HBc através de retestagem após vacinação;
- Quantificar títulos mínimos, medianos e máximos de anti-HBs conforme o perfil de resposta à vacinação;
- Verificar presença do VHB através da PCR em doadores não respondedores à vacinação.

3 SUJEITOS E MÉTODOS

3.1 DESENHO DE ESTUDO

Esse estudo caracteriza-se por ser de intervenção, do tipo *quasi-experimental*, sem randomização ou grupo controle. Como modelo de desenho epidemiológico os *quasi-experimentais* se assemelham aos ensaios clínicos e, portanto são sempre prospectivos (EBRAHIM; SULLIVAN, 1996).

Foram comparados os efeitos da intervenção antes e após sua ocorrência sendo que o grupo submetido à manipulação foi o controle dele próprio.

Esse experimento não avaliou a eficácia protetora, a imunogenicidade nem a tolerabilidade da vacina contra VHB (Engerix®-B) utilizada no estudo. Verificou as distintas respostas sorológicas à vacinação em um grupo específico de doadores sanguíneos para elucidar a situação imunológica em relação ao VHB.

Alguns fatores reconhecidos na literatura como responsáveis por resposta vacinal deteriorada foram transformados em fatores de exclusão.

3.2 OPERACIONALIZAÇÃO DA PESQUISA

3.2.1 População de estudo

O estudo foi constituído por doadores sanguíneos voluntários portadores de marcadores para VHB que foram referenciados pela Fundação HEMOPE para o serviço de Gastrohepatologia do Hospital Universitário Oswaldo Cruz (HUOC) e de Infectologia do Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP) entre agosto de 2004 a janeiro de 2005.

O HEMOPE é uma instituição de direito público que realiza ações no Estado na área de Hematologia e Hemoterapia desde de 1977. Segue os disciplinamentos e normas técnicas contidas no Programa Nacional de Sangue e Hemoderivados

3.2.2 Local de estudo

O experimento foi conduzido no HUOC e no IMIP após a aprovação desse pelo Comitê de Ética do HUOC.

O HUOC é um hospital universitário pertencente à Universidade de Pernambuco (UPE) localizado em Recife. Sendo uma referência na assistência médica em várias especialidades para toda a população do estado de Pernambuco.

O IMIP é uma instituição filantrópica de direito privado, localizada também em Recife. Possui reconhecida atuação na área da saúde materno-infantil em várias especialidades. A mesma disponibilizou as vacinas recombinantes contra VHB além de possuir sala de vacina com capacidade técnica e física de atendimento ao grupo da pesquisa.

3.2.3 Amostragem

A amostra foi do tipo por conveniência. Os participantes da pesquisa foram indivíduos doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg e anti-HBs que compareceram ao HUOC e IMIP referenciados pelo HEMOPE.

3.2.4 Categorização de variáveis

Variáveis dependentes:

Resposta vacinal primária (lenta): foi considerada aquela resposta com nível de detecção de anti-HBs igual ou superior a 10 miliUI/ml após a terceira dose de vacina este título é relatado na literatura como soroprotetor (SZMUNESS *et al*, 1980; FRANCIS *et al*, 1982);

Resposta vacinal tipo anamnética (rápida): foi a produção de anti-HBs igual ou superior a 50 miliUi/ml após primeira dose do esquema vacinal. Produção esta de anti-HBs categorizada em vários estudos como rápida (MCMAHON *et al*, 1992; URAL; FINDIK, 2001);

Não resposta vacinal: produção de anti-HBs ao final da terceira dose de níveis inferiores a 10 miliUI/ml considerado como não soroprotetor (SZMUNESS *et al*, 1980).

Quadro 2. Variáveis independentes.

Variável	Definição	Categorização
Idade (anos completos)	Idade do doador registrada em documentos pessoais quando iniciada a intervenção	< 40 anos ≥ 40 anos
Sexo	Sexo do doador registrado em documentos pessoais quando iniciada a intervenção	Masculino/Feminino

3.2.5 Definição de casos.

a) Eleito: doador sanguíneo positivo para anti-HBc e negativo para HBsAg e anti-HBs .

Fatores de exclusão:

Doador portador de alguma outra sorologia testada pelo HEMOPE (anti-VHC, Sífilis, Chagas, HTLV I e II e HIV)

Doadores sabidamente imunes ao VHB (anti-HBs >10miliUI/ml);

Doadores previamente vacinados, independente do número de doses, contra VHB;

Uso atual ou até seis meses antes do estudo de quimioterápicos e/ou imunossupressores;

História prévia de efeito adverso grave a alguma vacina;

Indivíduo portador de Imunodeficiência adquirida ou congênita;

Usuários de drogas;

Hepatopatias e doença renal.

3.3 LEVANTAMENTO DE DADOS, COLETA E ACONDICIONAMENTO DE MATERIAL

Os doadores encaminhados pelo HEMOPE aos serviços de saúde são os chamados “doadores de retorno”. Esses tiveram o anti-HBc testado em duplicata na mesma amostra (de doação) e novamente testado (em outra amostra) juntamente com o anti-HBs antes de serem enviados aos serviços de saúde.

Na primeira consulta, que aconteceu inicialmente no ambulatório de Gastro-hepatologia do HUOC, os doadores responderam a um questionário (ANEXO I) e ao termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO II). Foram em seguida, encaminhados para o setor de vacinação do IMIP. As vacinas foram aplicadas via intramuscular, (músculo deltóide) com uma dose de 20 mcg (1ml) de vacina contra VHB (Engerix-B®; SmithKline Beecham).

Foi agendada uma segunda consulta, com 30 dias, para o ambulatório de Infectologia do IMIP, onde houve coleta de sangue, para estocagem. Cada amostra de sangue foi centrifugada para separar o soro das outras células sanguíneas, sendo este soro estocado à -80°C e posteriormente testado para anti-HBs.

No IMIP o doador era encaminhado para a sala de vacina para fazer a segunda dose de vacina logo após o término da consulta.

Os resultados das amostras séricas coletadas após primeira dose foram disponibilizados até o momento antes da realização da terceira dose de vacina para evitar que doadores com nível de anti-HBs superior a 50miliUI/ml após a primeira dose da vacina (resposta anamnésica) fossem submetidos a terceira dose de vacinação desnecessariamente.

A pesquisadora realizou atendimento médico semanal no serviço de Infectologia do IMIP para disponibilização dos resultados obtidos e para captação e seguimento de doadores.

Os demais doadores fizeram a terceira dose com intervalo mínimo de 120 dias e máximo de 180 dias após a segunda dose sem coleta de sangue.

Foi agendada uma consulta com até 60 dias após a última dose da vacina para coleta da segunda e última coleta de amostra sanguínea para testagem de anti-HBs e anti-HBc.

3.3.1 Testes laboratoriais

As leituras das amostras foram realizadas no setor de Imunologia do laboratório do IMIP.

Foram baseadas na tecnologia da determinação imunoenzimática por fluorescência dos anticorpos conhecida como ELFA (*Enzyme Linked Fluorescent Assay*).

Para o anti-HBs foi utilizado o ensaio VIDAS®- Anti-HBs total (Biomérieux), teste quantitativo e automatizado que destina-se à determinação de anticorpos totais (anti-HBs) contra o antígeno de superfície do VHB, no soro ou plasma humano.

Na leitura do anti-HBc foi utilizado o ensaio VIDAS® - Anti-HBc Total II (Biomérieux) que é um teste qualitativo e também automatizado que utiliza o método ELFA.

Foram retestadas para anti-HBc todas as amostras sanguíneas da última coleta sanguínea dos 24 casos.

O teste de biologia molecular dos doadores não respondedores foi realizado nas amostras sanguíneas da segunda coleta pela Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) *in house* em tempo real. A amplificação, captura dos híbridos e a leitura são realizadas ao mesmo tempo.

Os primers específicos para o VHB foram elaborados de acordo com o consenso (Gene Bank database) das seqüências da população de VHB. Dois primers à frente (F1, CATAAATTGGTCTGTTCACCAGCACCATGC e F2, TGGCTTTGGGGCATGGACATCGACC) e 2 primers reversos (R1, GCTTGCCTGAGTGCAGTATGGTGAGG e R2, CTGGGTCCTCCAA ATTATTGCCACC) de uma região estável do gene do centro do VHB foram escolhidos para amplificar todos os genótipos identificados de VHB.

3.3.2 Banco de dados e análise dos dados

Os dados dos resultados dos testes laboratoriais e dos questionários foram codificados e armazenados num banco de dados utilizando o programa Excel, versão 2003.

As variáveis pesquisadas foram verificadas através de frequências simples.

3.3.3 Limitações Metodológicas

O desenho de estudo tratou-se de uma pesquisa com intervenção sem grupo controle o que pode ser considerado uma limitação. Mas a resposta vacinal a Engerix®- B em adultos na população geral é bem relatada na literatura (BOCK *et al*, 1996; VAN DAMME *et al*, 1992) o que permitiu a sua utilização como referência na descrição com o grupo que foi submetido à intervenção.

Uma outra limitação do estudo foi a não randomização que poderia introduzir vieses de seleção e confusão (EBRAHIM; SULLIVAN, 1996).

Em relação aos possíveis vieses de seleção, o principal viés foi a probabilidade do estudo ter uma amostra com número maior de portadores crônicos inativos de VHB do que o encontrado na população geral. Entretanto, a amostra tratou-se de doadores sanguíneos voluntários e saudáveis, que passaram por duas entrevistas clínicas e epidemiológicas que auxiliam na exclusão de doadores infectados antes da soroconversão, o que fez com que este potencial viés fosse minimizado (DONAHUE; NELSON *et al*, 1990).

Fatores que produzem taxas de soroproteção muito baixas como quimioterapias de indução, uso de drogas injetáveis, hepatopatias e hemodiálise, foram excluídos do estudo para minimizarem o risco de viés de confusão (GOYAL S *et al*, 1998; RUMI *et al*, 1991; HORLANDER JC *et al*, 1999).

3.3.4 Considerações éticas

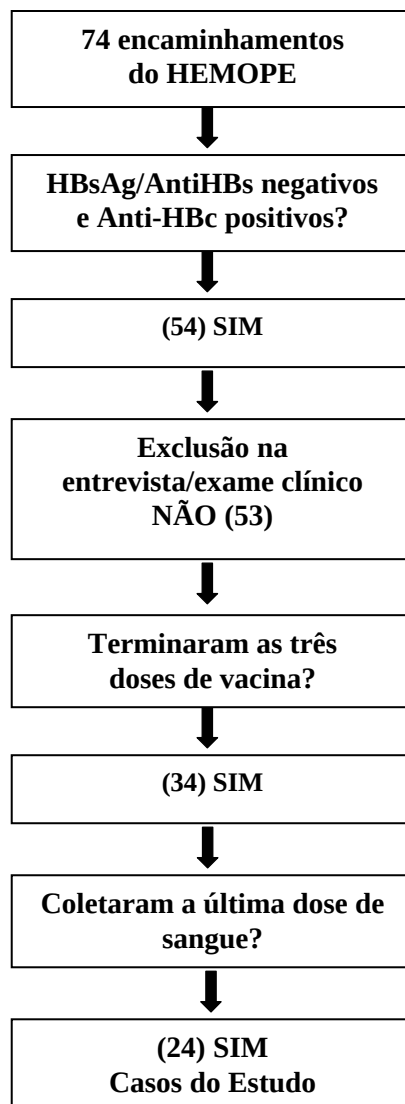
O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HUOC sob o protocolo nº 30. 017. 2004 em agosto de 2004 conforme as disposições da Resolução

196/96 – Conselho Nacional de Saúde. O termo de consentimento livre e esclarecido utilizado pode ser encontrado no anexo 2.

Aos participantes que, após a intervenção, apresentaram perfis sorológicos sugestivos de infecção crônica pelo VHB, foi garantido seguimento médico especializado pelo Serviço de Infectologia do IMIP para esclarecimento diagnóstico em relação à infectividade. Todos os pacientes receberam seus resultados laboratoriais e seus respectivos esclarecimentos em consultas com a pesquisadora.

4. RESULTADOS

Setenta e quatro doadores com algum marcador para hepatite B foram referenciados pelo HEMOPE para os serviços do HUOC e do IMIP. Desses, 54 preenchiam os critérios laboratoriais para inclusão no estudo, sendo HBsAg/anti-HBs negativos e anti-HBc positivos. Entretanto, na entrevista clínica inicial, 1 doador foi excluído por apresentar hepatopatia documentada por imagem. Durante o seguimento, mais 19 doadores foram excluídos por não terminarem o esquema vacinal de três doses e 10 por não comparecerem para a última coleta de sangue após término do esquema vacinal. O estudo foi composto ao final por 24 doadores sanguíneos voluntários saudáveis, conforme visualizado na figura 2.



Três quartos (18/24) dos doadores incluídos no estudo eram do sexo masculino. A idade mediana foi de 41 anos, com variação de 22 a 76 anos, sendo que 54,2% (13/24) tinham idade igual ou superior a 40 anos. Em relação aos doadores, que foram perdidos por não terminarem as 3 doses ou por não coletarem a última amostra sanguínea, que resultou num total de 29 indivíduos, foram compostos em 72,5% pelo sexo masculino com uma mediana de idade de 38,7 anos.

Tabela 1. Distribuição das variáveis sexo e idade em 24 doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg e anti-HBs vacinados contra VHB em Recife, 2005.

Variáveis	<i>n</i>	%
Sexo		
Masculino	18	75
Feminino	6	25
Total	24	100
Idade		
<40	11	45,8
≥40	13	54,2
Total	24	100

A maioria dos doadores (83,2%, 20/24) não possuía nenhum dos fatores de risco pesquisados na entrevista para infecção e / ou doença pelo VHB. Nenhum doador apresentou alteração no exame físico (que incluía pesquisa de sinais sugestivos de doença hepática como: icterícia, aranhas vasculares, hepatomegalia e eritema palmar). Também não houve nenhum caso com relato de sintomas prévios associados à hepatite (**tabela 2**).

Tabela 2. Frequência de fatores de risco para VHB em 24 doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg e anti-HBs vacinados contra VHB em Recife, 2005.

Fator	<i>n</i>	%
Contato domiciliar com portador de VHB	1	4,2
Contato sexual com portador de VHB	1	4,2
Hemotransfusão anterior a 1993*	1	4,2
Acidente percutâneo	1	4,2
Tratamento odonto-cirúrgico nos últimos 6 meses	0	0
Piercing/tatuagem	0	0
Uso de drogas injetáveis	0	0
Sintoma prévio de hepatite	0	0
Sinais de hepatopatia ao exame	0	0
Nenhum dos fatores acima	20	83,2
Total	24	100

* Em relação às transfusões sanguíneas foram pesquisadas as que ocorreram antes de 1993, pois posteriormente o Brasil adotou melhores medidas de segurança transfusional.

O percentual de soroproteção (anti-HBs >10 miliUI/ml) após primeira dose foi de 61,9% (13/21) e de 87,5% (21/24) após terceira dose (tabela 3)

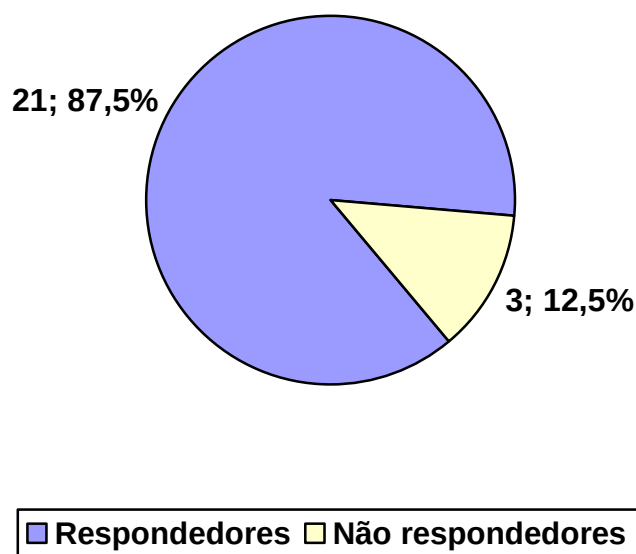
Tabela 3. Taxa de soroproteção em doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg e anti-HBs após vacinação contra VHB em Recife, 2005.

	Título de anti-HBs		%
	< 10miliUI/ml	≥ 10 miliUI/ml	
Após 1 dose N=21*	8	13	61,9
Após 3 doses N=24	3	21	87,5

* Três doadores sanguíneos não coletaram a primeira amostra sanguínea para dosagem do anti-HBs.

Observou-se que 87,5 % (21/24) dos doadores foram respondedores ao final do esquema vacinal de 3 doses contra VHB. Os doadores não respondedores corresponderam a 12,5% (3/24) do total de doadores (**figura 3**).

Figura 3. Distribuição dos 24 doadores positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg e anti-HBs segundo resposta após 3 doses de vacina contra VHB em Recife, 2005.



Dois terços dos doadores (2/3) não respondedores foram do sexo feminino e os indivíduos respondedores tiveram frequência de 80,9% (17/21) de casos do sexo masculino (**tabela 4**).

Tabela 4. Distribuição dos tipos de resposta à vacinação contra VHB segundo variável sexo em 24 doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg e anti-HBs em Recife, 2005.

Tipos	<i>Não Respondedor</i>	<i>%</i>	<i>Respondedor</i>	<i>%</i>
Sexo				
Masculino	1	33,3	17	80,9
Feminino	2	66,6	4	19,1
Total	3	100	21	100

Os doadores não respondedores tiveram maior percentual 66,6% (2/3) de indivíduos com menos de 40 anos. Os respondedores ao esquema vacinal tiveram maior frequência, 57,2% (12/21) de doadores com idade superior a 40 anos (**tabela 5**).

Tabela 5. Distribuição dos tipos de resposta à vacinação contra VHB segundo variável idade em 24 doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg e Anti-HBs em Recife, 2005.

Tipos	<i>Não Respondedor</i>	<i>%</i>	<i>Respondedor</i>	<i>%</i>
Idade				
<40	2	66,6	9	42,8
≥40	1	33,3	12	57,2
Total	3	100	21	100

Em relação ao perfil de resposta vacinal entre os respondedores, o número de casos foi composto só de 21 doadores, pois 3 doadores (2 mulheres e 1 homem) não coletaram a amostra de sangue após a primeira dose de vacina o que não permitiu categorizá-los em relação ao perfil de resposta sorológica após vacinação. Os doadores com resposta tipo primária apresentaram predomínio 47,6% (10/21) sobre a resposta tipo anamnética, 38% (8/21) (**tabela 6**).

Tabela 6. Distribuição de 21 doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg segundo perfil de resposta a vacinação contra VHB em Recife, 2005.

Perfil	<i>n</i>	%
Não resposta	3	14,4
Resposta anamnésica	8	38
Resposta Primária	10	47,6
Total	21	100

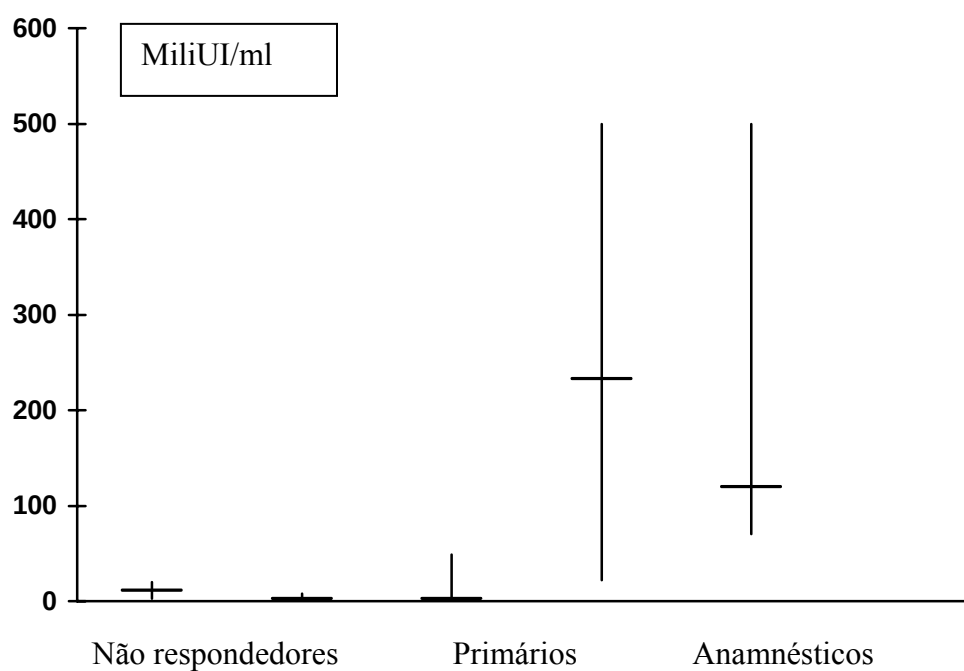
A positividade para o anti-HBc após retestagem foi total no grupo de não respondedores. O grupo de respondedores apresentou 20% (4/20) de resultado negativo na retestagem. Entre estes, todos, pertenciam ao perfil de resposta sorológica tipo primário (tabela 7).

Tabela 7. Distribuição dos tipos de respostas após vacinação contra VHB em 24 doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg e anti-HBs segundo presença do anti-HBc após retestagem em Recife, 2005.

Anti-HBc	Não Respondedores	%	Respondedores	%	Total	%
Positivo	03	100	17	76,5	20	80
Negativo	00	0	04	23,5	04	20
Total	03	100	21	100	24	100

No gráfico 1, observamos que a mediana dos títulos de anti-HBs do perfil anamnóstico após a primeira dose de vacina foi de 120miliUI/ml e a mediana dos títulos do perfil de não respondedores e de primários após primeira dose foi de 11,5miliUI/ml e 3miliUI/ml, respectivamente. O grupo de não respondedores apresentou uma diminuição da mediana de títulos de anti-HBs ao final da terceira dose para 3miliUi/ml. O perfil tipo primário apresentou aumento da mediana de títulos para 233miliUI/ml após terceira dose. O comportamento das medianas pode ser talvez melhor entendido também através dos resultados individuais de anti-HBs, encontrados no **anexo 3**.

Gráfico1. Títulos de anti-HBs mínimos, medianos e máximos após a primeira e terceira doses da vacina contra VHB em 24 doadores sanguíneos segundo os perfis de resposta em Recife, 2005



Legenda - Linhas verticais: representam variação dos títulos
Linhas horizontais: representam as medianas

5. DISCUSSÃO

A resposta à vacinação contra VHB em doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para outros marcadores de infecção pelo VHB tem sido caracterizada por três distintos perfis de resposta: primária, anamnética e ausente. Perfis estes que têm ajudado a elucidar a situação imunológica deste grupo de doadores (MCMAHON *et al*, 1992; AL-MEKHAIZEEM *et al*, 2001).

Nos doadores sanguíneos positivos para anti-HBc e negativos para HBsAg e anti-HBs do presente estudo, foi encontrado um percentual de resposta protetora ao final do esquema vacinal de 87,5%, o que ajudou a elucidar a situação imunológica destes indivíduos em relação ao VHB. Além disso, o presente estudo descreve pela primeira vez a resposta vacinal após 3 doses de vacina recombinante contra VHB em doadores sanguíneos no Brasil.

O único outro estudo brasileiro sobre este tema, realizado em São Paulo, descreveu a resposta vacinal neste grupo de doadores sanguíneos após uma única dose de vacina anti-VHB. Os autores encontraram que em 33,93% dos casos a vacinação resultou em produção de altos níveis protetores de anti-HBs, compatível com resposta anamnética. Entretanto, não identificaram os doadores não respondedores dos respondedores primários, pois isso só é possível ser avaliado ao final de um esquema vacinal completo de pelo menos três doses (ALMEIDA NETO *et al*, 2001).

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS DOADORES SANGUÍNEOS DO ESTUDO

Os doadores do estudo foram compostos em 75% por indivíduos do sexo masculino e com idade mediana de 41 anos. A distribuição por sexo parece refletir o perfil do pool de doadores do HEMOPE, que é composto em mais de 80% pelo sexo masculino, porém

a idade dos doadores no estudo foi em 54,2% acima de 40 anos, enquanto geralmente em torno de apenas 25% dos doadores do HEMOPE têm idade maior que 40 anos (ARRAES, 1997). É possível que esta proporção de doadores acima de 40 anos seja explicada por esse subgrupo ter tido maior preocupação em esclarecer sua situação imunológica em relação ao VHB do que os doadores mais jovens. E ainda como o estudo possuiu várias etapas com retornos e consultas pode ter selecionado os doadores que tinham maior disponibilidade de tempo. Os doadores em 83,2% dos casos não possuíram nenhum fator de risco geralmente relacionado à infecção ou sinal clínico sugestivo de doença crônica pelo VHB. Este achado pode ser justificado por tratar-se de doadores voluntários, o que por si só, aumenta a qualidade da doação (ALTER *et al*, 1998).

5.2 FREQUÊNCIA DE RESPOSTA PROTETORA À VACINAÇÃO EM DOADORES SANGUÍNEOS POSITIVOS PARA ANTI-HBc E NEGATIVOS PARA HBsAg E ANTI-HBs

Ainda que desconhecida a prevalência de anti-HBc isolado na população geral no Brasil é importante distinguir do ponto de vista do indivíduo e dos serviços de saúde se a sua presença é devido a falso-positividade ou a um contato anterior com o VHB. A estratégia da vacinação pode ajudar a distinguir a situação imunológica nesses indivíduos.

Nesta pesquisa, houve um percentual de 61,9% (13/21) de resposta protetora à vacina após a primeira dose e de 87,5% (21/24) ao final do esquema vacinal.

A prevalência de resposta à vacinação contra VHB em doadores anti-HBc isolado tem variado de 56% como no Senegal até quase 90% como por exemplo relatado num estudo na Austrália (FERET *et al*, 1987; MCINTYRE *et al*, 1992; SÜNBÜL *et al*, 2000).

Um recente estudo na Turquia com 48 indivíduos anti-HBc isolado descreveu resposta protetora em 50 e 89,6% dos casos após primeira e terceira dose de vacina respectivamente (URAL; FINDIK, 2001). Esse mesmo estudo optou por utilizar um grupo

controle com 50 indivíduos sabidamente anti-HBc, anti-HBs e HBsAg negativos. Porém não encontrou diferença estatisticamente significativa em relação a taxa de resposta protetora.

Em adultos saudáveis da população geral as vacinas recombinantes produzem altas taxas de soroproteção, variando de 85 a 100% após 7 meses da primeira dose (BOCK *et al*, 1996; VAN DAMME *et al*, 1992 ; VORSTERS, 2002).

Os indivíduos do sexo masculino têm sido descritos como apresentando resposta soroprotetora menor do que o feminino com taxas de soroproteção de 72-92% em homens *versus* 82-97% nas mulheres (WOOD *et al*, 1993; MARINHO *et al*, 1999). No presente estudo, 94,4% (17/18) dos homens e 66,7% (4/6) das mulheres produziram resposta vacinal ao final da terceira dose de vacina.

Em relação à idade, 57,2% (12/21) dos doadores respondedores possuíam idade superior a 40 anos. Averhoff e colaboradores (1998) encontraram uma diminuição da imunogenicidade associada a um aumento da idade dos indivíduos com taxas de 87% de soroproteção em maiores de 40 anos *versus* 92% em indivíduos com menos de 40 anos. Recente meta-análise de estudos, sobre vacinas recombinantes, contra VHB encontrou risco relativo maior de não produzir soroproteção para os indivíduos acima de 40 anos (FISMAN *et al*, 2002)

Provavelmente uma maior taxa de resposta protetora nos doadores do sexo masculino e acima de 40 anos do presente estudo foi devida às características dos doadores incluídos.

5.3 FREQUÊNCIA DOS PERFIS DE RESPOSTA À VACINAÇÃO

Quando de um antigo contato anterior do indivíduo com o VHB as concentrações de anti-HBs são geralmente mais baixas do que as do anti-HBc. A persistência do anti-HBc deva-se provavelmente a alta imunogenicidade do HBcAg (GROB *et al*, 2000).

Nesse grupo de indivíduos, uma única dose de vacina contra VHB produz altas concentrações de anti-HBs, a chamada resposta anamnética ou rápida (ZUCKERMAN; ZUCKERMAN, 2000).

No presente estudo 38% (8/21) dos casos apresentaram resposta tipo anamnética após uma única dose de vacina. Reforçando a hipótese contra infecção crônica pelo VHB nesse grupo de doadores (DRAELOS *et al*, 1987). Esse perfil de resposta entre indivíduos portadores de anti-HBc isolado é esperado em 2% a 42,5% (AOKI *et al*, 1993; SÜNBÜL, 2000).

No estudo da Turquia encontrou-se frequência de 41,6% de resposta anamnética nos indivíduos anti-HBc isolado. Segundo os autores, devido provavelmente a alta prevalência da região para o VHB (URAL; FINDIK, 2001). Lok e colaboradores (1988) em Hong Kong, região também de alta prevalência para o VHB, encontraram 16% de anamnéticos entre 32 casos e no estudo do Alasca (moderada endemicidade) com 130 indivíduos nativos houve encontro de frequência de 19,2% (SILVA *et al*, 1998). Talvez só a localização geográfica dos estudos pesquisados não seja suficiente para explicar a causa das diferentes prevalência mas também a possibilidade de erro β ou mesmo da especificidade dos testes utilizados.

Em relação ao perfil tipo primário, ou lento, o percentual encontrado foi de 49,6% (10/21). Na literatura pesquisada houve encontro de taxas desse tipo de resposta que variaram de 47,9% na Turquia até 80% no Alasca (LOK *et al*, 1988; MCMAHON *et al*, 1992; LAI *et al*, 1992; URAL; FINDIK, 2001).

O percentual de não respondedores no presente estudo ao final de três doses de vacina foi de 12,5% (3/24). Outros autores relataram taxas de 9,1 até 28% como em Hong Kong que chegou a utilizar quatro doses de vacina (LOK *et al*, 1988; LAI *et al*, 1992; URAL; FINDIK, 2001).

Os indivíduos não respondedores provavelmente são portadores com baixo nível de VHB que tem tolerância imunológica ao HBsAg e não possuem capacidade de produção de anti-HBs (ZUCKERMAN; ZUCKERMAN, 2000).

Tanto que a maior taxa de não respondedores foi encontrada em áreas endêmicas para o VHB como Hong Kong, região que apresenta em torno de 50% das infecções crônicas pelo VHB como resultado de transmissão perinatal. Esses portadores crônicos têm persistência do HBeAg por muito tempo e ficam imunotolerantes ao VHB sem capacidade de soroconversão (LOK *et al*, 1988)

Independentemente da localização geográfica dos estudos as taxas de não respondedores nos indivíduos anti-HBc isolados em todos os estudos e neste foram maiores do que a esperada em indivíduos saudáveis que é de apenas 5% (WAINWRIGHT *et al*, 1989; KATKOV, 1996).

O grupo de indivíduos não respondedores pode possuir também respondedores “lentos” ao invés de não-respondedores (CLEMENS *et al*, 1997; AVANZINI *et al*, 2001). Alguns estudos relatam que doses adicionais de vacina foram benéficas para adultos que tiveram resposta subótimas ao esquema inicial de três doses (KEATING; NOBLE, 2003).

Na literatura têm sido encontrados vários relatos de estratégias para aumentar a imunogenicidade da vacina recombinante para VHB como o aumento das doses para 40 mcg, entre outras, em indivíduos sabidamente possuidores de resposta imune deteriorada como nefropatas e alcoolistas (ROSMAN *et al*, 1997; ROSMAN; LIEBER, 1999).

A infectividade potencial de doadores nessas condições pode requerer o uso de técnicas de biologia molecular como padrão ouro se doses adicionais ou aumentadas de vacina não os soroprotegerem (EVANS; LONDON, 1999).

5.4 FREQUÊNCIA DO ANTI-HBc APÓS RETESTAGEM

A retestagem para anti-HBc foi utilizada no estudo como um teste confirmatório, ao final do esquema vacinal, visto que por limitações técnicas e de custo não foi possível usar biologia molecular para todos os casos.

Vários estudos utilizaram a retestagem para o anti-HBc antes do início da vacinação para descartar falso-positividade, encontrando taxas de discordância de até 16% (ALMEIDA-NETO, 2001). Porém o presente estudo não foi proposto para verificar a especificidade do anti-HBc como marcador .

Verificou-se quatro doadores, 16,6% (4/24) negativos para anti-HBc na retestagem na última coleta sanguínea. Todos pertenceram ao grupo dos respondedores com perfil tipo primário. O que reforça a hipótese de que doadores sanguíneos respondedores primários após vacinação provavelmente podem ser em sua maioria portadores de resultados falso-positivos de anti-HBc.

5.5 FREQUÊNCIA DO VHB POR PCR NOS NÃO RESPONDEDORES DO ESTUDO

Três doadores, da presente pesquisa, que não produziram resposta vacinal ao final das três doses e que possuíam maior probabilidade de serem portadores do VHB foram submetidos à pesquisa da presença do VHB por técnica de PCR, porém não houve nenhum caso positivo.

Métodos de biologia molecular têm demonstrado presença do VHB em indivíduos portadores de anti-HBc isolado numa frequência variando de 0 até 90% (LUO *et al*, 1990; SHIH *et al*, 1990; WANG *et al*, 1991; URAL; FINDIK, 2001).

Variações não bem compreendidas até o momento que podem ser resultado de fatores metodológicos, virológicos, imunológicos ou da localização geográfica dos estudos.

Atribuí-se maior importância à localização geográfica dos estudos visto que na literatura pesquisada as maiores frequências de positividade para DNA do VHB foram relatadas em áreas de alta endemicidade para VHB como, por exemplo, a China (LUO *et al*, 1990).

Almeida Neto e colaboradores (2001) em 39 doadores sanguíneos não respondedores após uma dose de vacina, não encontraram presença do DNA do VHB por PCR em nenhum caso. Outro estudo com doadores anti-HBc isolado também de hemocentro de São Paulo utilizando a mesma técnica de PCR do estudo anterior encontrou presença do vírus em apenas 1,34% dos 522 doadores (SUCUPIRA, 1997). Na cidade de São Paulo, Cruz (1997) encontrou presença de VHB em 23,3% dos doadores anti-HBc isolado.

Essa discrepância de resultados foi atribuída à possibilidade de resultados de PCR falso-positivos ou falso-negativos (ALMEIDA NETO *et al*, 2001). Como a sensibilidade do teste de PCR depende da técnica de extração de DNA, da sequência dos primers das reações e das condições experimentais da técnica muitas vezes poderá haver dificuldade de comparação entre os estudos (GOMES *et al*, 1996).

Na nossa região, o estudo que investigou presença de DNA do VHB por PCR em doadores sanguíneos não encontrou nenhum teste positivo nos doadores portadores de anti-HBc isolado (ARRAES *et al*, 2003).

A ausência do VHB por PCR em doadores não respondedores na presente pesquisa sugere ainda mais que doadores sanguíneos anti-HBc isolados da nossa região podem ser em sua maioria portadores de resultados falso-positivos.

5.6 ALGUMAS ALTERNATIVAS PARA DIMINUIR RESULTADOS FALSO-POSITIVOS

A dosagem do marcador anti HBc- IgM pode identificar doadores na fase aguda da infecção (“janela imunológica”). Embora os doadores do estudo não tenham sido inicialmente testados para este marcador, provavelmente o número de doadores nesta

situação, se incluídos ao acaso, não foi importante. Mesmo numa população de alta prevalência para infecção por VHB, como entre nativos do Alasca, foram encontrados apenas 2% de indivíduos na fase de “janela imunológica” entre os anti-HBc isolados (PARKINSON *et al*, 1990).

Os bancos de sangue fazem a testagem para o anti-HBc com ensaios que utilizam a técnica ELISA, mais sensível do que específica, o que inicialmente pode permitir maior número de falso-positivos.

Em relação à especificidade dos testes, utilizados pela pesquisa, alguns estudos já tiveram taxa de discordância de 26% e 37% quando retestaram os indivíduos com anti-HBc positivo por técnicas diferentes, imunoenzimática *versus* radioimunoensaio (RIA) (MACMAHON *et al*, 1992; SILVA *et al*, 1998). Mesmo assim, a utilização da técnica por RIA é pouco plausível em estudos ou hemocentros pelos problemas relacionados à manipulação de material radioativo (ALMEIDA-NETO *et al*, 2001).

Como o HEMOPE faz testagem em duplicata por ELISA para anti-HBc nas amostras de doação e retesta em nova amostra, quando do retorno do doador, antes de encaminhá-lo aos serviços de saúde provavelmente os resultados falso-positivos são menores.

A vacinação pode ajudar a esclarecer a situação imunológica da maioria dos doadores anti-HBc isolados descartados pelos hemocentros.

Porém também é necessário que estes bancos de sangue tentem encontrar alternativas para que as medidas adotadas para melhorar a segurança transfusional para os receptores não afetem a vida do indivíduo doador e que não gerem descartes de doadores desnecessariamente.

Alguns autores preocupados com este fenômeno têm sugerido algumas alternativas. Almeida Neto e colaboradores (2001) verificaram também que os doadores que

tiveram a densidade óptica do anti-HBc dos seus testes próximos ao do ponto de corte (*cut-off*) utilizado pelo banco de sangue tiveram taxas maiores, estatisticamente significativas, de falso-positivos. Outros estudos também têm encontrado este achado o que tem fomentado discussão sobre a possibilidade dos hemocentros diminuïrem seus pontos de corte ou instituïrem uma faixa mais larga em torno do ponto de corte (AOKI *et al*, 1993).

Outra possibilidade de diminuir os resultados falso-positivos entre os doadores positivos isoladamente para anti-HBc é verificar real contato prévio com o VHB entre os doadores através da pesquisa do marcador anti-HBe. Alguns autores defendem a introdução desse marcador nas triagens sorológicas como alternativa para diminuir descarte desnecessário (ARRAES *et al*, 2003).

6. CONCLUSÕES

Anualmente os serviços de saúde terão que garantir o esclarecimento da situação imunológica dos doadores com sorologia positiva para o anti-HBc e negativa para HBsAg e anti-HBs;

O uso da estratégia de vacinação, contra o VHB com o respectivo monitoramento da produção de anti-HBs, tem sido utilizada nos indivíduos com positividade isolada para o anti-HBc como alternativa de esclarecimento diagnóstico;

Mesmo com algumas limitações, como a ausência ainda de dados de base populacional sobre a endemicidade do VHB na nossa região e o pequeno tamanho amostral, este estudo ajudou a elucidar a situação imunológica em relação ao VHB na maioria dos casos.

7. RECOMENDAÇÕES

Implantar um algoritmo ou protocolo que use a estratégia de vacinação contra o VHB para ajudar no esclarecimento diagnóstico de doadores sanguíneos positivos isoladamente para anti-HBc é uma alternativa viável e pouco custosa para os serviços públicos de saúde;

Em relação à praticidade do algoritmo, uma alternativa menos laboriosa e com menor perda de doadores para os serviços de saúde ou para estudos posteriores, seria a adoção de apenas uma dose de vacina com posterior testagem de anti-HBs. Seriam então liberados do seguimento médico os que soroconvertessem com produção rápida de anticorpos (anti-HBs igual ou superior a 50 miliUI/ml) já na primeira dose;

Somente os doadores não respondedores após um esquema vacinal de pelo menos 3 doses continuariam a ter seguimento pelos serviços de saúde;

Os doadores anti-HBc negativos após retestagem e respondedores primários (lentos) poderiam ser reintegrados ao pool de doadores dos hemocentros em situações críticas de estoque de sangue.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACH, R. D. et al. Transfusion-transmitted virus: interior analysis of hepatitis among transfused and nontransfused patients. In: VYIO, G. N.; COHEN, S. N.; SCHMID, R. editors. **Viral Hepatitis**. The Franklin Institute Press; 1978:383-96.

ALMEIDA- NETO, C. et al. significance of isolated hepatitis B core antibody in blood donors from São Paulo. **Revista Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 43, p. 203-208, 2001.

AL-MEKHAIZEEM, K. A.; MIRIELLO, M.; SHERKER, A. H. The frequency and significance of isolated hepatitis B core antibody and the suggested management of patients. **Canadian Med A Journal**, v. 165, n.8, p. 1063-1064, 2001.

ALTER, H. J.; SEEF, L. B. Transfusion-associated hepatitis. In: ZUCKERMAN, A. J.; THOMAS, H. C. editors. **Viral Hepatitis**. 2nd ed. Baltimore: William and Wilkins; 1998.

ANN, S. et al. Soroprevalência para hepatite A e B em quatro centros no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 33, n. 1, p. 1-10, jan./fev., 2000.

AOKI, S. K. et al. Significance of antibody to hepatitis B core antigenblood donors as determiend by their serologic response to hepatitis B vaccine. **Transfusion**, v. 33, p. 362-367, 1993

ARRAES, L. C. et al. The biological meaning of anti-HBc positive result in blood donors: relation to HBV-DNA and to other serological markers. **Revista Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 137-140, 2003.

ARRAES, L. C. Significado biológico do resultado positivo para anti-HBc em doadores sanguíneos. Tese de Doutorado: Escola Paulista de Medicina/UNIFESP, São Paulo, 1997.

ASSAD, S.; FRANCIS, A. Over a decade of experience with a yeast recombinant hepatitis B vaccine. **Vaccine**, v. 18, p. 57-67, 2000.

AVANZINI, M. A. et al. Increment of recombinant hepatitis B surface antigen-specific T-cell precursors after revaccination of slow responder children. **Vaccine**, v. 19, n. 20-22, p. 2819-2824, 2001.

AVERHOFF, F. et al. Immunogenicity of hepatitis B vaccines: implications for persons at occupational risk of hepatitis B virus infection. **American Journal Preventive Medicine**, v. 15, n. 1, p. 1-8, 1998.

BARTLETT, J. G.; GALLANT, J. E. **Tratamento Clínico da Infecção pelo HIV**. 5. ed. Chicago: Johns Hopkins University; 2004: p.122.

BEASLEY, R. P. Hepatitis B virus: a comprehensive strategy for limiting transmission in the United States through universal childhood vaccination. Recommendations of the Immunization Pratices Advisory Committee (ACIP). **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, 40:RR-13, p.1-25, 1991.

BLUMBERG, B. S.; SUTNICK, A. L.; LONDON WT. Australia antigen and hepatitis. **J Am Med Ass**, v. 207, p. 1895-1896, 1969.

BOCK, H. L. et al. Immunogenicity of a recombinant hepatitis B vaccine in adults. **Arch Intern Med**, v. 156, n. 19, p. 2226-2231, 1996.

BONINO, F. et al. Chronic hepatitis in HBsAg with serum HBV-DNA and anti-HBe. **Gastroenterology**, v. 90, p. 1268, 1986.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Recommendations of the Immunization Practices Advisory Committee (ACIP): recommendations for protection against viral hepatitis. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, v. 39: (RR 2), p. 1-26, 1990. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00041917.htm>. Acesso em: 5 de maio 2005.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Recommendations of the Immunization Practices Advisory Committee (ACIP): hepatitis B virus: a comprehensive strategy for eliminating transmission in the U. S. through universal childhood vaccination. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, v.40: (RR 13), p.1-25, 1991. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00033405.htm>. Acesso em: 5 de maio 2005

CHAN, C. Y. et al. Hepatitis B vaccination alone is not adequate for the categorizing of adult subjects with isolated anti-HBc. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 10, n.2, p. 192-197, 1995.

CHAU, K. H. et al. Improvements in specificity of competitive anti-HBc ELISA by treating serum samples with reducing agents. In: HOLLINGER, F. B.; LEMON, S. M.; MARGOLIS, H. S. eds. *Viral hepatitis and liver diseases*. Baltimore: Williams and Wilkins; 1991: 297-301.

CHISARI, F. V.; FERRARI, C. Viral Hepatitis. In: NATHANSON, N. et al; eds. **Viral Pathogenesis**, Philadelphia, Lippincott- Raven, 1997: 745-778.

CHU, C. J. et al. Prevalence of HBV precore/core promoter variants in the United States. **Hepatology**, v. 38, p. 619- 628, 2003.

CLEMENS, R. et al. Booster immunization of low- and non-responders after a standard three dose hepatitis B vaccine schedule: results of a post-marketing surveillance. **Vaccine**, v. 15, n. 4, p. 349-352, 1997.

CRUZ, C. F. N. Estudo de doadores de sangue com a presença de anticorpos anti-HBc sérico como marcador isolado de infecção pelo vírus da hepatite B. Tese de Doutorado: Escola Paulista de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

CUSTER, B. et al. Global epidemiology of hepatitis B virus. **J Clin Gastroenterology**, v. 38, n. 3, p. S158-S168, 2004.

DEINHARDT, F. Gust D-Viral hepatitis. **Bull World Health Organ**, v. 60, p. 661-691, 1982.

DIENSTAG, J. L.; ISSELBACHER, K. J. Chronic Hepatitis. In: KASPER, D.L.; FAUCI, A. S.; LONGO, D. L.; BRAUNWALD, E.; HAUSER, S. L.; JAMESON, J. L. editors.

Harrison's: Principles of Internal Medicine. 16 ed., New York: McGraw- Hill Medical Publishing Division, 2005: p.1844-1855.

DODD, R. Y.; POPOVSKY, M. A. Antibodies to hepatitis B core antigen and the infectivity of the blood supply. Scientific section coordinating committee. **Transfusion**, v. 31, p. 443-449, 1991.

DONAHUE, J.G. et al. Transmission of HIV by transfusion of screened blood. **New England Journal of Medicine**, v. 323, n. 24, p. 1709, 1990.

DOUGLAS, D. D. et al. Absence of hepatitis B virus DNA detected by polymerase chain reaction in blood donors who are hepatitis B surface antigen negative and antibody to hepatitis B core antigen positive from a United States population with a low prevalence of hepatitis B serologic markers. **Transfusion**, v. 33, p. 212-216, 1993.

DRAELOS, M. et al. Significance of isolated antibody to hepatitis B core antigen determined by immune response to hepatitis B vaccination. **JAMA**, v. 258, p. 1193-1195, 1987.

EBRAHIM, G. J.; SULLIVAN, K. R. Desenhos de Estudo. In: EBRAHIM, G. J.; SULLIVAN, K. R. **Métodos de Pesquisa em Saúde Materno Infantil**. Recife: Bagaço, 1996. p. 68-88.

EVANS, A. A.; LONDON, W. T. Epidemiology of hepatitis B. In: ZUCKERMAN, A.J.; THOMAS, H.C., editors. **Viral Hepatitis**. 2nd ed. Baltimore: William and Wilkins, 1999. p. 107-114.

FISMAN, D. N.; AGRAWAL, D.; LEDER, K. The effect of age on immunologic response to recombinant hepatitis B vaccine: a meta-analysis. **Clinical Infectious Disease**, v.35, n.11, p.1368-1375, 2002.

FORTUIN, M. et al. Efficacy of hepatitis B vaccine in the Gambian Expanded Programme of Immunization. **Lancet**, v. 341, p. 1129-1131, 1993.

FUNASA. Fundação Nacional de Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica. 5. ed. Disponível em: <http://www.funasa.gov.br/pub/GVE0514B.htm>. Acesso em: 7 set. 2005.

GANEM, D.; SCHNEIDER, R. J. Hepadnaviridae and their replication. In: Knipe, D.M.; Howley, P. M; Chanock, R. M; Monath, T. P; Roizman, B.; Straus, S. E., eds. **Fields Virology**. 4th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 2001. p. 2703-2737.

GITLIN, N. Hepatitis B: diagnosis, prevention and treatment. **Clinical Chemistry**, V. 43, p. 1500-1506, 1997.

GLAXOSMITHKLINE. Engerix-B® prescribing information [on line]. Disponível em: <http://www.gsk.com>. Acesso em: 10 jul. 2005.

GOMES, S. A; YOSHIDA, C. F.; NIEL, C. Detection of hepatitis B virus DNA in hepatitis B surface antigen-negative serum by polimerase chain reaction: evaluation of diferent primers pairs and conditions. *Acta virology*, v, 40, p.133-138, 1996.

GOMES, S. A. Genoma Viral. In: FOCACCIA, R. **Tratado de Hepatites Virais**. São Paulo: Atheneu, 2003. p. 119-125.

GOYAL, S. et al. Hepatitis B vaccination in acute lymphoblastic leukemia. **Leuk Res**, v. 22, n.2, p. 193-195, 1998.

GROB, P. et al. Serological pattern "anti-HBc alone": Report on a workshop. **Journal Medical Virology**, v. 62, p. 450-455, 2000.

HADLER, S. C. et al. Epidemiological analysis of the significance of low positive test results for antibody to hepatitis B surface and core antigens. **Journal Clinical Microbiology**, v. 19, p. 521-525, 1984.

HADLER, S. C. et al. La hepatitis en las Americas: informe del grupo colaborador de la OPAS. **Boletim Oficina Sanitaria Panamericana**, p. 103, 1987.

HOLLINGER, F. B.; LIANG, T. J. Hepatitis B Virus. In: KNIPE, D. M. et al; eds. **Fields Virology**. 4th ed, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 2971-3036.

HORLANDER, J. C. et al. Vaccination against hepatitis B in patients with chronic liver disease awaiting liver transplantation. **Am J Med Sci**, v. 318, p. 304-307, 1999.

HU, M. et al. Epidemiology of hepatitis A and B in Shanghai area: prevalence of serum markers. **American Journal of Epidemiology**, v. 120, p. 404-413, 1984.

JACK, A. D. et al. What level of hepatitis B antibody is protective? **Journal Infect Dis**, v. 179, p. 489-492, 1999.

JOLLER-JEMELKA, H.I.; WICKI, N.A.; GROB P.J. Detection of HBs antigen in "anti-HBc alone" positive sera. **Journal of Hepatology** v. 21, p. 269-272. 1994

JOHNSON, D. W.; FLEMING, S. J. The use of vaccines in renal failure. **Clinical Pharmacokinetics** v. 22, p.: 434-446. 1992

KANE, M. A. Global programme for control of hepatitis B infection. **Vaccine**, v. 13, n. 1, p. S47-S49, 1995.

KANN, M.; GERLICH, W. Hepdnaviridae. Structure and molecular virology. In: Zuckerman AJ, Thomas HC, eds. **Viral Hepatitis**. 2nd Edition, London, Churchill: Livingstone, 1999. p. 77-105.

KATKOV, W. N. Hepatitis vaccines. **Medicine Clinical of North America**, v. 80, p. 1189-1200, 1996.

KEATING, G. M.; NOBLE, S. Recombinant hepatitis B vaccine (Engerix- B®). A review of its immunogenicity and protective efficacy against hepatitis B. **Drugs**, New Zealand, v. 63, n. 10, p. 1021-1051, 2003.

KLEIMAN, S. et al. The incidence window period model and its use to assess the risk of transfusion-transmitted HIV and hepatitis C virus infection. **Transfus Med Rev**, v. 11, n. 3, p. 155-157, 1997.

KORELITZ, J. J. et al. For the National Heart, Lung, and Blood Institute Retrovirus Epidemiology Donor Study. A method for estimating hepatitis B virus incidence rates in volunteer blood donors. **Transfusion**, v. 37, p. 634-640, 1997.

LAI, C. L. et al. Significance of isolated anti-HBc seropositivity by ELISA: implications and the role of radioimmunoassay. *J Medical of Virology*, v. 36, n. 3, p. 180-183, 1992.

LEE, W. Hepatitis B vírus infection. **New England Journal of Medicine**, v. 337, p. 1733-1745, 1997.

LOCARNINI, S.; BIRCH C. Antiviral chemotherapy for chronic hepatitis B infection: lessons lerned from treating HIV-infected patients. **Journal of Hepatology**, v. 30, p. 536-550, 1999.

LOK, A. S. F.; MCMAHON, B. J. Chronic hepatitis B. **Hepatology**, v. 31, p. 1225-1241, 2001.

LOK, A. S. F.; LAI, C. L.; WU, P. C. Prevalence of isolated antibody to hepatitis B core antigen in area endemic for hepatitis B virus infection: implications in hepatitis B vaccination programs. **Hepatology**, v. 8, n. 4, p. 766-870, Jul./Ago., 1998.

LOK, A. S. F.; LAI, C. L. A longitudinal follow-up of asymptomatic hepatitis B surface antigen-positive Chinese children. **Hepatology**, v. 8, p. 1130-1133, 1988.

LUO, K. X. et al. Hepatitis B virus DNA in sera of virus carriers positive exclusively for antibodies to the hepatitis B core antigen. **Journal Medical of Virology**, v. 35, p. 55-59, 1991.

MAHONEY, F. J.; KANE, M. Hepatitis B vaccine. In: Plotkin SA and Orenstein WA, eds. **Vaccines**. 3th ed. Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1999. p. 158-182.

MAYNARD, J. E. Hepatitis B global importance and need for control. **Vaccine**, v. 8, p. 518-520, 1990.

MARINHO, R. T. et al. Hepatitis B vaccination in hospital personnel and medical students. **Journal Clinical of Gastroenterology**, v. 28, n. 4, p.317-322, 1999.

McINTYRE, A. et al. Isolated hepatitis B core antibody – can response to hepatitis B vaccine help elucidate the cause? **Aust New Zealand Journal of Medicine**, v. 22, p. 19-22, 1992.

McMAHON, B. J. Hepatocellular carcinoma and viral hepatitis. In: Wilson, R.A.; ed. **Viral Hepatitis**. New York: Marcel Dekker, 1997. p. 315-330.

McMAHON, B. J. et al. Response of persons positive only for antibody to hepatitis B core antigen (anti-HBc) to hepatitis vaccine. **Gastroenterology**, v. 103, n. 2, p. 590-594, Aug., 1992.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Hepatites Virais: o Brasil está atento**. Brasília, Editora MS, 2002: 24p. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/sps/areastecnicas/hepatite>. Acesso em: 7 de set. 2005.

MOSLEY, J. W. Donor screening for antibody to hepatitis B virus infection in trnasfusion recipients. *Transfusion*, v. 35, p. 5-12, 1995.

NANDI, J.; BANERJEE, K. Detection of hepatitis B virus DNA in donor blood by the polymerase chain reaction. **Natl Med Journal of India**, v. 5, n. 1, p. 5-7, Jan., 1992.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Prevention and control of hepatitis B in the community. **Communicable Disease Series WHO**, v. 1, p. 17-26, 1996.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Introduction of hepatitis B vaccine into childhood immunization services. Geneva, **WHO**, 2001 (unpublished document WHO/V&B/01. 31). Disponível em: <http://www.who.int/vaccines-documents/Doxgen/H3Doxlist.htm>. Acesso em: 10 de maio de 2005.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Global status of countries using hepatitis B vaccine in their national infant immunization system as of october 2002. Disponível em: <http://www.who.int/vaccines-surveillance/graphics>. Acesso em: 5 de julho de 2005.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Statistics by country or region. **WHO Statistical Information System**, 2005. Disponível em: <http://www.who.int/whosis>. Acesso em: 1 de agosto de 2005.

PARKINSON, A. J.; et al. Comparasion of enzyme immunoassaywith radioimmunoassay for the detection of antibody to hepatitis B core antigen as the only marker of hepatitis B infection in a population with high prevalence of hepatitis B. **J Med Virol**, v. 30, p. 253-257, 1990.

ROOME, A. J. et al. Hepatitis B vaccine responsiviness in Connecticut public safety personnel. **JAMA**, v. 270, p. 2931-2934, 1993.

ROBINSON, W. S. Hepatitis B virus and hepatitis D virus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. **Principles and Praticce of Infectious Diseases**. 4th ed. New York, Churchill Livingstone, 1995. p. 1406-1439.

ROSINI, N. et al. Seroprevalence of HBsAg, anti-HBc and anti-HCV in southern Brazil, 1999-2001. **The Braz. Journal of Infect Diseases**, v. 7, n. 4, p. 262- 267. 2003.

ROSMAN, A. S.; LIEBER, C. S. Improving response to hepatitis B vaccine. **Infect Med**, v. 16, n. 3, p. 205-210, 1999.

ROSMAN, A. S. et al. Efficacy of a high and accelerated dose of hepatitis B vaccine in alcoholic patients: a randomized clinical trial. **American Journal of Medicine**, v. 103, p. 217-222, 1997.

RUMI, M. et al. Suboptimal response to hepatitis B vaccine in drug users. **Arch Intern Med**, v.151, p. 574-578, 1991.

SEEGER, C.; MASON, W. S. Hepatitis B virus biology. **Microbiology and Molecular Biology Rev**, v.64, p. 51-68, 2000.

SHERLOCK, S.; DOOLEY, J. **Diseases of the Liver and Biliary System**. 10th ed. Oxford: Blackwell Science, 1997. Virus hepatitis, p. 276-9.

SHIH, L. N. et al. Serum hepatitis B virus DNA in healthy HbsAg-negative chinese adults evaluated by polymerase chain reaction. **Journal Medical Virology**, v.32, p. 257-260, 1990.

SILVA, A. E. et al. Hepatitis B vírus DNA in persons with isolated antibody to Hepatitis B core antigen who subsequently received hepatitis B vaccine. **Clin Infectious Disease**, v. 26, p. 895-897, 1998.

SMART, H. L.; VAN HEGAN, R. J.; TRIGER, D. R. Impaired response to recombinant DNA hepatitis B vaccine in alcoholic patients with liver disease. **European Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 3, n. 4, p.299-303,1991.

STEVENS, C. E. et al. Hepatitis B virus antibody in blood donors and the occurrence of non-A, non-B hepatitis in transfusion recipients. An analysis of the transfusion-transmitted viruses study. **Ann Intern Med**, v. 101, n. 6, p. 733-738, 1984.

SUCUPIRA, M. C. A. Prevalência do DNA do VHB em amostras de doadores de sangue com HBsAg negativo e anti-HBc positivo. Tese de Mestrado: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, 1997.

SZMUNESS, W. et al. Hepatitis B vaccine: Demonstration of efficacy in a controlled clinical trial in a high risk population in the United States. **New England Journal of Medicine**, v. 303, p. 833-841, 1980.

TANAKA, J. Hepatitis B epidemiology in Latin America. **Vaccine**, v. 18, n. 1, p. 517-519, 2000.

TAVARES-NETO, J. et al. Seroprevalence of hepatitis B and C in the Western Brazilian Amazon Region (Acre): a pilot study carried out during a hepatitis B vaccination program. **The Brazilian Journal of Infectious Disease**, v. 8, n. 2, p. 133-139, 2004.

THIERS, V. et al. Transmission of hepatitis-B from hepatitis-B-seronegative subjects. **Lancet**, v. 2, n. 8623, p. 1273-1276, Dec., 1988.

URAL, O.; FINDIK, D. The response of isolated anti-Hbc positive subjects to recombinant hepatitis B vaccine. **Journal of Infection**, v. 43, p. 187-190, 2001.

VAN DAMME P. et al. Het stability of a recombinant DNA hepatitis B vaccine. **Vaccine**, v. 10, n.6, p. 366-367, 1992.

VERONESI, R. Hepatites Virais. In: VERONESI, R.; FOCCACIA, R.. eds. **Tratado de Infectologia**. São Paulo: Atheneu, 1999. p. 286- 384.

ZUCKERMAN, A. J. Hepatitis Viruses. In: Baron, S., eds. **Medical Microbiology**. 4th ed. The University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996. p. 849-863.

ZUCKERMAN, J. N. Nonresponse to hepatitis B vaccines and kinetics of anti-HBs production. **J Med Virol**, v. 50, p. 283-288, 1996.

ZUCKERMAN, J. N.; ZUCKERMAN, A. J. Current topics in hepatitis B. **J Infect**, v. 41, p. 130-136, 2000.

WAINWRIGHT, R. B. et al. Duration of immunogenicity and efficacy of hepatitis B vaccine in a Yupik Eskimo population. **JAMA**, v. 261, p. 2362-2366, 1989.

WANG, J. T. et al. Detection of hepatitis B virus DNA by polimerase chain reaction in plasma of volunteer blood donors negative for hepatitis B surface antigen. **J. Infect. Diseases**, v. 163, p. 397-399, 1991.

WILLIAMS, I. T. et al. Long term antibody response to hepatitis B vaccination beginning at birth and to subsequent booster vaccination. **Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 22, n. 2, p. 157-163, 2003.

WOOD, R. C. et al. Risk factors for lack of detectable antibody following hepatitis B vaccination of Minnesota health care workers. **JAMA**, v. 270, n. 24, p. 2935-2939, 1993.

9 ANEXOS

ANEXO I – QUESTIONÁRIO**FICHA CLINICA****HUOC/IMIP****Anamnese Protocolo n:****Nome:** _____ **Registro:** _____**Idade:** _____ **Sexo** _____**Antecedentes:****Hepatite:** () sim () não**Icterícia:** () sim () não**Colúria:** () sim () não**Acolia fecal:** () sim () não**Uso atual ou nos últimos 6 meses de quimioterápico / imunossupressores:**

() sim () não

Uso atual ou nos últimos 6 meses de álcool:

() sim () não

Quantidade: _____ **Frequência:** _____**Tipo de bebida:** _____**Uso regular de alguma medicação:** () sim () não**Qual (is):** _____**Piercing/Tatuagem** () sim () não

Hemotransfusão antes 1993 () sim () não**Tratamento odonto-cirúrgico:** () sim () não**Uso de drogas injetáveis:** () sim () não**Exames Realizados:****HBsAg:****Anti-HBc total:****Anti-HBs:**

HIV:

VDRL:

CHAGAS:

HTLV I/II:

Exame Físico:

Altura (m): _____ **Peso (Kg):** _____

Icterícia: () sim () não

Hepatomegalia: () sim () não

Ascite: () sim () não

Aranhas vasculares: () sim () não

Outras alterações: _____

ANEXO II – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**Resolução nº 196/96-IV do Conselho Nacional de Saúde**

Eu _____, tendo sido convidado(a) para participar como voluntário(a) do estudo sobre resposta vacinal em doadores sanguíneos portadores de anti-HBc isolado vacinados para VHB, recebi da Dr^a Paula M. R. Magalhães, responsável por sua execução, as seguintes informações que me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes aspectos:

Que o estudo se destina a uma pesquisa sobre produção de anticorpos após vacinação para VHB em um esquema de três doses em doadores sanguíneos saudáveis;

Que a importância desse estudo é a de talvez poder elucidar a situação imunológica de indivíduos doadores sanguíneos portadores de anti-HBc isolado, através da vacinação para VHB e seu perfil de resposta de produção de anticorpos;

Que esse estudo começará em 2004 e terminará em 2005;

Que esse estudo será feito da seguinte maneira: será retirado 5 ml (= 1/2 colher de sopa) para dosagem de marcadores virais para VHB no dia da segunda dose da vacinação e 5ml em uma consulta agendada após 30 dias da terceira dose, perfazendo um total de 10 ml de sangue inicialmente. Poderão ser feitas novas doses de vacina com outras possíveis coletas de sangue se o pesquisador achar necessário.

Que eu participarei das coletas e da vacinação por entender que até o momento não existem outros meios para se obterem os resultados da pesquisa;

Que contarei com a assistência de Dr^a Paula M. R. Magalhães e Dr^o Luis Cláudio Arraes, sendo os responsáveis pela pesquisa. FONE: 91472329/32411253;

Que sempre que eu desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada etapa do estudo;

Que poderei a qualquer momento, recusar a continuar participando do estudo, sem que isso me traga prejuízo;

Que poderei ao final do estudo solicitar outros meios diagnósticos disponíveis para elucidação da minha situação imunológica em relação ao VHB;

Que as informações conseguidas através da minha participação não permitirão identificação da minha pessoa;

Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado e estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos benefícios da minha participação,

concordo em participar no mencionado estudo e para isso DOU MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

Endereço do(s) responsáveis pela pesquisa:

Hospital Universitário Oswaldo Cruz

Rua Arnóbio Marques, 310 – Santo Amaro.

Fone: 3413-1300

ATENÇÃO: Para informar ocorrências irregulares ou danosas dirija-se ao Comitê de Ética em Pesquisa do HUOC.

Assinatura do voluntário(a)

Assinatura do responsável pelo estudo

ANEXO 3

DOADORES	Anti-HBs após 1ªdose	Anti-HBs após 3ªdose
nº 1	3	500
nº 2	500*	
nº 3	70*	
nº 4	3	500
nº 5	3	22
nº 6	3	163
nº 7	500*	
nº 8	não coletou	147
nº 9	não coletou	8
nº 10	79*	
nº 11	500*	
nº 12	20	142
nº 13	49	500
nº 14	3	329
nº 15	5	233
nº 16	não coletou	500
nº 17	10	176
nº 18	79*	
nº 19	76*	
nº 20	3	3
nº 21	161*	
nº 22	3	500
nº 23	20	3
nº 24	12	112

*Os doadores com resposta anamnésica não fizeram terceira dose de vacina e conseqüentemente também não foi necessária segunda coleta sanguínea.