

JOSIANE SILVEIRA FELIX PEREIRA

***AVALIAÇÃO SOROLÓGICA E MOLECULAR DE
INDIVÍDUOS ISOLADAMENTE REAGENTES PARA
ANTICORPOS ANTI-HBc COM E SEM INFECÇÃO OCULTA
PELO VÍRUS B APÓS VACINAÇÃO CONTRA A HEPATITE B***

CAMPINAS

2004

i

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

JOSIANE SILVEIRA FELIX PEREIRA

***AVALIAÇÃO SOROLÓGICA E MOLECULAR DE
INDIVÍDUOS ISOLADAMENTE REAGENTES PARA
ANTICORPOS ANTI-HBc COM E SEM INFECÇÃO OCULTA
PELO VÍRUS B APÓS VACINAÇÃO CONTRA A HEPATITE B***

*Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas para obtenção
do título de Doutor em Clínica Médica, área de
Ciências Básicas.*

ORIENTADOR: PROF DR FERNANDO LOPES GONÇALES JUNIOR

CO-ORIENTADORA: PROFA DRA NEIVA SELLAN LOPES GONÇALES

CAMPINAS

2004

UNIDADE Bc
 Nº CHAMADA T/UNICAMP
P414a
 V _____ EX _____
 TOMBO BC/ 64804
 PROC 06.000086-03
 C _____
 PREÇO 11,00
 DATA 20/07/05
 Nº CPD _____
Bibid 358836

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP

P414a

Pereira, Josiane Silveira Felix

Avaliação sorológica e molecular de indivíduos isoladamente reagentes para anticorpos anti-HBc, com e sem infecção oculta pelo vírus B após vacinação contra a hepatite B / Josiane Silveira Felix Pereira. Campinas, SP: [s.n.], 2004.

Orientador : Fernando Lopes Gonçalves Júnior

Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

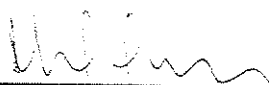
1. Hepatite por vírus. 2. Vacina^s. 3. Imunização. 4. Reação em cadeia de polimerase. I. Fernando Lopes Gonçalves Júnior. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Banca Examinadora da Defesa de Tese de Doutorado

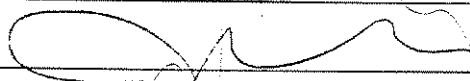
Orientador(a): Prof. Dr. Fernando Lopes Gonçalves Junior

Membros:

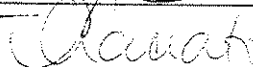
1. Prof(a). Dr(a). Fernando Lopes Gonçalves Junior



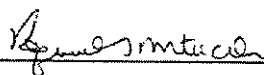
2. Prof(a). Dr(a). Jussara Marcondes Machado



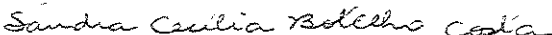
3. Prof(a). Dr(a). Celso Francisco Hernandes Granato



4. Prof(a). Dr(a). Raquel Silveira Bello Stucchi



5. Prof(a). Dr(a). Sandra Cecília Botelho Costa



**Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica, área de concentração Ciências Básicas,
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.**

Data: 30/07/2004

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Jura e Cida.

Ao meu marido José Maria.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Fernando Lopes Gonçalves Júnior, pesquisador sério, competente, dedicado e orientador acessível, atencioso, determinado, que tornou possível a realização deste trabalho.

À Profa. Dra. Neiva Sellan Lopes Gonçalves, pela disponibilidade, competência, apoio técnico e opiniões sempre valiosas que ajudaram a direcionar este trabalho.

À enfermeira Maria Silvia Kroll Lazarini, pelo apoio, incentivo e valiosa ajuda com os pacientes do Ambulatório das Hepatites Virais.

À bióloga Viviane Cristina Fais, pela valiosa ajuda nos testes laboratoriais.

À médica Maria Helena Postal Pavan, pelo apoio, interesse e ajuda com os pacientes do Ambulatório das Hepatites Virais.

À secretária Gláucia Maria Quaresma, pelo apoio e ajuda com os documentos necessários.

À médica Raquel Silveira Bello Stucchi pela ajuda com os pacientes do Ambulatório das Hepatites Virais do H.C. da UNICAMP.

À bioquímica Cláudia da Silva, por compartilhar a casuística utilizada neste trabalho.

À assistente social Márcia Regina Alves Kamimura, pela ajuda dada ao envio das cartas aos doadores de sangue.

À bioquímica Diana Motoyama de Almeida, pela ajuda, apoio, amizade e carinho ao longo deste trabalho.

Aos funcionários do núcleo de Vigilância Sanitária pela ajuda com a vacinação dos pacientes, em especial à Profa. Dra. Priscila Maria Oliveira Papaïoudanaour.

Aos funcionários do Laboratório Central do H.C. da UNICAMP.

À Capes pela ajuda financeira.

Ao Departamento de Clínica Médica.

*Para ser grande, sê inteiro: nada
Teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
No mínimo que fazes
Assim em cada lago a lua toda
Brilha, porque alta vive.*

Fernando Pessoa

	<i>Pág.</i>
RESUMO.....	<i>xxvii</i>
ABSTRACT.....	<i>xxxv</i>
1 - INTRODUÇÃO.....	43
1.1 - Breve histórico.....	45
1.2 - O vírus da Hepatite B, seus antígenos e anticorpos.....	45
1.3 - Diagnóstico sorológico da infecção pelo VHB.....	49
1.4 - Diagnóstico molecular de infecção pelo VHB.....	51
1.5 - A infecção oculta pelo VHB.....	52
1.6 - Vacina contra a hepatite por vírus B.....	53
1.7 - A abordagem dos indivíduos Anti-HBcAg reagentes.....	57
1.8 - Vacinação de indivíduos anti-HBcAg reagentes.....	58
1.9 - Vacina contra a hepatite por vírus B em indivíduos com hepatite C crônica.....	59
2 - OBJETIVOS.....	61
3 - CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	65
3.1 - Casuística.....	67
3.2 - Métodos.....	70

3.2.1 - Testes sorológicos.....	70
3.2.2 - Testes bioquímicos.....	72
3.2.3 - Análise molecular.....	73
3.2.4 - Vacina contra o vírus da hepatite B.....	76
4 - ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	77
5 - RESULTADOS.....	81
5.1 - Primeira Fase.....	83
5.2 - Segunda Fase.....	86
5.3 - Terceira Fase.....	88
6 - DISCUSSÃO.....	97
7 - CONCLUSÃO.....	113
8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	117
9 - APÊNDICES.....	133

LISTA DE ABREVIATURAS

ALP	Fosfatase alcalina
ALT	Alanina aminotransferase
Anti-HBc IgM	Fração IgM do Anticorpo contra o antígeno do “core” do VHB
Anti-HBc	Anticorpo contra o antígeno do “core” do vírus da hepatite B
Anti-HBe	Anticorpo contra o antígeno “e” do vírus da hepatite B
Anti-HBs	Anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B
Anti-HCV	Anticorpos contra o vírus da hepatite C
Anti-HIV	Anticorpos contra o vírus da imunodeficiência humana
AST	Aspartato aminotransferase
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNA – VHB	DNA do vírus da hepatite B
EIA	Ensaio imunoenzimático
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Ensaio Imunoenzimático)
GGT	Gama glutamil transferase
HBcAg	Antígeno do “core” do vírus da hepatite B
HBeAg	Antígeno “e” do vírus da hepatite B
HBsAg	Antígeno de Superfície do Vírus da Hepatite B

HC	Hospital das Clínicas
HVC	Hepatite por vírus C
HPT	Hepatites pós-transfusionais
HVB	Hepatite por vírus B
PCR	Reação em cadeia da polimerase
qALP	Quociente de Fosfatase alcalina
qALT	Quociente de alanina aminotransferase
qAST	Quociente de aspartato aminotransferase
qGGT	Quociente de Gama glutamil transferase
RIE	Radioimunoensaio
RNA	Ácido ribonucleídeo
RNA-VHC	RNA do vírus da hepatite C
SRU	Sample ratio unit
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
VHB	Vírus da hepatite B
VHC	Vírus da hepatite C

LISTA DE TABELAS

Pág.

Tabela 1 - Resultados da pesquisa do DNA-VHB entre doadores de sangue HBsAg negativo/anti-HBc reagente.....	87
---	----

	<i>Pág.</i>
Figura 1 - Constituição do genoma do VHB com suas estruturas gênicas.....	53
Figura 2 - Fotografia da PCR do DNA do VHB em gel de agarose 1,8% com brometo de etídio, visualizado por luz U.V.....	75
Figura 3 - Soroconversão para o anti-HBs após estimulação vacinal dos doadores anti-HBc reagentes (Grupo C), de acordo com a presença ou ausência do DNA-VHB.....	87
Figura 4 - Soroconversão para o anti-HBs em pacientes com HCV (Grupo D) após estimulação vacinal de acordo com a presença ou ausência do DNA-VHB no soro.....	88
Figura 5 - Negativação do DNA-VHB entre pacientes anti-HBc isoladamente reagentes, co-infectados com o VHC (grupo D), após estimulação vacinal.....	89
Figura 6 - Comparação da soroconversão para o anti-HBs em pacientes com HCV de acordo com a presença ou ausência do anti-HBc.....	90
Figura 7 - Comparação da soroconversão para o Anti-HBs em pacientes anti-HBc reagentes de acordo com a presença ou ausência de infecção pelo VHC.....	91
Figura 8 - Soroconversão e negativação do DNA-VHB em doadores de sangue (Grupo C) e pacientes com HCV/anti-HBc reagentes (Grupo D) após estimulação vacinal.....	93
Figura 9 - Soroconversão para o anti-HBs nos diferentes grupos estudados de acordo com a presença ou ausência do DNA do VHB, e do anti-HBc, co-infectados ou não pelo VHC.....	94

LISTA DE QUADROS

	<i>Pág.</i>
Quadro 1 - Características dos diferentes grupos estudados.....	69
Quadro 2 - Características dos doadores de sangue anti-HBc reagente encaminhados para avaliação (n=587).....	84
Quadro 3 - Presença de fatores de risco para HVB entre os doadores de sangue anti-HBc reagente.....	85
Quadro 4 - Perfil bioquímico dos doadores de sangue anti-HBc reagente.....	86
Quadro 5 - Tipo de resposta vacinal de acordo com a quantificação do anti-HBs após 1 dose da vacina.....	95
Quadro 6 - Resposta vacinal de acordo com a quantificação do anti-HBs após 3 doses da vacina (soroconversão acumulada).....	95

RESUMO

A elevada porcentagem de positividade para o anti-HBc pode resultar em excessiva perda de doadores em uma determinada região geográfica, podendo afetar o suprimento de sangue. Como a realização do anti-HBc foi introduzida nos bancos de sangue como marcador indireto da hepatite C, que hoje possui um teste específico, passou-se a questionar a necessidade dessa obrigatoriedade. Alguns estudos mostram a correlação entre a presença de anti-HBc no doador e infecção pelo VHB no receptor. Recentemente, com o desenvolvimento de técnicas de biologia molecular, tornou-se possível a determinação do DNA do VHB, que de certa maneira auxilia a investigação dos pacientes anti-HBc isoladamente reagentes.

Como os pacientes anti-HBc reagentes podem apresentar infecção oculta pelo VHB, procuramos avaliar a ocorrência da mesma nos nossos doadores e por existir um potencial de transmissão do VHB procuramos avaliar se a vacinação seria capaz de levar os pacientes com DNA-VHB positivo a eliminar esse VHB residual, pois podem soroconverter quando recebem a vacina contra a hepatite B. Essa conduta poderia ser usada para diminuir a transmissão do VHB em áreas altamente endêmicas.

Sabe-se também que a infecção oculta pelo VHB ocorre em altas freqüências entre pacientes com HVC crônica. Por isso avaliamos também uma amostra com esses pacientes. Ao final, comparamos os resultados das prevalências de infecção oculta pelo VHB, de soroconversão para o anti-HBs e de negativação do DNA-VHB, em grupos com diferentes graus de risco para aquisição da HVB.

Neste trabalho foram avaliados 587 doadores de sangue provenientes do Hemocentro Campinas bloqueados na triagem de sangue do serviço de hemoterapia por apresentarem positividade para o anti-HBc quando da primeira doação de sangue. Todos eram negativos para o anti-HCV e anti-HIV. Foram identificados, responderam a um questionário específico e tiveram amostras de sangue coletadas para a realização de testes bioquímicos, uma nova pesquisa dos marcadores da hepatite B e uma pesquisa do DNA do VHB pela PCR.

Convocamos os pacientes com o resultado anti-HBc reagente/anti-HBs não reagente a retornarem ao Ambulatório para serem vacinados

Ao final, obtivemos três grupamentos: um de doadores de sangue anti-HBc não reagente, provavelmente falso-positivos (grupo A); um constituído por doadores de sangue anti-HBc reagentes/anti-HBs reagentes (grupo B); e outro por doadores de sangue anti-HBc reagente/anti-HBs não reagente (grupo C). Nestes foi realizada a pesquisa do DNA do VHB utilizando o soro da primeira coleta pela técnica da PCR “in house”. As amostras positivas foram submetidas a nova pesquisa quantitativa do DNA-VHB com o teste Amplicor HBV Monitor (Roche Diagnostic Systems, Branchburg, NJ). Em 50 pacientes do grupo B, também foi realizada a pesquisa do DNA do VHB pela PCR “in house”.

Quando do retorno dos pacientes do grupo C, fazíamos a primeira dose (D1) da vacina Engerix B®. Na época da segunda dose (D2) da vacina, cerca de 30 dias após D1, e da terceira dose (D3), cerca de 5 meses após D2 coletávamos nova amostra de sangue para a realização de novas pesquisas do anti-HBs e do DNA-VHB.

Foi selecionado também um grupo HBsAg negativo, anti-HBc reagente/anti-HBs não reagente/HCV reagente, constituído por 50 pacientes. 22 deles (10 DNA-VHB + e 12 DNA-VHB -) receberam as três doses da vacina e pesquisou-se a soroconversão e a negatificação do DNA-VHB (grupo D). Para efeito de comparação com o grupo D, selecionamos um grupo de 26 pacientes HBsAg negativo/anti-HBc não reagentes/HCV reagentes (grupo E).

Após cada dose de vacina foi quantificado o anti-HBs. Foram classificados como respondedores do tipo primário os que, após D1, apresentaram dosagens de anti-HBs entre 10 a 100 mUI/mL. Os que após D1 apresentaram dosagens de anti-HBs ≥ 100 mUI/mL foram classificados como respondedores do tipo anamnóstico (“booster”).

Definimos a resposta vacinal de acordo com a quantificação do anti-HBs após 3 doses de vacina e classificamos os pacientes em: não respondedores – soro não reagentes (S.N.R.) (anti-HBs < 10 mUI/mL); pacientes com soroconversão (anti-HBs 10 – 99 mUI/mL); e pacientes com soroproteção (anti-HBs ≥ 100 mUI/mL).

Não houve diferença significativa entre os grupos A, B e C com relação ao sexo ($p>0,05$). Houve diferença significativa quanto à raça ($p<0,05$), com predomínio da branca no grupo

A. Houve taxas significativamente maiores de pardos e negros nos grupos B e C quando comparada ao grupo A, que apresentou menor idade com relação aos outros grupos ($p < 0,05$).

Em relação aos fatores de risco para a aquisição do VHB, foi pesquisado nos grupos A, B e C os riscos de aquisição do VHB por via sangue, via sexual, sangue/sexual ou contato domiciliar não sexual.

No grupo C, realizou-se em 100 doadores a pesquisa do DNA do VHB pela PCR. 6/100 (6%) pacientes HBsAg negativo/Anti-HBc reagentes/Anti-HBs não reagentes apresentaram positividade para o DNA do VHB no soro, enquanto nenhum caso de positividade para o DNA do VHB foi observado nos 50 pacientes HBsAg negativo/Anti-HBc reagentes, que já apresentavam positividade para o anti-HBs ($p > 0,05$).

Após D1 houve soroconversão para o anti-HBs em 3/6 (50%) doadores que eram DNA do VHB (+) e em 56/94 (59,6%) doadores DNA do VHB (-), ($p > 0,05$). Após D2, do total de vacinados, soroconverteram 4/6 (66,7%) com DNA do VHB (+) e 79/94 (84%) com DNA do VHB (-), ($p > 0,05$). Após D3, houve soroconversão acumulada em 6/6 (100%) doadores DNA do VHB (+) e em 84/94 (89,4%) doadores DNA do VHB (-), ($p > 0,05$). No final, 10/94 (10,6%) DNA do VHB (-) não soroconverteram após D3. Os 6/6 (100%) pacientes DNA do VHB (+) pré-vacinal negativaram DNA do VHB após D1, D2 e D3.

No grupo D, a pesquisa do DNA do VHB foi positiva em 12/50 (24%). Após D1 observou-se soroconversão para o anti-HBs em 5/10 (50%) pacientes DNA do VHB (+) e em 6/12 (50%) DNA do VHB (-), ($p > 0,05$). Após D2 haviam soroconvertido 7/10 (70%) pacientes DNA do VHB (+) e 8/12 (66,7%) DNA do VHB (-), ($p > 0,05$). Após D3, houve soroconversão acumulada em 9/10 (90%) pacientes DNA do VHB (+) e em 9/12 (75%) DNA do VHB (-), ($p > 0,05$). Do total, 1/10 (10%) paciente DNA do VHB (+) e 3/12 (25%) pacientes DNA do VHB (-) não soroconverteram após D3.

Dos 10 pacientes infectados pelo VHC que eram positivos para o DNA do VHB, houve a negatificação respectivamente em 77,8% (IC 95%: 50,6% - 100%), 87,5% (IC 95%: 64,6% - 100%) e 90% (IC 95%: 71,4% - 100%) após D1, D2 e D3.

No grupo E, após D1 houve soroconversão em 4/26 (15,4%; IC 95%: 1,5% - 29,3%), após D2 em 9/26 (34,6%; IC 95%: 16,3 - 52,9%) e após D3 em 17/26 (65,4%; IC 95%: 47,1% - 83,7%). Portanto, 17/26 (65,4%) apresentaram soroconversão acumulada, sendo que 9/26 (34,6%) pacientes não apresentaram soroconversão.

Entre os 48 pacientes com hepatite C (grupos D+E), após D1 observou-se que 15 (31,2%) soroconverteram para o anti-HBs. Após D2, 24/48 (50%) soroconverteram e após D3, 35/48 (72,9%) apresentaram soroconversão acumulada.

Comparando-se os resultados dos grupos D e E, após D1 observou-se soroconversão para o anti-HBs em 11/22 (50%) pacientes do grupo D e em 4/26 (15,4%) do grupo E ($p<0,05$). Após D2 haviam soroconvertido 15/22 (68,2%) do grupo D e 9/26 (34,6%) do grupo E ($p<0,05$). Após D3 houve soroconversão acumulada em 18/22 (81,8%) do grupo D e em 17/26 (65,4%) do grupo E ($p>0,05$).

Comparando-se os grupos C e D, a pesquisa do DNA do VHB feita em soro coletado antes de D1 foi positiva em 6/100 (6%) pacientes do Grupo C e em 12/50 (24%) pacientes do Grupo D ($p<0,05$). No Grupo C, todos os 100 pacientes receberam a vacina e no grupo D, 22 pacientes receberam a vacina (10 DNA do VHB+). No total, após D1 observou-se soroconversão em respectivamente 59/100 (59%) indivíduos do grupo C e em 11/22 (50%) do grupo D. Após D2, 83/100 (83%) indivíduos do grupo C e 15/22 (68,2%) do grupo D soroconverteram. Após D3, 90/100 (90%) indivíduos do grupo C apresentaram soroconversão acumulada contra 18/22 (82%) do grupo D ($p>0,05$).

No Grupo C, 6 (100%) pacientes DNA do VHB (+) negativaram após as três doses da vacina. No Grupo D, dos 10 pacientes DNA do VHB (+), 9 (90%; IC 95%: 71,4% - 100%) negativaram após 3 doses da vacina.

Na soroconversão para o anti-HBs nos vários grupos estudados, houve aumento do percentual de pacientes com soroconversão com o aumento da estimulação vacinal. O grupo E apresentou soroconversão significativamente menor que os demais grupos após D1 ($p<0,05$), D2 ($p<0,05$).

Quando comparamos a resposta vacinal após D1 dos pacientes do grupo C (anti-HBc+/anti-HCV-) com a do grupo D (anti-HBc+/anti-HCV+) notamos que houve 41%, 34% e 25% de não respondedores, respondedores do tipo primário e respondedores do tipo anamnóstico, respectivamente; contra 50%, 36% e 14%, entre pacientes co-infectados pelo VHC ($p>0,05$). A resposta do tipo anamnística foi apresentada por 25/100 (25%) pacientes anti-HBc(+)/anti-HCV(-), contra 3/22 (13,6%) pacientes anti-HBc(+)/anti-HCV(+), ($p>0,05$).

Quando comparamos a resposta vacinal de acordo com a quantificação do anti-HBs após 3 doses da vacina, nos doadores do grupo C observou-se 10%, 50% e 40% de não resposta, soroconversão e soroproteção, respectivamente. Nos pacientes anti-HBc reagentes com HCV (grupo D) essas taxas foram 36%, 27% e 36% ($p<0,05$).

Após 3 doses de vacina houve diferença significativa quando comparamos os 3 grupos de acordo com o status sorológico para o anti-HBc e o anti-HCV ($p < 0,05$).

Observou-se que 36,4% dos pacientes do grupo D não responderam às 3 doses de vacina, contra 34,6% de não respondedores entre os pacientes do grupo E ($p > 0,05$).

Com este estudo, esperamos ter contribuído para um melhor entendimento da problemática dos doadores anti-HBc isoladamente reagentes. Como podemos notar, esses indivíduos podem apresentar infecção oculta pelo vírus B, principalmente quando estão co-infectados pelo vírus C, numa porcentagem significativa. Consideramos que novos estudos utilizando a vacina contra o vírus B precisam ser realizados para avaliarmos sua capacidade de proteger os indivíduos com hepatite C, bem como eliminar, possivelmente, o VHB residual em pacientes com infecção oculta pelo vírus B.

ABSTRACT

A high percentage of positivity for anti-HBc can result in excessive loss of donors in some geographic regions, and consequently could affect blood supplies. As anti-HBc testing was originally implemented in blood banks as an indirect marker of hepatitis C, which now has a specific test, there are now questions about the necessity for including this test. Some studies have shown a correlation between anti-HBc in the donor and infection with HBV in the receptor. Recently, with the advent of molecular biology techniques, it has become possible to detect HBV DNA, which can help in the investigation of patients that are anti-HBc reactive alone.

Since anti-HBc reactive patients can present occult infection with HBV, we decided to evaluate the occurrence of this condition in our blood donors. As there individuals with anti-HBc alone can potentially transmit HBV, we evaluated via PCR if vaccination is capable of eliminating this residual HBV in patients who are HBV-DNA positive, as they can seroconvert when they are vaccinated against hepatitis B. This could be a strategy to reduce the transmission of HBV in highly endemic areas.

It is also known that occult infection with HBV occurs at high frequencies among patients with chronic HCV. Consequently, we also evaluated a cohort of these patients. Finally, we compared the results on prevalence of occult infection with HBV, seroconversion to anti-HBs, and negativation of HBV-DNA, in groups with different degrees of risk for acquiring HBV.

We made an ambulatory study of 587 blood donors attended at the Campinas Blood Center, who were rejected by blood screening as they were positive for anti-HBc at the time of the first donation. All of them were negative for anti-HCV and anti-HIV.

In this first stage of the study, the blood donors were identified and they responded to a specific questionnaire. Also, on the day of the first visit, blood samples were collected to make biochemical tests, to retest for hepatitis B markers and investigation of HBV DNA with PCR.

We had three groups; there was a group of blood donors who were anti-HBc non-reactive, based on the new tests done at our service. These were probably false positives (group A). Group B was constituted of individuals who were anti-HBc reactive /anti-HBs reactive.

Group C was constituted of blood donors who were anti-HBc reactive /anti HBs non-reactive. An investigation for HBV DNA was done on these individuals, using serum from the first blood collection, via “in house” PCR. The samples that were positive were then evaluated quantitatively for HBV DNA, using a commercial test (Amplicor HBV Monitor, Roche Diagnostic Systems, Branchburg, NJ).

HBV DNA was also tested for in 50 randomly selected group B patients, via “in house” PCR.

When the group C patients returned, we gave them the first dose (D1) of the vaccine Engerix B®. At the time of the second dose (D2) of vaccine, about 30 days after D1, we took another blood sample to test again for anti-HBs and for HBV DNA. The patients who seroconverted after D1 did receive additional doses of vaccine. The second dose was administered approximately one month after D1 and a third dose (D3), five months after D2.

Another group of 50 HBsAg negative, anti-HBc reactive /anti-HBs non reactive /HCV reactive patients was also included in the study, to investigate if there was occult infection with hepatitis B virus. Among these 50, 22 patients (10 HBV DNA + e 12 HBV DNA -) were vaccinated for hepatitis B, and seroconversion and negativation of HBV-DNA were then investigated. These patients were given the three doses of vaccine (group D).

For comparison with group D, we selected a group of 26 patients HBsAg negative/anti-HBc non-reactive /HCV reactive, who were also being studied in our ambulatory clinic (group E).

The individuals who had anti-HBs levels from 10 - 100 mIU/mL after D1 were classified as primary type responders. Those who had anti-HBs $\geq$ 100 mIU/mL after D1 were classified as anamnesis (booster) type responders.

We defined vaccine response by quantifying anti-HBs after three doses of vaccine, and we classified the patients as non responders – serum non reactive (S.N.R.) - (anti-HBs < 10 mIU/mL), patients with seroconversion (anti-HBs 10 – 99 mIU/mL) and patients with seroprotection (anti-HBs $\geq$ 100 mIU/mL).

There was no significant difference between the sex ratios of the groups ($P>0.05$). However, there was a significant racial effect ($P<0.05$), with a greater predominance of whites in group A. There were significantly more mulattos and blacks in groups B and C compared to group A. Group A patients were significantly younger than those of the other groups ($P<0.05$).

In the investigation of risk factors for acquiring HBV, we evaluated in the groups A, B and C risks for blood borne HBV, via sexual contact, via blood/sexual and through non sexual contact in the home.

One hundred group C donors responded to the request to participate in this project, and they were examined for HBV DNA via PCR. In this group, 6/100 (6%) HBsAg negative/Anti-HBc reactive /Anti-HBs non reactive patients were positive for HBV DNA in the serum, while none of the 50 patients, who were HBsAg negative/Anti-HBc reactive who already were positive for anti-HBs, tested positive for HBV DNA, though this difference was not significant ($P>0.05$).

After D1 there was seroconversion for anti-HBs in 3/6 (50%) HBV DNA+ donors and in 56/94 (59.6%) HBV DNA- donors ($P>0.05$). After D2, among those who were vaccinated 4/6 (66.7%) HBV DNA+ and 79/94 (84%) HBV DNA- seroconverted ($P>0.05$). After D3, there was accumulated seroconversion in 6/6 (100%) HBV DNA+ donors and in 84/94 (89.4%) HBV DNA- donors ($P>0.05$). After the third vaccination, 10/94 (10.6%) HBV DNA- had not seroconverted. The 6/6 (100%) patients who were HBV DNA+ before the vaccinations tested negative for HBV DNA after D1, D2 and D3.

HBV DNA was found in 12/50 (24%) of group D patients. There was seroconversion to anti-HBs after D1 in 5/10 (50%) HBV DNA+ patients and in 6/12 (50%) HBV DNA- patients ($P>0.05$). After D2, 7/10 (70%) HBV DNA+ patients and 8/12 (67%) HBV DNA- had seroconverted ($P>0.05$). After D3, there was accumulated seroconversion in 9/10 (90%) HBV DNA+ patients and in 9/12 (75%) HBV DNA- patients ($P>0.05$). Among these, 1/10 (10%) HBV DNA+ patient and 3/12 (25%) HBV DNA- patients did not seroconvert after D3.

In our investigation of negativation of HBV DNA in patients with HCV, we noted that among the 10 patients infected with HCV who were positive for HBV DNA, there was negativation in 77.8% (CI 95%: 50.6% - 100%), 87.5% (CI 95%: 64.6% - 100%) and 90% (CI 95%: 71.4% - 100%) after D1, D2 and D3.

In group E, there was seroconversion after D1 in 4/26 (15%; CI 95%: 1.5% - 29.3%), after D2 in 9/26 (35%; CI 95%: 16.3 - 52.9%) and after D3 in 17/26 (65%; CI 95%: 47.1% - 83.7%). Therefore, 17/26 (65%) had accumulated seroconversion.

Among the 48 patients with hepatitis C (groups D+E), 15 (31%) seroconverted to anti-HBs after D1. After D2, 24/48 (50%) seroconverted, and after D3 35/48 (73%) had accumulated seroconversion.

Comparing the results of groups D and E, after D1, we found seroconversion to anti-HBs in 11/22 (50%) patients of group D and in 4/26 (15%) of the group E patients ($P<0.05$). After D2 15/22 (68%) group D patients and 9/26 (35%) group E patients had seroconverted ($P<0.05$). After D3, there was accumulated seroconversion in 18/22 (82%) group D patients and in 17/26 (65%) group E patients ($P>0.05$).

Comparing groups C and D 6/100 (6%) group C patients and 12/50 (24%) group D patients were initially HBV DNA positive ($P<0.05$). In Group C, all 100 patients were vaccinated, and in group D, 22 patients were vaccinated (10 were HBV DNA+). After D1 there was seroconversion in 59/100 (59%) group C patients and in 11/22 (50%) group D patients. After D2, 83/100 (83%) group C patients and 15/22 (68%) group D patients seroconverted. After D3, 90/100 (90%) of the individuals in group C had accumulated seroconversion, compared to 18/22 (82%) in group D ($P>0.05$).

In group C, 6 (100%) HBV DNA+ patients negatived for HBV DNA after three doses of vaccine. In Group D, among the 10 HBV DNA+ patients, 9 (90%; CI 95%: 71.4% - 100%) patients negatived after 3 doses of vaccine.

In the seroconversion for anti-HBs in the various groups, there was an increase in the percentage patients who seroconverted as the number of vaccinations increased. Group E had significantly less seroconversion than the other groups after D1 ($P<0.05$) and D2 ($P<0.05$).

When we compared the response to vaccine after D1 in group C patients (anti-HBc+/anti-HCV-) with those of group D (anti-HBc+/anti-HCV+), we found 41%, 34% and 25% non responders, primary responders and anamnestic responders, respectively, compared to 50%, 36% and 14% among patients co-infected with HCV ($P>0.05$). An anamnestic type response was found in 25/100 (25%) anti-HBc+/anti-HCV- patients, compared to 3/22 (13.6%) anti-HBc+/anti-HCV+ patients ($P>0.05$).

When we compared the response to vaccine by quantifying anti-HBs after three doses of vaccine, we found 10%, 50% and 40% non responders, seroconversion and seroprotection, respectively. Among the patients who were anti-HBc reactive and had HCV (group D), these rates were 36%, 27% and 36%, respectively ($P<0.05$).

After three doses of vaccine there were significant differences among the three groups in their serological status for anti-HBc and anti-HCV ($p < 0.05$).

Taking into consideration only those patients with hepatitis C (groups D and E) it was found that 36.4% of the patients in group D did not respond to the three doses of vaccine, compared to 34.6% who did not respond among group E patients ($p>0.05$).

We hope to have contributed, through this study, to a better understanding of the problems that are posed by blood donors who are anti-HBc reactive. We found that such individuals can have occult infection with hepatitis B virus, especially when they are co-infected with hepatitis C virus. We suggest that further studies should be made with B virus vaccine to determine its capacity to protect against hepatitis C, as well as the possibility of eliminating residual HBV in patients who have occult infection with hepatitis B virus.

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - BREVE HISTÓRICO

As hepatites provocadas por vírus são hoje doenças bem caracterizadas dos pontos de vista clínico, laboratorial e epidemiológico. Desde as primeiras descrições dessa doença, ainda na Grécia Antiga, muito se discutiu sobre a etiologia das mesmas. A partir de 1939, com o advento da biópsia hepática, associou-se a doença hepatite a alterações inflamatórias dos hepatócitos.

Em relação à hepatite transmitida por soro humano, a primeira descrição clara aconteceu em 1885, quando ocorreram casos de icterícias após a vacinação antivariólica de trabalhadores alemães (AACH, 1981). A ocorrência dessas icterícias relacionadas ao uso de plasma humano em soros e vacinas propiciou evidências para que ele fosse considerado como o agente transmissor, o que foi reforçado com a observação de casos de icterícias em receptores de sangue ou derivados (BEENSON, 1943).

Em 1965, BLUMBERG e colaboradores descobriram um antígeno no soro de um aborígene australiano que reagia com soros de hemofílicos, sendo inicialmente associado às leucemias. Mais tarde foi encontrado em mongolóides, em hansenianos e em doentes com hepatites virais (BLUMBERG, 1967), além dos leucêmicos. No Japão, OKOCHI & MURAKAMI (1968) estabeleceram a associação entre a presença do antígeno Austrália em doadores de sangue, e o desenvolvimento de hepatite pós-transfusionais nos receptores de unidades positivas para esse antígeno. Posteriormente, o antígeno Austrália foi finalmente associado às hepatites agudas e crônicas e aos portadores sãos, sendo proposta a sua pesquisa rotineira, por imunodifusão, para triagem dos doadores de sangue (BLUMBERG *et al*, 1969).

1.2 - O VÍRUS DA HEPATITE B, SEUS ANTÍGENOS E ANTICORPOS

A caracterização do vírus da hepatite B (VHB), de seus antígenos e dos anticorpos associados ficou praticamente completa no início dos anos 70. Isso possibilitou estabelecer perfis sorológicos da infecção pelo VHB, bem como permitiu diferenciar casos de hepatites produzidas pelo vírus da hepatite A (VHA) (FEINSTONE *et al*, 1973).

Sabe-se agora que VHB pertence à família de vírus denominado hepadnavirus. Como observado por Dane, à microscopia eletrônica, no soro de indivíduos infectados pelo VHB, é possível encontrar três tipos de partículas. A menor delas é esférica, com 22 nm de diâmetro, e representa o antígeno de superfície (HBsAg) com seu envoltório lipídico. Essa mesma partícula, quando vista no ME, em outra incidência, apresenta o mesmo filamento de HBsAg envolto por lipídeos medindo 22 – 200 nm de comprimento por 22 nm de diâmetro. Estas partículas não são infecciosas e são produzidas em grande quantidade durante a infecção viral. As partículas de Dane propriamente ditas são esferas com 42 nm de diâmetro e constituem o vírion completo (DANE *et al*, 1970). Essas partículas do VHB são constituídas por um envoltório lipídico que contém o antígeno de superfície do VHB (HBsAg) e uma estrutura central densa (*core*). Essa estrutura central possui uma proteína (HBcAg) que induz a formação de anticorpos específicos (anti-HBcAg) pelos indivíduos infectados. O antígeno do *core* (HBcAg) não é secretado, sendo por isso muito difícil sua detecção no sangue circulante, diferentemente do que ocorre no fígado doente, onde é muito abundante. O HBcAg é encontrado nos hepatócitos de doentes aguda ou cronicamente infectados pela técnica da imunoperoxidase. Na zona central da partícula de Dane, observa-se ainda a presença do ácido nucléico viral (DNA-VHB). Esse DNA, que forma a matriz genética do vírus, possui uma dupla cadeia, disposta circularmente, e contém 3.200 nucleotídeos. No genoma ainda se encontram enzimas como a DNA-polimerase e a fosfoquinase (DEINHART, 1991). Na parte central do vírus está presente ainda um outro antígeno, denominado antígeno “e” (HBeAg), que é secretado e que, diferentemente do HBcAg, pode ser facilmente detectado no sangue (MAGNIUS *et al*, 1972). Esse antígeno associa-se à replicação e infectividade viral e induz a formação de anticorpo específico (anti-HBeAg), normalmente relacionado à parada da replicação viral (ALEXANDER, 1990).

No genoma do VHB identificam-se quatro estruturas gênicas principais: S, P, C e X, que possuem diferentes funções (Figura 1). O gene S é dividido em três sítios de iniciação, o que levará à formação de três diferentes proteínas de superfície com suas formas glicosiladas (GERLICH *et al*, 1991): a p25 (proteína de cadeia curta ou S), a p33 (proteína de cadeia média, pré-S2 ou M) e a p30 (proteína de cadeia longa, pré-S1 ou L). Entre esses peptídeos, a p25 é predominante e representa o principal antígeno de superfície

(HBsAg) que induzirá a formação do anticorpo anti-HBsAg. Esse peptídeo é encontrado em níveis elevados nas fases aguda ou crônica da HVB.

O gene S do DNA do VHB, quando inserido em células fúngicas, pode programá-las para produzir o HBsAg da vacina utilizada hoje, prevenindo infecções pelo VHB. A proteção contra a infecção parece ser conferida primariamente pela formação de anticorpos contra o determinante antigênico “a”. Alguns variantes do vírus da hepatite B, com mutações nesse determinante antigênico, têm sido descritos em indivíduos vacinados ou imunizados passivamente contra a hepatite B. Tais variantes apresentam uma substituição do aminoácido (glicina ou arginina) na posição 145 da proteína S, e acredita-se que resultem de uma alteração comum decorrente do processo de transcrição do genoma viral, que sofreu uma pressão seletiva ao infectar esses indivíduos. Portanto, a proteção grupo “a” específica induzida pelas vacinas de hepatite B, pode não proteger contra esse escape viral, resultando em falha vacinal. A frequência desses eventos e suas possíveis implicações quanto ao sucesso das estratégias de vacinação contra a hepatite B ainda não estão esclarecidos (CARMEN *et al*, 1990).

A penetração do vírus da hepatite B nas células hepáticas parece ser mediada por seqüências de aminoácidos encontrados nas regiões pré-S1 e pré-S2. Na região pré-S2 foi descrito um receptor para a albumina polimerizada humana (pHSA), que também seria encontrado nos hepatócitos. Sugere-se que a pHSA funcione como ponte de ligação, proporcionando a captação do vírus pela célula. As evidências de que as proteínas L e M podem aumentar a imunogenicidade do HBsAg têm levado vários autores a realizarem estudos adicionando essas proteínas às vacinas contra a hepatite B (LEROUX-ROELS *et al*, 1997).

O gene C e a região pré-C (pré-core) que o precede codificam o antígeno do core do VHB (HBcAg) e o HBeAg respectivamente. Rotineiramente, podemos pesquisar o HBcAg no tecido hepático e o HBeAg no soro, dada a sua solubilidade. Podem ocorrer mutações na região pré-C, produzindo regiões C inativas que resultam em replicação viral continuada, incapaz, porém, de produzir e expressar o HBeAg solúvel (GERLICH *et al*, 1991).

O gene P codifica a DNA-polimerase, uma enzima específica para duplicar o DNA, que também possui atividade de transcriptase reversa. Isso permite que o DNA-VHB seja produzido a partir do RNA precursor (RAYMOND *et al*, 1993). A replicação do VHB ocorre predominantemente no hepatócito.

No genoma do VHB encontramos ainda o gene X, cuja função é desconhecida. Esse gene produz o antígeno X (HBxAg), que parece estar associado ao processo de replicação viral, particularmente na etapa de transcrição do VHB. Sua possível associação com o desenvolvimento de carcinoma hepático tem sido motivo de controvérsias (FEITELSON, 1992).

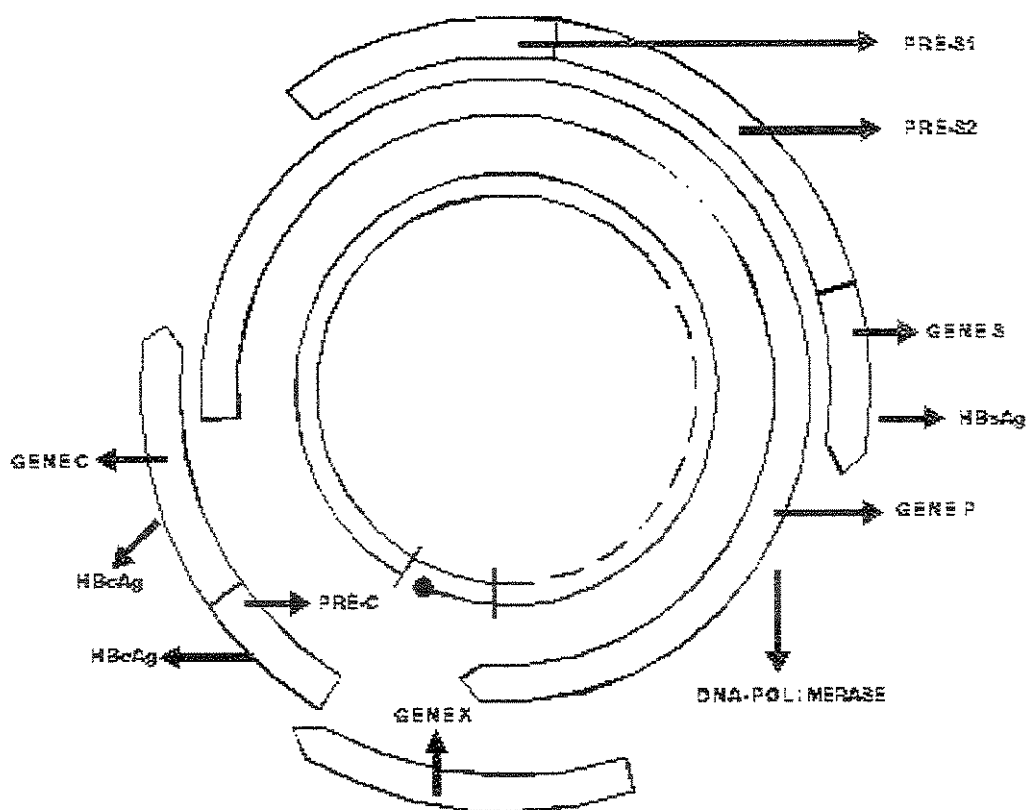


Figura 1 - Constituição do genoma do VHB com suas estruturas gênicas.

1.3 - DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DA INFECÇÃO PELO VHB

A confirmação diagnóstica de infecção pelo VHB pode ser realizada tanto pelos testes sorológicos (ensaios imunoenzimáticos ou EIA e radioimunoensaio ou RIA), que buscam identificar no soro os antígenos (HBsAg e HBeAg) e anticorpos (Anti-HBcAg, Anti-HBeAg e Anti-HBsAg) presentes nessa infecção, como pelos testes moleculares (pesquisa quantitativa e qualitativa do DNA do VHB). Além disso, pode ser realizada a pesquisa de antígenos HBsAg e HBcAg no tecido hepático (marcadores virais teciduais) pela imuno-histoquímica.

Após o período de incubação, que varia de 50 a 180 dias, e duas a seis semanas antes do aparecimento da icterícia, já podem ser detectados no soro os antígenos HBsAg e HBeAg, que indicam, em última análise, a presença do VHB replicante e infectante. O HBeAg é, portanto, um marcador de replicação e infectividade do VHB. Sua presença associa-se, usualmente, à positividade do DNA do VHB no soro e a um maior risco de transmissão da infecção. O antígeno HBcAg é um antígeno intracelular e insolúvel, não podendo ser detectado no soro. Nesse período pré-ictérico, ocorre elevação gradativa dos níveis de AST e ALT, expressando a lesão hepatocítica progressiva. No início do período ictérico as dosagens dessas enzimas alcançam seus níveis mais altos. No período ictérico, além dos sintomas da doença aguda, nota-se também o aparecimento, em concentrações crescentes, do anticorpo Anti-HBcAg, dirigido contra o antígeno do core do VHB (HBcAg). Anticorpos IgM contra o HBcAg (anti-HBc-IgM) normalmente são considerados importantes marcadores para o diagnóstico de hepatite B recente, sendo o primeiro anticorpo que surge no soro desses pacientes cerca de um mês após o aparecimento do HBsAg (LEMON *et al*, 1981; HOLLINGER, 1996). Essa fração IgM também pode estar elevada, de maneira intermitente, em pacientes com hepatite B crônica HBeAg positivos, que apresentam períodos de elevação de ALT (“flares” de ALT) durante os episódios de reativação da doença (HOLLINGER, 1996; SJOGREN *et al*, 1985). O anti-HBcAg total geralmente persiste por toda a vida do indivíduo infectado pelo VHB. O aparecimento do anti-HBeAg evidencia que o indivíduo está caminhando para a recuperação, pois o mesmo é indicativo de diminuição de replicação, com conseqüente queda na infectividade. Na fase de convalescência ocorrerá aumento progressivo das concentrações do Anti-HBsAg que,

associado ao anti-HBcAg, indica cura da infecção pelo VHB, com o conseqüente desenvolvimento de imunidade para esse vírus. Como se observa na fase aguda, a icterícia, se presente, diminui conjuntamente com as concentrações do HBsAg, do HBeAg e da ALT no soro do paciente. Existe um período chamado janela imunológica, onde não se detecta o HBsAg no soro, tampouco o Anti-HBsAg. Nesse período o diagnóstico de infecção pelo VHB é evidenciado pela pesquisa de anticorpos, principalmente o Anti-HBcAg total. O Anti-HBcAg pode, portanto, ser detectado durante a fase de antigenemia do HBsAg (fase aguda), na fase intermediária (janela imunológica) e a de convalescência e de imunidade, associado ao Anti-HBsAg. Nos casos de infecção pelo VHB, quando o HBsAg está diminuindo, sua concentração se apresenta em níveis circulantes abaixo do limite de detecção dos testes laboratoriais (RIE e ELISA), sendo essa impossível (DIENNSTAG, 1983). Nesses casos, o anti-HBc pode ser o único indicador de infectividade. Existem relatos de transmissão do VHB através de indivíduos HBsAg-negativos, principalmente quando o anti-HBc for positivo em altos títulos (GONÇALES JR. *et al*, 1993; HOOFNAGLE *et al*, 1974)

O anti-HBc positivo isolado também pode representar baixo nível virêmico, perda de Anti-HBs muitos anos após a recuperação, ou resultado falso-positivo. O indivíduo será considerado curado e estará imune à reinfecção pelo VHB somente após o aparecimento do anti-HBsAg no soro. Raras vezes, o HBsAg e o anti-HBsAg podem ser concomitantemente encontrados no soro, pela incapacidade do anti-HBsAg em neutralizar os antígenos circulantes. Em tais casos o indivíduo deve ser considerado portador do vírus VHB.

Nos pacientes que evoluem para hepatite crônica, o HBsAg permanecerá detectável no soro por mais de seis meses. Nesses casos de infecção crônica o indivíduo poderá permanecer reagente para o HBeAg por vários anos ou apresentar soroconversão em um período de tempo variável. Essa caracteriza-se pelo surgimento do anticorpo anti-HBeAg, com o conseqüente desaparecimento do antígeno HBeAg associado à negatificação do DNA do VHB no soro; e associa-se com parada da replicação e significativa redução da infectividade do soro, o que usualmente leva à normalização dos níveis de aminotransferases. Em decorrência desses fatores, haverá progressiva remissão da

doença hepática. Uma pequena percentagem de pacientes anti-HBeAg positivos pode continuar a apresentar doença hepática ativa com positividade para o DNA do VHB, decorrente de uma baixa replicação residual do vírus selvagem, apesar de já ter ocorrido soroconversão para o HBeAg. Isso também pode ser observado nos casos de surgimento de cepas do VHB com mutações na região pré-core. A fase de convalescença da infecção, caracterizada pela perda do HBsAg e pelo desenvolvimento do anti-HBsAg, pode ocorrer em um número restrito de pacientes com infecção crônica pelo VHB. O fenómeno parece ser particularmente comum em pacientes em hemodiálise (7%), quando comparados com outros pacientes HBsAg positivos (2%) (FOUTCH *et al*, 1983). A presença de anti-HBs nesses pacientes parece não ter importância clínica.

Pacientes vacinados contra o VHB apresentam um padrão sorológico típico, com desenvolvimento apenas dos anticorpos contra o antígeno de superfície (anti-HBsAg). Raras vezes o HBsAg e o anti-HBsAg podem ser concomitantemente encontrados no soro, pela incapacidade do anti-HBsAg em neutralizar os vírus circulantes.

1.4 - DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE INFECÇÃO PELO VHB

Os recentes avanços no diagnóstico das infecções virais, conseqüentes ao desenvolvimento de novos testes e métodos de biologia molecular, têm propiciado um aumento considerável da nossa capacidade em diagnosticar novas formas de infecção pelo VHB. Recentemente, tornou-se possível a detecção do DNA do VHB no soro e no tecido hepático, para a qual foram desenvolvidas técnicas de hibridização molecular, a partir de 1980. A técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR), posteriormente introduzida, é um método altamente sensível e específico que permite a amplificação de um fragmento específico de DNA, através de um processo enzimático que utiliza um par de polinucleotídeos específicos (“primes”) que flanqueiam a região a ser amplificada, cuja concentração final excede em milhares de vezes a do restante do DNA presente na amostra analisada. A detecção do DNA-VHB por este ensaio foi descrita por LARZUL *et al* (1988), THIERS *et al* (1988) e KANEKO *et al* (1990).

1.5 - A INFECÇÃO OCULTA PELO VHB

Em locais de baixa endemicidade do VHB se tem notado que cerca de 10% dos pacientes que apresentam o padrão sorológico de positividade isolada do anti-HBcAg (janela imunológica) são positivos para o DNA do VHB pela PCR. O padrão laboratorial dessas infecções ocultas pelo VHB é a ausência de positividade para o HBsAg no soro, associada à presença dos anticorpos contra o VHB, particularmente o anti-HbcAg, e à presença de baixo nível de DNA do VHB circulante (CACCIOLA *et al*, 1999; BRECHOT *et al*, 2001; CHAZOILLERES *et al*, 1994; FONG *et al*, 1993; LORIOT *et al*, 1997). Essas infecções têm sido confirmadas por estudos que utilizam os testes da PCR *in house* para pesquisar o DNA do VHB, comumente mais sensíveis que os testes comerciais automatizados disponíveis. O limite de detecção dos testes da PCR *in house* tem variado de 10 a 100 cópias/mL, enquanto os testes automatizados apresentam menores sensibilidades (geralmente acima de 400 cópias/mL). Para se diagnosticar a infecção oculta pelo VHB, tem-se procurado utilizar testes moleculares cada vez mais sensíveis, capazes de detectar um número menor de cópias. Como os testes automatizados são menos sensíveis que os testes “in house”, muitos casos de positividade para o DNA do VHB acabam não sendo detectados.

Recentemente, alguns autores têm relatado a ocorrência de infecção oculta pelo VHB em pacientes co-infectados com o vírus da hepatite C (CACCIOLA *et al*, 1999; BRECHOT *et al*, 2001; BAGINSKI *et al*, 1992; UCHIDA *et al*, 1997; GONÇALES JR. *et al*, 2003). O único parâmetro laboratorial desta infecção é a presença do anti-HBcAg (FOUTCH *et al*, 1983; SHIOTA *et al*, 2000; SANCHEZ-QUIJANO *et al*, 1993; JEANTET *et al*, 2002). Hoje existem evidências crescentes de que, para esses pacientes HBsAg-negativos, a infecção pelo VHB não deve ser considerada resolvida, podendo inclusive ser transmitida para outros indivíduos. Há relatos de transmissão para contactantes sexuais; por via parenteral (mãe-filho); por transfusões de sangue; em estudos experimentais, para chimpanzés; e em casos de transplantes de órgãos provenientes desses doadores (BRECHOT *et al*, 2001; SHIOTA, *et al*, 2000; THIERS *et al*, 1988; JEANTET *et al*, 2002).

Muitos autores têm pesquisado a presença do DNA-VHB nos soros com o anticorpo anti-HBc isoladamente positivo, relatando grande variação na frequência desse achado (SHIH *et al*, 1990; LUO *et al*, 1991; KROES *et al*, 1991; SUMAZAKI *et al*, 1989). Em um estudo realizado na China, em 1991, o DNA-VHB foi detectado em 74 de 214 (34,6%) indivíduos com anti-HBc isolado (LUO *et al*, 1991). Em outro estudo, realizado também na China, não foi encontrado em nenhum dos indivíduos anti-HBc positivos o DNA-VHB (SHIH *et al*, 1990). Na Holanda, em 1991, outro estudo demonstrou que 5 de 52 (9,6%) indivíduos que eram anti-HBc reagentes apresentavam o DNA-VHB no soro (KROES *et al*, 1991).

SUMAZAKI *et al*, em 1989, relataram o encontro de DNA-VHB pela técnica da PCR em 60% dos doadores com anti-HBc isoladamente.

No Brasil, Arraes e colaboradores encontraram, dentre 1.000 doadores de sangue estudados, 120 (12%) com positividade para o anti-HBc. Desses, 10 apresentavam o HBsAg e eram DNA-VHB positivos. A pesquisa do DNA-VHB foi realizada em 110 doadores de sangue HBsAg negativos, sendo encontrados 3 casos positivos, dos quais 2 eram anti-HBsAg positivos.

A pesquisa do DNA-VHB estendeu-se para os casos de doadores anti-HBs positivo, com o objetivo de se avaliar a possibilidade desses indivíduos retornarem para o grupo de doadores de sangue, pois a presença do anti-HBs positivo configuraria o perfil de imunidade à hepatite B e portanto cura da infecção (SHIH *et al*, 1990; WANG *et al*, 1991; ZHANG *et al*, 1993). Esses estudos demonstraram a presença de DNA do VHB, pesquisado pela PCR, em soros anti-HBs positivos, com a frequência variando de 4 a 56%.

1.6 - VACINA CONTRA A HEPATITE POR VÍRUS B

O primeiro passo para o desenvolvimento de uma vacina para prevenir a infecção pelo vírus da hepatite B foi dado por KRUGMAN, ao demonstrar que, quando aquecido por um minuto, o soro diluído de um paciente infectado, contendo partículas contaminantes de hepatite B (cepa MS-2), perdia sua infectividade, mas prevenia ou

modificava o curso da infecção em aproximadamente 70% dos vacinados. Baseado nesse mesmo princípio, HILLEMANN elaborou uma vacina derivada de plasma de portadores crônicos contendo partículas de HBsAg infectantes, que foram inativadas por formalina. O teste inicial da vacina foi feito em chimpanzés e, posteriormente, em humanos, mostrando resultados favoráveis quanto à segurança e imunogenicidade (SZMUNESS *et al*, 1980).

Em meados de 1976 surgiram os primeiros resultados de eficácia da vacina contra a hepatite B inativada, testada em humanos e obtida a partir de soro de doadores infectados (MAUPAS *et al*, 1976).

Na década de 80 a tecnologia do DNA recombinante foi responsável por transformações radicais nos conceitos da virologia da hepatite B. O entendimento da organização do genoma, transcrição e replicação do vírus levaram à produção de novas vacinas, através de técnicas de engenharia genética altamente eficazes e seguras. Essas vacinas resultam da recombinação de um segmento do genoma do vírus da hepatite B, que codifica a principal proteína de superfície viral, a proteína S, ou antígeno HBsAg (HADLER *et al*, 1992).

Estudos vêm sendo realizados com dois outros polipeptídeos de alto peso molecular existentes no envelope viral: as proteínas M e L. A primeira contém em sua extensão 44 aminoácidos em comum com a segunda, denominada de região pré-S2. A proteína L possui 108 ou 119 adicionais (dependendo do subtipo do vírus B), de região pré-S1. É sugerido que a adição de regiões pré-S à proteína S poderia levar a um aumento da imunogenicidade vacinal (NEURATH *et al*, 1986). Entretanto, alguns estudos recentes não têm demonstrado que a adição dessas seqüências à vacina de hepatite B aumente a resposta de anticorpos (LEROUX-ROELS *et al*, 1997).

Existem dois tipos de vacinas para a imunização contra a hepatite B, estando disponível no mercado o segundo tipo:

1. Vacinas derivadas do plasma humano, também denominadas vacinas de primeira geração: consistem predominantemente de partículas purificadas não infecciosas de 22 nm do HBsAg, obtidas a partir de um pool de plasma de portadores do vírus da

hepatite B, tratados pelo calor ou por processos químicos, inativando o VHB residual ou outros agentes biológicos eventualmente presentes. Essas vacinas também incluem quantidades variáveis de antígenos pré-S1 ou pré-S2.

2. Vacinas obtidas por tecnologia de DNA recombinante, ditas de segunda geração: envolvem a inserção do segmento do genoma do VHB, que codifica o HBsAg em plasmídeos, utilizando como sistema amplificador uma levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) ou culturas de células de mamíferos (ovários de hamsters chineses), que expressam o HBsAg (HADLER *et al*, 1992).

As vacinas contra a hepatite B utilizadas em nosso meio são produzidas por biologia molecular e possuem a proteína de superfície (HBsAg) do vírus, porém não possuem as proteínas pré-S1 e pré S2, presentes na primeira geração de vacinas contra a hepatite B. Ambos os tipos de vacina são considerados igualmente imunogênicos, produzindo uma resposta imune humoral contra o epítipo “a” do HBsAg. O anticorpo anti-HBsAg protege contra todos os subtipos do VHB, exceto o raro mutante por escape do epítipo “a”.

Após a vacinação, os títulos de anti-HBsAg superiores a 10 mUI/mL são considerados protetores contra o vírus da hepatite B. Porém, alguns estudos têm demonstrado que indivíduos com títulos de anti-HBsAg entre 10 e 99 mUI/mL (baixa resposta) em um período de 5 anos após a vacinação apresentaram hepatite B assintomática. O mesmo não ocorreu com indivíduos com títulos de anti-HBsAg superiores a 100 mUI/mL (soroproteção) (WN *et al*, 2000). Esses dados levam a pensar que títulos de anti-HBsAg superiores a 10 mUI/mL seriam expressão de soroconversão e que títulos superiores a 100 mUI/mL seriam indicativos de soroproteção.

A vacina contra o VHB apresenta eficácia de 85 a 95% em prevenir a infecção em adultos jovens. A porcentagem de soroconversão ocorre inversamente à idade, de modo que níveis protetores de anticorpos são encontrados em apenas 70% das pessoas que têm entre 50 e 59 anos e em 50 % daqueles com mais de 60 anos de idade (HOLLIGER, 1989; DENIS *et al*, 1984; PEARL *et al*, 1993). A soroconversão também diminui com a presença de insuficiência renal (NAVARRO *et al*, 1994; JAISWAL *et al*,

1995), diabetes, doença hepática crônica, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, tabagismo e obesidade (HOLLINGER, 1989; CHOUDHURY *et al*, 1995). As mulheres apresentam taxas de soroconversão discretamente maiores que os homens (HOLLINGER *et al*, 1986; STRUVE, 1992). Entre aqueles que não obtiveram resposta vacinal adequada após as três doses iniciais, 25 a 40% respondem após uma única dose adicional e 50 a 70% respondem a um novo esquema de três doses (GARDNER *et al*, 1993; DIENSTAG, 1994).

Como regra geral, a imunização com a vacina da hepatite B é considerada eficaz quando a concentração do anticorpo contra o antígeno de superfície é igual ou superior a 10 mUI/mL. A velocidade da queda do título de anticorpos para níveis considerados não protetores (abaixo de 10 mUI/mL) depende da concentração máxima atingida após a vacinação (HADLER *et al*, 1986; HALL, 1993).

A duração da imunidade conferida pela vacinação contra o VHB não está completamente estabelecida. As observações mais recentes sugerem que a proteção permanece pelo tempo em que for possível detectar o anticorpo contra o HBsAg na circulação. Cinco anos após a aplicação, cerca de 90% dos vacinados ainda mantêm anticorpos detectáveis e em aproximadamente 80% os níveis de anticorpos são considerados protetores (McKINNEY *et al*, 1991; POOVORAWAN *et al*, 1992; FORTUIN *et al*, 1993). O desaparecimento do anti-HBs após a vacinação, entretanto, não implica necessariamente em perda da proteção. Mesmo nos casos em que o anti-HBs se torna indetectável após a imunização primária, a exposição natural ao VHB tempos após a vacinação resulta em uma imediata resposta “booster-like”: uma reação anamnésica, que se traduz por aumento nos títulos de anti-HBs em concentrações suficientes para proteger contra a infecção. Mesmo sete anos após a vacinação, quando uma grande proporção de vacinados não possui anti-HBs detectável, uma dose de reforço leva à resposta anamnésica, sugerindo que a exposição natural ao VHB estimularia o sistema imune, que mostraria resposta semelhante (DIENSTAG, 1994).

Apesar de as vacinas disponíveis contra a hepatite B serem altamente imunogênicas e protetoras, ainda existem algumas limitações, como um percentual de pessoas (2 a 5%) que não apresentam soroconversão após a vacinação, ou inconveniências posológicas, como a necessidade de múltiplas doses (CHALASANI *et al*, 1997).

1.7. A ABORDAGEM DOS INDIVÍDUOS ANTI-HBcAg REAGENTES

Como já referido, a interpretação do encontro de anti-HBc positivo depende da presença de outro marcador. Quando associado à positividade do HBsAg, indica infecção ativa. Quando associado à positividade do anti-HBs, configura o perfil de imunidade à hepatite B (HOOFNAGLE, 1981). Algumas vezes esse marcador é encontrado de forma isolada. Seu encontro pode ocorrer com frequência variável conforme a região estudada: 0,1% em áreas de baixa endemicidade pelo VHB (EUA) até 13,2% e 20% em áreas hiperendêmicas (Xangai e Senegal, respectivamente). No Brasil também varia de acordo com a região estudada, chegando a 50% na Amazônia (STARUSS, 1995), 11% em Campinas (GONÇALES JR. et al, 1993) e 16,4% no Rio de Janeiro. (LEITE *et al*, 1992).

O encontro de positividade isolada para o anti-HBc é passível de diferentes interpretações (HOOFNAGLE, 1981):

1. Trata-se de um portador do VHB com níveis séricos de HBsAg muito baixos, que não seriam detectados pelos métodos habituais de pesquisa;
2. Trata-se de um indivíduo imune à hepatite B, no caso de infecção remota, com baixos títulos de anticorpo, não detectados pelos métodos de rotina;
3. Trata-se de um resultado falso-positivo;
4. Trata-se de um período de janela imunológica, ou seja, já ocorreu o desaparecimento do HBsAg, porém ainda não surgiu o anticorpo anti-HBsAg.

Em termos práticos, a elevada porcentagem de positividade para o anti-HBc pode resultar em excessiva perda de doadores em uma determinada região geográfica, podendo afetar o suprimento de sangue. No Brasil, a pesquisa do anti-HBc e a dosagem de ALT são realizadas em alguns bancos de sangue desde 1989, tornando-se obrigatória a partir de 1993, por recomendação do Ministério da Saúde (portaria 1376 de 19/11/93). Como a realização do anti-HBc foi introduzida nos bancos de sangue como marcador indireto da hepatite C, que hoje possui um teste específico, passou-se a questionar a necessidade de continuar sendo obrigatória a realização desse procedimento.

O encontro do anti-HBc isolado em bancos de sangue suscita muitas dúvidas em sua interpretação em relação à probabilidade de transmissão do VHB. Muitos estudos foram realizados e alguns mostraram a correlação entre a presença de anti-HBc no doador e infecção pelo VHB no receptor (LANDER, 1978; RAKELA, 1980; DIKE, 1982; LARSEN *et al*, 1990; HOPKINS, 1992). Com o desenvolvimento de técnicas de biologia molecular, tornou-se possível a determinação do DNA do VHB, que de certa maneira auxilia a investigação dos pacientes anti-HBc isoladamente reagentes.

1.8 - VACINAÇÃO DE INDIVÍDUOS ANTI-HBcAg REAGENTES

A resposta vacinal em indivíduos com a presença do Anti-HBc isoladamente reagentes tem demonstrado uma soroconversão de 72 a 80%. Um estudo realizado em nativos do Alasca relatou a frequência de 78,8% de respondedores à vacina contra a hepatite B em adultos sadios com anti-HBc isolado, com menos de 50 anos de idade (McMAHON *et al*, 1992). Nesse estudo também foi demonstrado que 8,1% dos indivíduos apresentaram resposta anamnética.

LOK *et al*, em 1988, relataram que após 4 doses da vacina 71,9% dos indivíduos anti-HBc isoladamente reagentes responderam à vacina. Outros estudos relataram o desenvolvimento de resposta anamnética à vacina contra hepatite B com frequência variando de 10 a 16% entre os portadores de anti-HBc isolado (DRAELOS *et al*, 1988).

No Brasil, Souto e colaboradores estudaram 33 doadores de sangue que eram anti-HBc isoladamente reagentes e receberam a vacina, sendo que 39% soroconverteram com 1 dose, 75% com duas doses e no total 88% apresentaram soroconversão. Desses pacientes, em 24 foi pesquisado o DNA-VHB, tendo o mesmo sido negativo em todos.

Em outro recente estudo brasileiro, de Almeida Neto e colaboradores, foram vacinados contra o VHB 77 doadores de sangue que apresentavam anti-HBc isoladamente reagente. Observou-se que 34% soroconverteram após uma dose da vacina. Nos 39 indivíduos que não soroconverteram a pesquisa do DNA-VHB foi negativa.

1.9 - VACINA CONTRA A HEPATITE POR VÍRUS B EM INDIVÍDUOS COM HEPATITE C CRÔNICA

A vacina contra a hepatite por vírus B é indicada em pacientes com risco de exposição ao vírus, assim como em pacientes com doença hepática crônica de outras etiologias. Portanto, pacientes com hepatite C devem receber a vacina contra a hepatite por vírus B. Em co-infecções pelos vírus das hepatites B e C, de maneira geral, a replicação do vírus da hepatite B reduz a replicação do vírus C (ZARSKI *et al*, 1998), mas em ambos os casos aumenta a severidade da hepatite e os riscos de cirrose hepática e carcinoma hepatocelular (SIMONETTI *et al*, 1992).

Wiedmann e colaboradores vacinaram pacientes infectados com o vírus da hepatite C contra o VHB e compararam os resultados com um grupo controle. Observaram que 31% dos pacientes com infecção pelo VHC não responderam à vacina, contra 9% dos controles sadios ($p < 0,005$). A não soroconversão não estava relacionada com a presença de cirrose, concentração do RNA do VHC ou com a presença de antígenos da classe HLA.

Em um estudo realizado em hemodialisados com e sem hepatite C, que receberam vacina contra a hepatite B, demonstrou-se a ocorrência de soroconversão (anti-HBs > 10 mUI/mL) em 80,5% dos pacientes. Porém, houve diferença significativa quando se analisou os títulos de anti-HBs superiores a 100 mUI/mL (soroproteção), 33,3% versus 70,3% ($p < 0,05$), respectivamente (NAVARRO *et al*, 1994).

Em outro estudo, avaliando pacientes com hepatite C vacinados contra a hepatite B e comparados com um grupo controle, demonstrou-se soroconversão em 72% versus 92%, respectivamente ($p < 0,05$). Porém, não foram observadas diferenças significativas quando esses grupos foram comparados quanto à soroproteção: 51% vs 54% (IDILMAN *et al*, 2002).

Ainda em relação aos pacientes com hepatite C, a resposta à vacinação contra a hepatite B parece ser significativamente menor em pacientes com cirrose quando comparados a não cirróticos. (IDILMAN *et al*, 2002; DE MARIA *et al*, 2001)

No Brasil, tem sido variável a prevalência do anti-HBc isolado de acordo com a região estudada. Há alguns anos atrás ela chegava a 50% na Amazônia (STRAUSS, 1995). Em Campinas, no início da década de 90, essa positividade chegou a cerca de 11% (GONÇALES JR. *et al*, 1993), contra 16,4% observada no Rio de Janeiro (LEITE *et al*, 1992). Atualmente, no Hemocentro Campinas, 4 a 5% dos doadores são positivos para o anti-HBc. Como os pacientes anti-HBc reagentes podem apresentar infecção oculta pelo VHB, procuramos avaliar a ocorrência dessa infecção na nossa população de baixo risco, constituída pelos doadores de sangue. Havendo um potencial de transmissão do VHB por indivíduos com padrão sorológico anti-HBc isolado, procuramos avaliar, através da PCR, se a vacinação seria capaz de levar os pacientes com DNA-VHB positivo a eliminar esse VHB residual. Como se sabe, esses indivíduos anti-HBc isoladamente reagentes podem soroconverter quando recebem vacinação contra a hepatite por vírus B. Essa conduta poderia ser usada para diminuir a transmissão do VHB em áreas altamente endêmicas, como é o caso da região norte do país.

Como a infecção oculta pelo VHB ocorre com maiores freqüências entre pacientes com HVC crônica, avaliamos também uma amostra com esses pacientes, por representarem um grupo de alto risco. Ao final, comparamos os resultados das ocorrências de infecção oculta pelo VHB, de soroconversão para o anti-HBs e de negatificação do DNA-VHB nos grupos com diferentes graus de risco para aquisição de hepatites virais.

2 - OBJETIVOS

1. Determinar os perfis sorológicos e a frequência de falso-positivos entre doadores de sangue anti-HBc reagente bloqueados em serviços de hemoterapia;
2. Determinar a prevalência da infecção oculta pelo VHB em doadores de sangue HBsAg negativo/anti-HBc reagente e em pacientes com esse perfil infectados pelo VHC
3. Pesquisar a soroconversão para o anti-HBs e a negatificação do DNA do VHB entre doadores de sangue e pacientes com hepatite C isoladamente reagentes para o anti-HBc após a vacinação.

3 - CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 - CASUÍSTICA

Este estudo iniciou-se em janeiro de 1999 e estendeu-se até setembro de 2003, período no qual foram avaliados, no Ambulatório do Grupo de Estudo das Hepatites Virais da Disciplina de Doenças Transmissíveis do Departamento de Clínica Médica da FCM – UNICAMP, 587 doadores de sangue provenientes do Hemocentro Campinas que foram bloqueados na triagem sorológica desse serviço por apresentarem positividade para o anti-HBcAg, quando da primeira doação de sangue. Todos eram não reagentes para o HBsAg, anti-HCV e anti-HIV e haviam sido aprovados na triagem médica.

Na primeira abordagem ambulatorial esses doadores foram orientados sobre o resultado dos exames de triagem do banco de sangue e sobre a proposta de receberem a vacinação contra a hepatite B, se fossem anti-HBc isoladamente reagentes, em nova investigação laboratorial. Esse protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

Nessa primeira fase do estudo os doadores foram identificados de acordo com nome, procedência, sexo, idade e cor. Todos eles responderam a um questionário específico, contendo perguntas relacionadas com as hepatites virais, com o objetivo de avaliar seu comportamento sexual, a ocorrência de transfusões sanguíneas no passado, o uso de agulhas ou seringas não descartáveis, práticas de acupuntura ou tatuagem, o uso de drogas ilícitas por via endovenosa ou inalatória e a ocorrência de episódios de icterícia prévia (Apêndice 1). Essas entrevistas foram realizadas por uma única investigadora. Ainda no dia da primeira consulta, no próprio Ambulatório, foram coletadas amostras de sangue em 2 tubos do tipo vacutainer, devidamente etiquetados, sendo um deles encaminhado ao Laboratório Central do HC-UNICAMP para a realização dos seguintes exames:

- Testes bioquímicos: AST, ALT, gama-GT, fosfatase alcalina e hemograma;
- Pesquisa dos marcadores da hepatite B: HBsAg, anti-HBcAg e anti-HBsAg quantitativo. Os marcadores HBeAg e anti-HBeAg somente foram pesquisados nos pacientes anti-HBcAg reagentes que eram anti-HBs não reagentes.

Um outro tubo, após a retração do coágulo, foi centrifugado à temperatura ambiente e o soro distribuído em duas alíquotas de 1,5 mL, armazenadas em freezer a -20°C, para proceder-se à pesquisa do DNA do VHB pelo teste da PCR.

Após os resultados da sorologia para a hepatite B, comunicamos através de carta pessoal o resultado das sorologias e solicitamos aos pacientes com resultado anti-HBc reagente/anti-HBs não reagente que retornassem ao Ambulatório para serem vacinados em dia pré-determinado (Apêndice 2).

Ao final, tivemos três grupamentos distintos: um grupo de doadores de sangue que eram anti-HBc não reagentes segundo a pesquisa realizada em nosso serviço, que provavelmente eram falso positivos (grupo A). Esses foram esclarecidos e receberam alta ambulatorial. Os outros pacientes anti-HBc reagentes foram subdivididos em dois grupos (grupos B e C), de acordo com a presença do anti-HBs. O grupo B foi constituído por doadores de sangue anti-HBc reagente/Anti-HBs reagente e foram igualmente esclarecidos e tranqüilizados quanto ao fato de terem sido bloqueados na triagem sorológica do Hemocentro. Depois disso também receberam alta ambulatorial.

O grupo C foi constituído por doadores de sangue anti-HBc reagente/anti HBs não reagente. Nesses pacientes foi realizada a pesquisa do DNA do VHB, utilizando o soro estocado da primeira coleta, pela técnica da PCR “in house”. As amostras positivas para o DNA do VHB foram submetidas posteriormente à pesquisa do DNA do VHB quantitativo, utilizando-se um teste comercial (Amplicor HBV Monitor, Roche Diagnostic Systems, Branchburg, NJ).

Em 50 pacientes do grupo B, selecionados aleatoriamente, também foi realizada a pesquisa do DNA do VHB, pela PCR “in house”.

Quando do retorno dos pacientes do grupo C, administrávamos a primeira dose (D1) da vacina Engerix B®. Na época da segunda dose (D2) da vacina, cerca de 30 dias após D1, coletávamos nova amostra de sangue para realizar novas pesquisas do anti-HBs e do DNA do VHB. Os pacientes que soroconverteram após D1 não receberam doses adicionais da vacina. A segunda dose foi administrada aproximadamente 1 mês após D1 e a

terceira dose (D3) 5 meses após D2. Nos doadores que apresentaram-se positivos para o DNA do VHB na amostra pré-vacinal, novas pesquisas foram realizadas pelo teste da PCR após os mesmos receberem a vacinação.

Foi selecionado também um grupo HBsAg negativo, anti-HBc reagente/anti-HBs não reagente/HCV reagente, constituído por 50 pacientes que estavam sendo seguidos no Ambulatório das Hepatites Virais do HC da Unicamp, com o objetivo de pesquisar nos mesmos a presença de infecção oculta pelo vírus da hepatite B, por representarem um grupo de maior risco para a aquisição de hepatite B do que o grupo dos doadores de sangue. Esses pacientes receberam vacinação contra o vírus da hepatite B e pesquisou-se a soroconversão e a negatificação do DNA-VHB. A vacinação foi realizada como no grupo C, porém esses pacientes receberam todas as 3 doses da vacina, independentemente da soroconversão. Assim foi constituído o grupo D, com 22 pacientes que responderam à convocação e completaram o esquema vacinal. Desses, 10 eram DNA do VHB positivos e 12 eram DNA do VHB negativos.

Para efeito de comparação com o grupo D, selecionamos um grupo de pacientes HBsAg negativo, anti-HBc não reagente/HCV reagente que igualmente estava sendo seguido em nosso ambulatório. Esse grupo, denominado E, foi constituído por 26 pacientes que também completaram o esquema vacinal.

As características dos diferentes grupos estão colocadas no Quadro 1.

Quadro 1 - Características dos diferentes grupos estudados

Grupo	HBsAg	Anti-HBc	Anti-HBs	Anti-HCV	Vacina	DNA-VHB
A (n=90)	Negativo	Não reagente	Não reagente	Não reagente	Não	N.R.
B (n=357)	Negativo	Reagente	Reagente	Não reagente	Não	Sim
C (n=140)	Negativo	Reagente	Não reagente	Não reagente	Sim	Sim
D (n=50)	Negativo	Reagente	Não reagente	Reagente	Sim	Sim
E (n=26)	Negativo	Não reagente	Não reagente	Reagente	Sim	N.R.

N.R. = não realizado

Após cada dose foi quantificado o anti-HBs. Foram classificados como respondedores do tipo primário à vacinação os indivíduos que após D1 apresentaram dosagens de anti-HBs entre 10 a 100 mUI/mL. Os pacientes que após D1 apresentaram dosagens de anti-HBs superiores a 100 mUI/mL foram classificados como apresentando resposta do tipo anamnésica (“booster”).

Definimos a resposta vacinal de acordo com a quantificação do anti-HBs após 3 doses de vacina e classificamos os pacientes em: não respondedores – soro não reagente (S.N.R.) – (anti-HBs < 10 mUI/mL), pacientes com soroconversão (anti-HBs 10 – 99 mUI/mL) e pacientes com soroproteção (anti-HBs $\geq$ 100 mUI/mL).

3.2 - MÉTODOS

3.2.1 - Testes sorológicos

A pesquisa dos marcadores da hepatite B HBsAg, anti-HBc, anti-HBs, HBeAg e Anti-HBe, foi realizada através de um imunoensaio enzimático de micropartículas (MEIA) de terceira geração utilizando-se o analisador automático AXSYM (ABBOTT Laboratories, North Chicago, IL). Os detalhes técnicos encontram-se no Apêndice 3.

3.2.1.1 - Determinação do Antígeno de Superfície do Vírus da Hepatite B (HBsAg)

A presença ou ausência de HBsAg na amostra foi determinada pela comparação da taxa de formação de produto fluorescente com uma taxa de cutoff determinada a partir de uma calibração. Se a taxa de formação de produto fluorescente da amostra for superior ou igual à taxa de cutoff, a amostra é considerada reativa para o HBsAg.

3.2.1.2 - Determinação Quantitativa do Anticorpo para o Antígeno de Superfície do Vírus da Hepatite B (Anti-HBs)

A concentração de Anti-HBs na amostra foi determinada usando-se uma curva de calibração feita previamente. Se a concentração da amostra fosse igual ou superior a 10 mUI/mL, a amostra era considerada reativa.

3.2.1.3 - Determinação do Anticorpo contra o Antígeno “Core” do Vírus da Hepatite B (Anti-HBc)

A presença ou ausência de Anti-HBc na amostra foi determinada pela comparação da taxa de formação de produto fluorescente com uma taxa de cutoff determinada a partir de uma calibração. Se a taxa de formação de produto fluorescente da amostra fosse inferior ou igual à taxa de cutoff, a amostra era considerada reativa para o Anti-HBc.

3.2.1.4 - Determinação do Antígeno “e” do Vírus da Hepatite B (HBeAg)

A presença ou ausência de HBeAg na amostra foi determinada pela comparação da taxa de formação de produto fluorescente com uma taxa de cutoff determinada a partir de uma calibração. Se a taxa de formação de produto fluorescente da amostra fosse superior ou igual à taxa de cutoff, a amostra era considerada reativa para o HBeAg.

3.2.1.5 - Determinação do Anticorpo para o Antígeno “e” do Vírus da Hepatite B (Anti-HBe)

A presença ou ausência do Anti-HBe na amostra foi determinada pela comparação da taxa de formação de produto fluorescente com uma taxa de cutoff determinada a partir de uma calibração. Se a taxa de formação de produto fluorescente da amostra fosse inferior ou igual à taxa de cutoff, a amostra era considerada reativa para o Anti-HBe.

3.2.2 - Testes bioquímicos

Os testes bioquímicos realizados foram as dosagens das aminotransferases (AST e ALT), da Gama GT e Fosfatase Alcalina.

Essas dosagens foram realizadas através de um ensaio cinético quantitativo a 37°C, utilizando-se o analisador automático Hitachi 917 (Roche Laboratories). Os detalhes técnicos estão descritos no Apêndice 4.

3.2.2.1 - Dosagens das aminotransferases

3.2.2.1.1 - Alanina Aminotransferase (ALT)

O resultado foi expresso em Unidades/Litro (U/L) e o valor de referência, de até 40 U/L para homens e até 30 U/L para mulheres.

3.2.2.1.2 - Aspartato Aminotransferase (AST)

O resultado foi expresso em Unidades/Litro (U/L) e o valor de referência, de até 37 U/L para homens e até 31 U/L para mulheres.

3.2.2.2 - Dosagem da Gama Glutamiltransferase (GGT)

O resultado foi expresso em Unidades/Litro (U/L) e o valor de referência de 9 a 40 U/L para homens e de 9 a 35 U/L para mulheres.

3.2.2.3 - Determinação da Fosfatase Alcalina (ALP)

O resultado foi expresso em Unidades/Litro (U/L) e o valor de referência, de até 269 U/L para homens e até 239 U/L para mulheres.

3.2.3 - Análise molecular

3.2.3.1 - Teste da PCR “in House”

A pesquisa do DNA do vírus da hepatite B foi realizada pela técnica da PCR descrita por KANEKO, FEINSTONE, MILLER (1990), por nós modificada.

3.2.3.1.1 - Preparação da Amostra:

10 µL de soro foi pipetado em um tubo de microcentrifuga de 0,5 mL e incubado com 2,5 µL de NaOH 0,5 N a 37°C por 60 minutos. Após esse período de incubação a solução foi neutralizada com adição de 2,5 µL de HCl 0,5 N. Essa amostra foi utilizada para amplificação.

3.2.3.1.2 - Primers:

Foram utilizados 2 pares de primers, sendo:

1763 5'-GCTTTGGGGCATGGACATTGACCCGTATAA-3' (sense)

2032 R 5'-CTGACTACTAATTCCCTGGATGCTGGGTCT-3' (anti-sense)

1778-E 5'-GACGAATTCCATTGACCCGTATAAAGAATT-3' (sense)

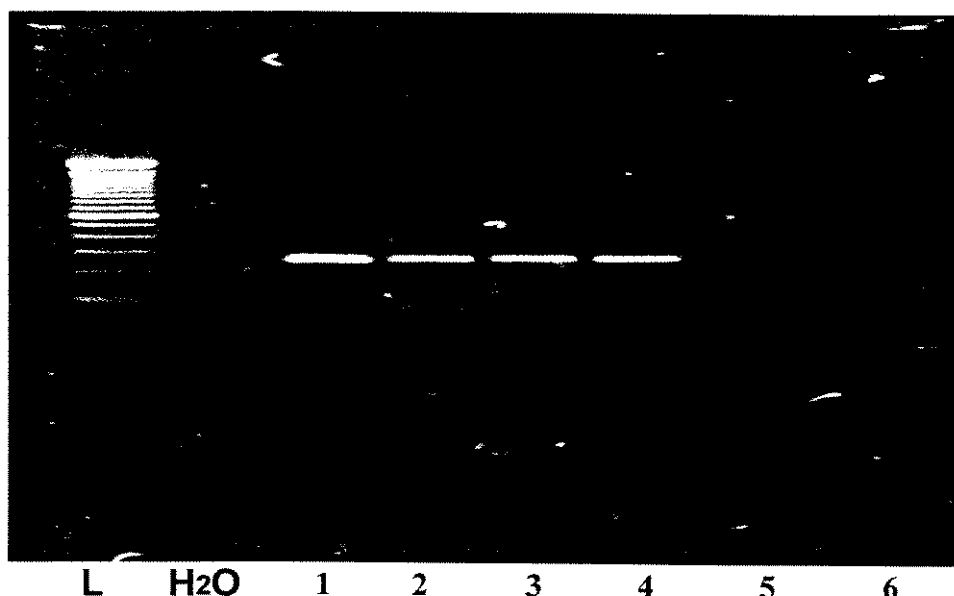
2017R-B 5'-ATGGGATCCCTGGATGCTGGGTCTTCCAAA-3' (anti-sense)

3.2.3.1.3 - Reação em cadeia da polimerase (PCR)

O DNA foi amplificado em 100 µL da solução que continha 2,5 U de Taq polimerase (Bethesda Research Laboratories, Life Technologies Inc., Gaithersburg, Maryland), 200µM de cada desoxinucleotídeo trifosfato, 1 µM de cada primer

(1763 e 2032R), 50 mM KCl, 50 mM Tris – HCl (pH-8,3), 1,5 mM MgCl₂. A reação foi submetida a 25 ciclos com variação de temperatura, em um termociclador (Perkin Elmer Cetus, Foster City, Ca, USA) – inicialmente, à temperatura de 94°C por 1 minuto e 30 segundos para a desnaturação das moléculas de cadeias duplas do DNA e resfriamento a 42°C por 1 minuto e 30 segundos, intervalo esse que permitiria o anelamento do primer com sua respectiva cadeia de DNA. Finalmente, foi feita a incubação por 3 minutos a 72°C, temperatura ótima para a atividade da polimerase com conseqüente extensão da cadeia do DNA. Ao final da primeira reação de PCR, 10 µL do produto foi reamplificado (nested), substituindo-se apenas os primers 1778-E e 2017 R-B.

Uma alíquota de água foi utilizada como controle negativo da reação. Uma amostra de soro de um indivíduo HBsAg reagente pela reação de ELISA e quantificada pelo teste de PCR quantitativo (Amplicor HBV Monitor Roche Diagnostic Systems, Branchburg, NJ), contendo $4,0 \times 10^2$ cópias/mL, foi utilizada como controle positivo. A padronização da técnica e determinação do limite mínimo de detecção do método foi feita utilizando-se amostras em diluições seriadas do painel HBsAg *low Titer Performance Panel* (PHA 105 – Boston Biomedica INC, MA). Foi possível estabelecer o limite mínimo de detecção do método de PCR “in house” utilizado em nosso estudo em 10^2 cópias/mL. O produto final foi então examinado por Eletroforese em gel de agarose a 1,8% contendo Brometo de Etídio em seu preparo, visualizado sob luz ultravioleta e fotografado com uma Polaroid (Figura 2).



LEGENDA:

- L** - Ladder
- H2O** - Controle Negativo (H2O)
- 1** - Paciente - DNA-VHB (+)
- 2** - Paciente - DNA-VHB (+)
- 3** - Paciente - DNA-VHB (+)
- 4** - Paciente - DNA-VHB (+)
- 5** - Paciente - DNA-VHB (-)
- 6** - Paciente - DNA-VHB (-)

Figura 2 - Fotografia da PCR do DNA do VHB em gel de agarose 1,8% com brometo de etídio, visualizado por luz U.V.

3.2.3.2 - Teste da PCR Amplicor Monitor (Roche Laboratories)

O teste da PCR foi realizado nas amostras de pacientes positivos para o DNA do VHB pelo teste de PCR “in house”. Esse teste baseia-se em quatro processos principais:

3.2.3.2.1 - Preparação da amostra;

3.2.3.2.2 - Amplificação do DNA alvo por PCR usando iniciadores complementares específicos do VHB;

3.2.3.2.3 - Hibridização dos produtos amplificados por sondas oligonucleotídicas específicas do(s) alvo(s);

3.2.3.2.4 - Detecção dos produtos amplificados e fixos à sonda por determinação colorimétrica.

O teste automatizado utilizado em nosso estudo (Amplicor HBV Monitor Roche Diagnostic Systems, Branchburg, NJ) possuía um limite mínimo de detecção de 10^3 cópias/mL.

Os detalhes técnicos encontram-se no Apêndice 5.

3.2.4 - Vacina contra o vírus da hepatite B

O esquema proposto para a vacinação consistia em três doses, aplicadas com intervalo de 30 e 180 dias (de intervalo inicial), pela via intramuscular.

Utilizamos a vacina produzida por engenharia genética Engerix B, que contém 20 ug/mL de HBsAg. A vacina foi aplicada no músculo deltóide na dose de 20 µg (1,0 mL). A aplicação foi realizada de acordo com os procedimentos técnicos recomendados.

4 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

4.1 - METODOLOGIA ESTATÍSTICA

Para descrever o perfil da amostra, segundo as diversas variáveis em estudo, foram feitas tabelas de frequência das variáveis categóricas (sexo, raça, etc.) e estatísticas descritivas (média, desvio padrão, mínimo e máximo) das variáveis contínuas (idade, parâmetros bioquímicos, etc.).

Para comparar as variáveis categóricas entre grupos foi utilizado o teste Qui-Quadrado ou, quando necessário (valores esperados menores que 5), o teste exato de Fisher. Para analisar a evolução da soroconversão e a negatificação do DNA entre os momentos de vacinação foi utilizado o teste de McNemar. Para a estimativa da prevalência de soroconversão em D1 foi utilizado o intervalo de confiança de 95% para proporção.

Para comparar as variáveis contínuas entre os grupos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis.

O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5%, ou seja, $p < 0,05$.

5 - RESULTADOS

5.1 - PRIMEIRA FASE

Dos 587 doadores de sangue anti-HBc reagente (Anexo 3) re-testados pelo método de ELISA, 90 (15,3%) apresentaram-se anti-HBc não reagentes, sendo prováveis falso positivos (Grupo A) e 497 (84,7%) apresentaram-se repetidamente reagentes para o anti-HBc. Desses, 357 (71,8%) apresentaram-se anti-HBs reagentes (Grupo B) e 140 (28,2%), anti-HBs não reagentes, sendo portanto classificados como anti-HBc isoladamente reagentes (Grupo C), segundo é mostrado no Quadro 2.

A relação completa desses doadores está apresentada nos apêndices 6, 7 e 8, respectivamente, com os resultados da sorologia para hepatite B, das provas bioquímicas, idade, sexo, cor e provável grupo de risco.

Como se nota no Quadro 2, o grupo A apresentou 52 (57,8%) indivíduos do sexo masculino, sendo 69 (76,7%) de cor branca e com média de idade de $32,4 \pm 10,6$ anos. O grupo B apresentou 241 (67,5%) indivíduos do sexo masculino, sendo 225 (63%) de cor branca e com média de idade de $38 \pm 9,8$ anos. O grupo C apresentou 102 (72,9%) indivíduos do sexo masculino, sendo 99 (70,7%) de raça branca e com média de idade de $39,3 \pm 10,7$ anos. A análise estatística demonstrou que não há diferença significativa entre os grupos com relação ao sexo ($p=0,101$; Teste Qui-Quadrado). Há diferença significativa quanto à raça ($p=0,023$; χ^2), com predomínio da raça branca no grupo A. Houve taxas significativamente maiores de pardos e negros nos grupos B e C quando comparadas às do grupo A. O grupo A apresentou menor idade com relação aos outros grupos. ($p<0,001$; χ^2).

Quadro 2 - Características dos doadores de sangue anti-HBc reagente encaminhados para avaliação (n=587)

Grupos	Doadores		Sexo M		Cor Branca		Idade (anos)
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Grupo A							
anti-HBc(-)/anti-HBs(-)	90	(15,3)	52	(57,8)	69	(76,7)	32,4±10,6
Grupo B							
anti-HBc(+)/anti-HBs(+)	357	(60,8)	241	(67,5)	225	(63)	38 ± 9,8
Grupo C							
anti-HBc(+)/anti-HBs(-)	140	(23,9)	102	(72,9)	99	(70,7)	39,3±10,7

No Quadro 3, pode-se observar os fatores de risco para a aquisição do VHB nos grupos estudados. No grupo A, 5 (5,6%) apresentaram risco para a aquisição do VHB por sangue, 3 (3,3%) por via sexual, 1 (1,1%) por via sangue/sexual e em 81 (90%) não foi possível caracterizar a presença de um possível fator de transmissão. No grupo B, 31 (8,7%) podem ter sido contaminados via sangue, 67 (18,8%) via sexual, 7 (2,0%) via sangue/sexual, 7 (2,0%) por contato domiciliar não sexual e em 245 (68,6%) não foi possível caracterizar a via de transmissão. No grupo C, 13 (9,3%) por via sangue, 31 (22,1%) por via sexual, 9 (6,4%) por via sangue/sexual, 3 (2,1%) por contato domiciliar não sexual e em 60% não foi possível caracterizar uma via de transmissão ($p<0,001$; χ^2).

Quadro 3 - Presença de fatores de risco para HVB entre os doadores de sangue anti-HBc reigente

Grupos	Sangue		Sexual		Sangue/sexual		Domiciliar não sexual		Desconhecida	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	%	N	%
Grupo A										
anti-HBc(-)/anti-HBs(-) (n=90)	5	5,6	3	3,3	1	1,1	-	-	81	90
Grupo B										
anti-HBc(+)/anti-HBs(+) (n=357)	31	8,7	67	18,8	7	2,0	7	2,0	245	68,6
Grupo C										
anti-HBc(+)/anti-HBs(-) (n=140)	13	9,3	31	22,1	9	6,4	3	2,1	84	60

Em relação aos exames bioquímicos realizados a AST apresentou-se elevada em 5/90 (5,6%) no grupo A, 10/357 (2,8%) no grupo B e 7/140 (5,0%) no grupo C ($p=0,327$; Teste Qui-Quadrado). A ALT apresentou-se elevada em 6/90 (7,0%) no grupo A, 27/357 (7,6%) no grupo B e 8/140 (5,7%) no grupo C ($p=0,327$, χ^2). A ALP apresentou-se elevada em 1/90 (1,1%) no grupo A, 19/357 (5,3%) no grupo B e 9/140 (6,4%) no grupo C ($p=0,128$; χ^2). A GGT apresentou-se elevada em 11/90 (12,2%) doadores do grupo A, 64/357 (17,9%) doadores do grupo B e 33/140 (23,6%) doadores do grupo C ($p=0,074$, χ^2) (Quadro 4).

Quadro 4 - Perfil bioquímico dos doadores de sangue anti-HBc reagente

Grupos	q AST>1		q ALT>1		q ALP>1		q GGT>1	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Grupo A								
anti-HBc(-)/anti-HBs(-) (n=90)	5	5,6	6	7,0	1	1,1	11	12,2
Grupo B								
anti-HBc(+)/anti-HBs(+) (n=357)	10	2,8	27	7,6	19	5,3	64	17,9
Grupo C								
anti-HBc(+)/anti-HBs(-) (n=140)	7	5,0	8	5,7	9	6,4	33	23,6

5.2 - SEGUNDA FASE

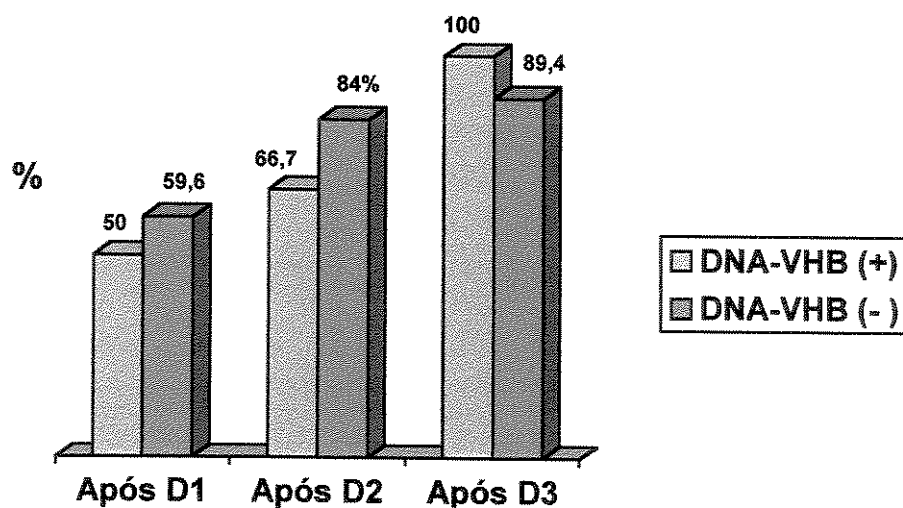
Dos 140 doadores de sangue do grupo C, 100 atenderam à convocação para participar do projeto e realizou-se a pesquisa do DNA do VHB pela PCR, no soro. Como observamos na Tabela 1, 4% (6/150) dos doadores de sangue HBsAg negativo/anti-HBc reagente (grupos B e C) apresentaram positividade para o DNA do VHB no soro. Quando analisamos o grupo B (anti-HBs reagente) não encontramos nenhum caso de positividade para o DNA-VHB. Quando analisamos o grupo de doadores de sangue do grupo C (anti-HBs não reagente), 6% (6/100) apresentaram positividade para o DNA do VHB no soro ($p=0,179$; Teste exato de Fisher).

Após D1 observou-se soroconversão para o anti-HBs em 3/6 (50%) pacientes que eram DNA do VHB (+) e em 56/94 (59,6%) pacientes DNA do VHB (-) ($p=0,687$; Teste exato de Fisher). Após D2, do total de vacinados apresentaram soroconversão 4/6 (66,7%) com DNA do VHB (+) e 79/94 (84%) DNA do VHB (-) ($p=0,269$; Teste exato de Fisher). Após D3, houve soroconversão acumulada em 6/6 (100%) pacientes com DNA do VHB (+) e em 84/94 (89,4%) DNA do VHB (-) ($p=1,0$; Teste exato de Fisher). No final, 10/94 (10,6%) DNA do VHB (-) não soroconverteram após D3 (Figura 3).

Os 6/6 (100%) doadores de sangue DNA do VHB (+) pré-vacinal tornaram-se DNA do VHB (-) após D1, D2 e D3.

Tabela 1 - Resultados da pesquisa do DNA-VHB entre doadores de sangue HBsAg negativo/anti-HBc reagente

Grupos	DNA-VHB(+)		DNA-VHB(-)		Total	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
Grupo C anti-HBc(+)/anti-HBs(-)	6	(6)	94	(94)	100	(100)
Grupo B anti-HBc(+)/anti-HBs(+)	-	-	50	(100)	50	(100)
Total	6	(4)	144	(96)	150	(100)



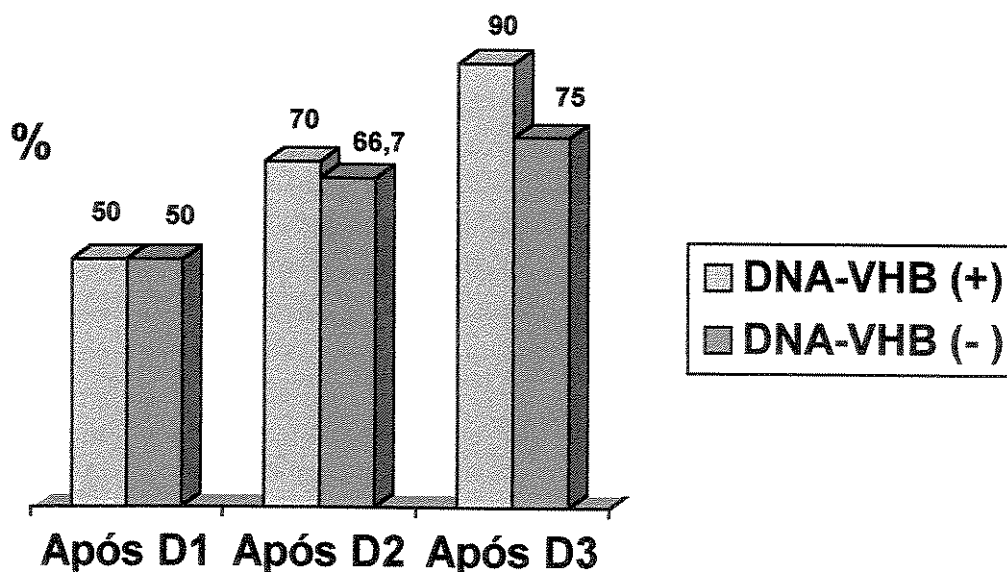
$p > 0,05$

Figura 3 - Soroconversão para o anti-HBs após estimulação vacinal dos doadores anti-HBc reagentes (Grupo C), de acordo com a presença ou ausência do DNA-VHB

5.3 - TERCEIRA FASE

No grupo D, a pesquisa do DNA do VHB feita em soro foi positiva em 12/50 (24%) dos pacientes.

Nesse grupo, após D1 observou-se soroconversão para o anti-HBs em 5/10 (50%) pacientes DNA do VHB (+) e em 6/12 (50%) DNA do VHB (-) ($p=1,0$; Teste de Qui-Quadrado). Após D2 haviam soroconvertido 7/10 (70%) pacientes DNA do VHB (+) e 8/12 (66,7%) DNA do VHB (-), ($p=1,0$; Teste exato de Fisher). Após D3, houve soroconversão acumulada em 9/10 (90%) pacientes DNA do VHB (+) e em 9/12 (75%) DNA do VHB (-) ($p=0,594$; Teste exato de Fisher). Do total, 1/10 (10%) paciente DNA do VHB (+) e 3/12 (25%) pacientes DNA do VHB (-) não soroconverteram após D3 (Figura 4).



$p>0,05$

Figura 4 - Soroconversão para o anti-HBs em pacientes com HCV (Grupo D) após estimulação vacinal de acordo com a presença ou ausência do DNA-VHB no soro

Em relação à negatificação do DNA-VHB nos pacientes com VHC notamos que, após D1, 7/9 (77,8%) deles tornaram-se DNA do VHB (-), 2/9 (22,2%) continuaram DNA do VHB (+) e em 1 paciente não foi possível realizar essa pesquisa. Após D2, 7/8 (87,5%) pacientes tornaram-se DNA do VHB (-), 1/8 (12,5%) permaneceu positivo e em 2 pacientes não foi possível realizar essa pesquisa. Após D3, 9/10 (90%) tornaram-se DNA do VHB (-) e 1/10 (10%) permaneceu positivo. Portanto, 1/10 (10%) paciente permaneceu DNA do VHB (+) após as três doses da vacina.

Assim, dos 10 pacientes infectados pelo VHC que eram positivos para a presença do DNA do VHB observamos a negatificação respectivamente em 77,8% (IC 95%: 50,6% - 100%); 87,5% (IC 95%: 64,6% - 100%) e 90% (IC 95%: 71,4% - 100%), após D1, D2 e D3 (Figura 5).

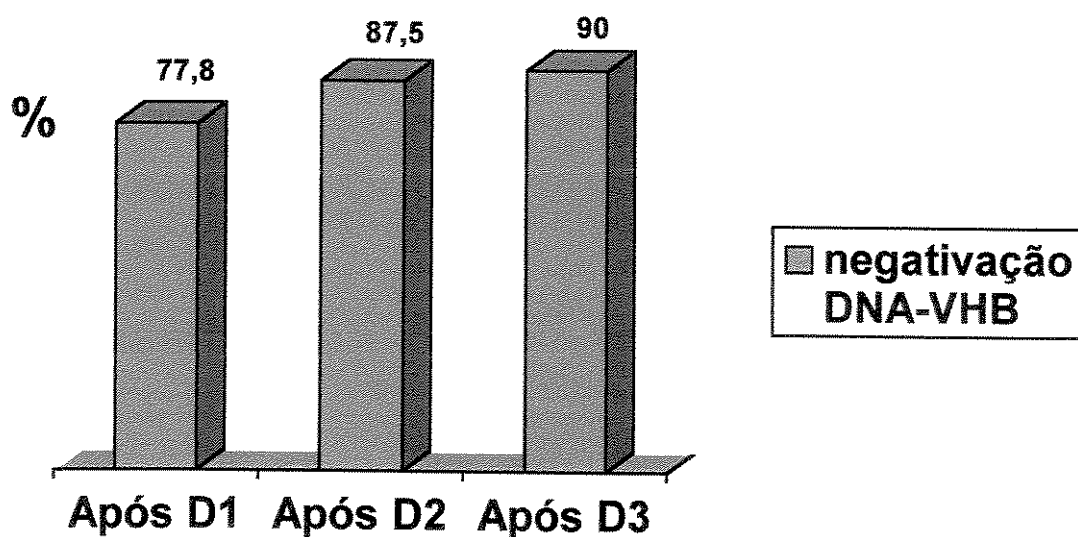
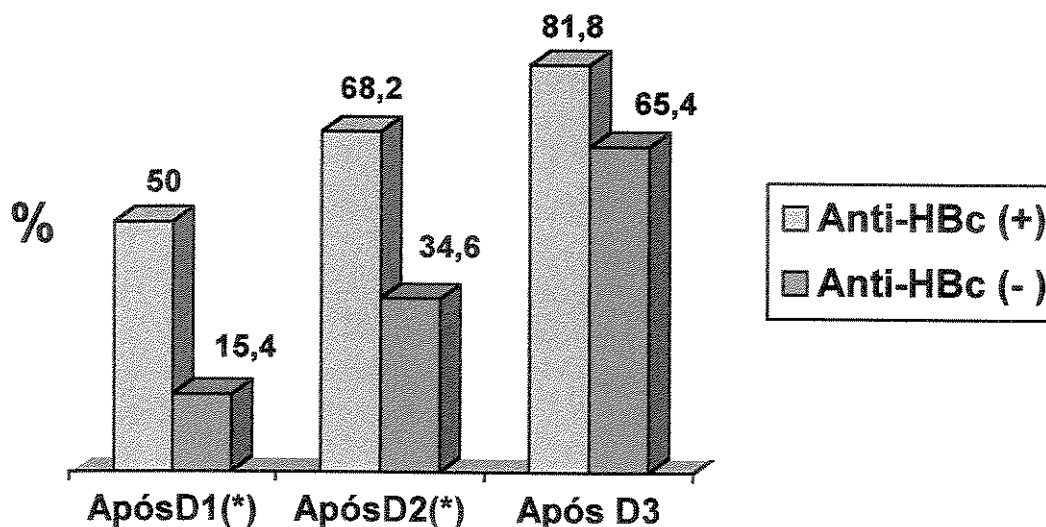


Figura 5 - Negatificação do DNA-VHB entre pacientes anti-HBc isoladamente reagentes, co-infectados com o VHC (grupo D), após estimulação vacinal

No grupo E, após D1, houve soroconversão em 4/26 (15,4%; IC 95%: 1,5% - 29,3%); após D2, em 9/26 (34,6%; IC 95%: 16,3 - 52,9%); e após D3, em 17/26 (65,4%; IC 95%: 47,1% - 83,7%). Portanto, 17/26 (65,4%) apresentaram soroconversão acumulada, sendo que 9/26 (34,6%) pacientes não apresentaram soroconversão.

Entre os 48 pacientes com hepatite C (grupos D+E), após D1 observou-se que 15 (31,2%) soroconverteram para o anti-HBs. Após D2 24/48 (50%) soroconverteram e após D3 35/48 (72,9%) apresentaram soroconversão acumulada.

Comparando-se os resultados dos grupos D e E, após D1 observou-se soroconversão para o anti-HBs em 11/22 (50%) pacientes do grupo D e em 4/26 (15,4%) pacientes do grupo E ($p=0,010$; χ^2). Após D2 haviam soroconvertido 15/22 (68,2%) pacientes do grupo D e 9/26 (34,6%) pacientes do grupo E ($p=0,020$; χ^2). Após D3 houve soroconversão acumulada em 18/22 (81,8%) pacientes do grupo D e em 17/26 (65,4%) pacientes do grupo E ($p=0,202$). Esses resultados podem ser vistos na Figura 6.

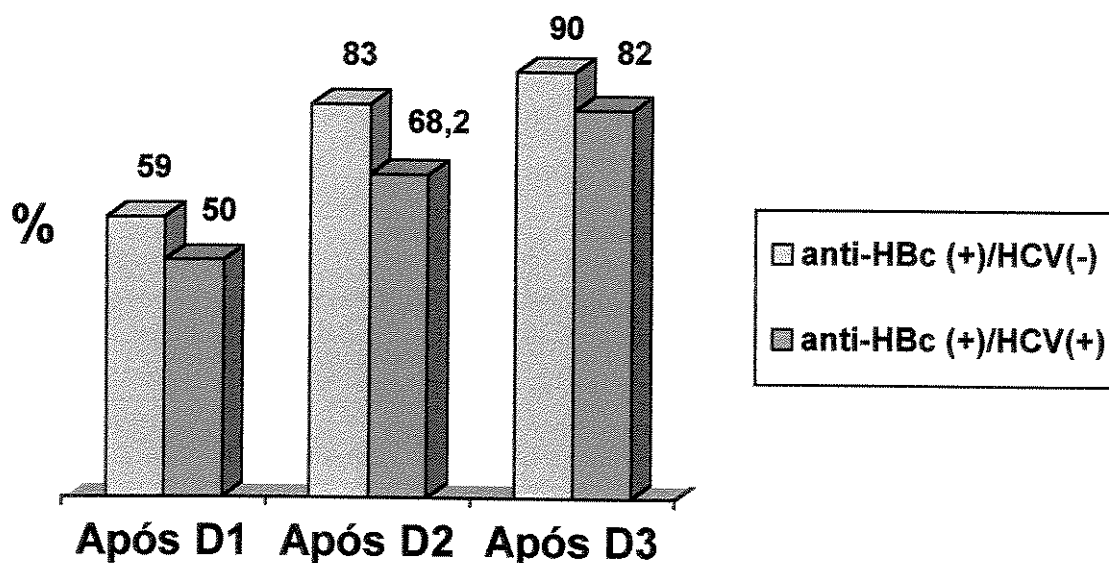


* ($p=0,01$ / $p=0,02$); χ^2)

Figura 6 - Comparação da soroconversão para o anti-HBs em pacientes com HCV de acordo com a presença ou ausência do anti-HBc

Comparando-se os grupos C e D observa-se que a pesquisa do DNA do VHB, feita em soro coletado antes de D1, foi positiva em 6/100 (6%) pacientes do Grupo C e em 12/50 (24%) pacientes do Grupo D ($p=0,014$; χ^2).

No Grupo C, todos os 100 doadores de sangue receberam a vacina e no grupo D, 22 pacientes (10 DNA do VHB+) a receberam. No total, após D1 observou-se soroconversão em 59/100 (59%) indivíduos do grupo C e em 11/22 (50%) do grupo D. Após D2, 83/100 (83%) indivíduos do grupo C e 15/22 (68,2%) do grupo D soroconverteram. Após D3, 90/100 (90%) indivíduos do grupo C apresentaram soroconversão acumulada, contra 18/22 (82%) do grupo D (Figura 7) ($p>0,05$).



$p>0,05$

Figura 7 - Comparação da soroconversão para o Anti-HBs em pacientes anti-HBc reagentes de acordo com a presença ou ausência de infecção pelo VHC

Após D1, observou-se soroconversão para o Anti-HBs em 3/6 (50%) pacientes do grupo C e em 5/10 (50%) pacientes do grupo D que eram DNA do VHB (+) ($p=1,0$; Teste exato de Fisher), em 56/94 (59,6%) pacientes do grupo C e em 6/12 (50%) pacientes do grupo D que eram DNA do VHB(-) ($p=0,549$; Teste exato de Fisher). Após D2, haviam soroconvertido 4/6 (66,7%) pacientes do grupo C, 7/10 (70%) pacientes do grupo D DNA do VHB(+) ($p=1,0$; Teste exato de Fisher), 79/94 (84%) pacientes do grupo C e 8/12 (66,7%) pacientes do grupo D DNA do VHB (-) ($p=0,222$; Teste exato de Fisher). Após D3, no Grupo C, houve soroconversão acumulada em 6/6 (100%) pacientes e, no grupo D, em 9/10 (90%) pacientes que eram DNA do VHB(+); em 84/94 (89,4%) pacientes do grupo C e 9/12 (75%) pacientes do grupo D que eram DNA do VHB(-) ($p=0,164$; Teste exato de Fisher). No total, 10/94 (10,6%) pacientes que eram DNA do VHB (-) no Grupo C e 3/12 (25%) pacientes que eram DNA do VHB (-) no grupo D não soroconverteram após D3.

No Grupo C, 6 (100%) pacientes DNA do VHB (+) tornaram-se DNA do VHB (-) após as três doses da vacina. No Grupo D, dos 10 pacientes DNA do VHB (+), 9 (90%; IC 95%: 71,4% - 100%) pacientes negativaram após 3 doses da vacina. Esses resultados podem ser visto na Figura 8.

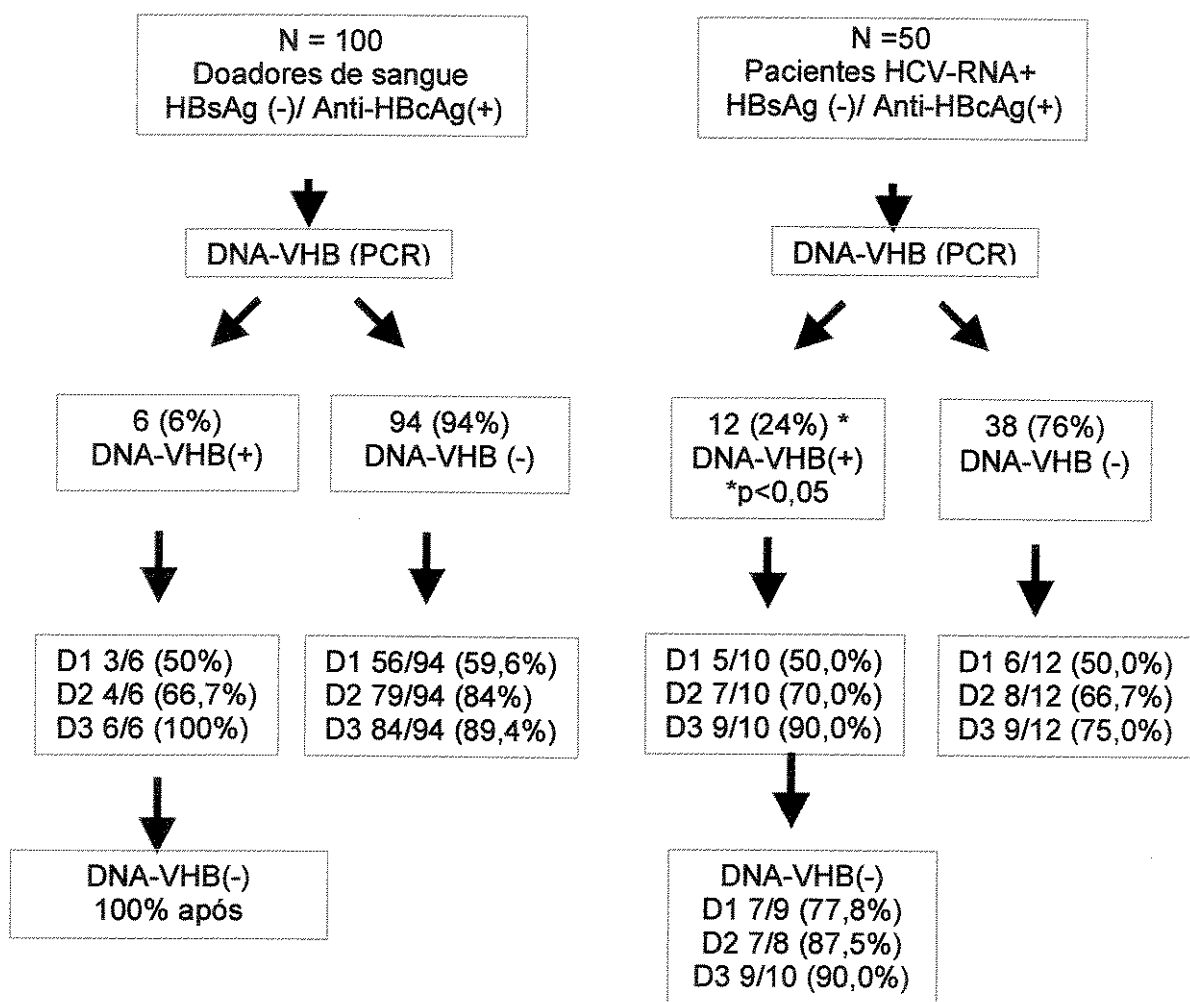
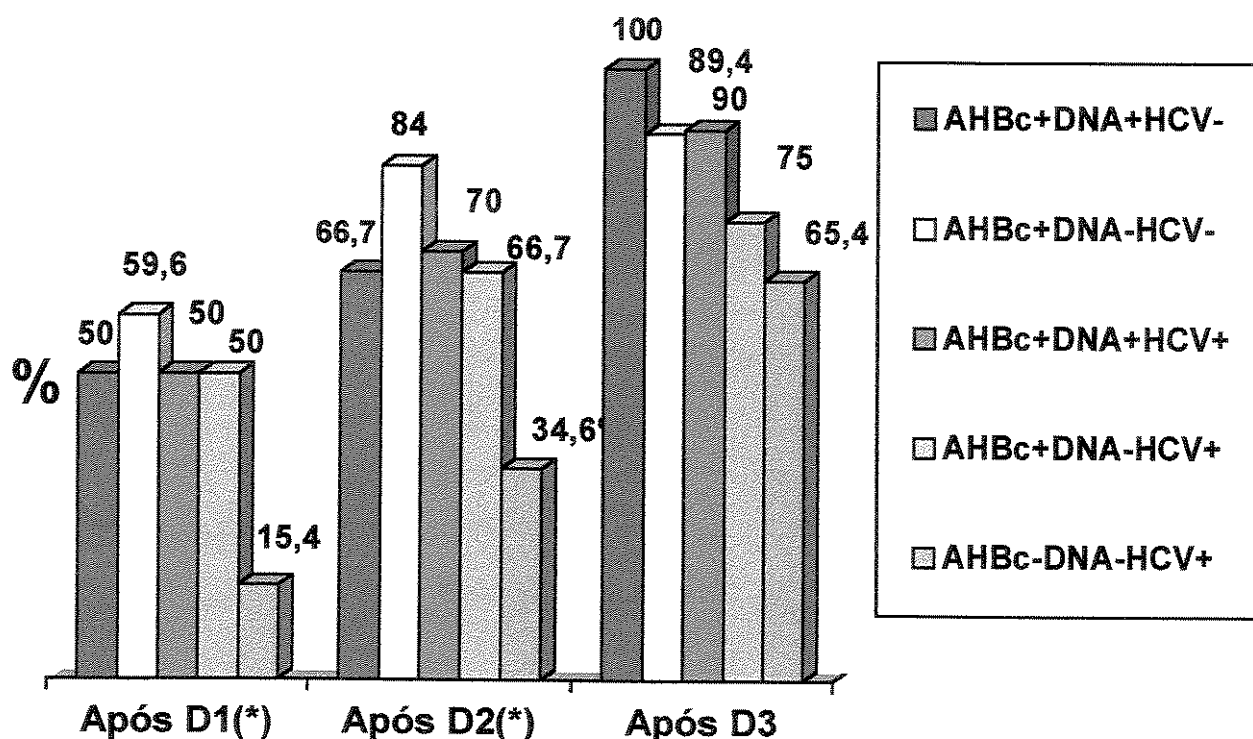


Figura 8 - Soroconversão e negatificação do DNA-VHB em doadores de sangue (Grupo C) e pacientes com HCV/anti-HBc reagentes (Grupo D) após estimulação vacinal

A soroconversão para o anti-HBs nos vários grupos estudados está resumida na Figura 9. Como se observa, houve aumento do percentual de pacientes com soroconversão com o aumento da estimulação vacinal. O grupo E apresentou soroconversão significativamente menor que os demais grupos após D1 ($p=0,025$; Teste exato de Fisher) e D2 ($p=0,004$; Teste exato de Fisher), quando comparado aos demais.



* ($p=0,025$, $p=0,004$; Teste exato de Fisher)

Figura 9 - Soroconversão para o anti-HBs nos diferentes grupos estudados de acordo com a presença ou ausência do DNA do VHB, e do anti-HBc, co-infectados ou não pelo VHC

No Quadro 5 estão listados os resultados relativos ao tipo de resposta vacinal, de acordo com a quantificação do anti-HBs após 1 dose da vacina.

Quando comparamos a resposta vacinal após D1 dos pacientes do grupo C (anti-HBc+/HCV-) com os do grupo D (anti-HBc+/HCV+), notamos que houve respectivamente 41%, 34% e 25% de não respondedores, de respondedores do tipo primário e de respondedores do tipo anamnóstico; contra 50%, 36% e 14%, respectivamente, entre pacientes co-infectados pelo VHC ($p>0,05$). Em relação à resposta do tipo anamnástica, apresentaram-na 25/100 (25%) pacientes anti-HBc(+)/HCV(-), contra 3/22 (13,6%) pacientes anti-HBc(+)/HCV(+) ($p>0,05$).

Quadro 5 - Tipo de resposta vacinal de acordo com a quantificação do anti-HBs após 1 dose da vacina

Anti-HBs	Anti-HBc(+)/HCV(-) n=100	Anti-HBc(+)/HCV(+) n=22	Anti-HBc(-)/HCV(+) N=26
	Grupo C	Grupo D	Grupo E
Não Respondedor < 10mUI/mL	41 (41%)	11 (50%)	22 (85%)
Resposta Primária 10 – 100 mUI/mL	34 (34%)	8 (36%)	2 (7,5%)
Resposta Anamnésica > 100 mUI/mL	25 (25%)	3 (14%)	2 (7,5%)

p>0,05

Os resultados da resposta vacinal de acordo com a quantificação do anti-HBs após três doses da vacina estão listados no quadro 6.

Quadro 6. Resposta vacinal de acordo com a quantificação do anti-HBs após 3 doses da vacina (soroconversão acumulada)

Anti-HBs	AHBc(+)/HCV(-) n=100	Grupo D+E n=48	AHBc(+)/HCV(+) n=22	AHBc(-)/HCV(+) n=26
	Grupo C	HCV(+)	Grupo D	Grupo E
< 10 mUI/mL	10 (10%)	17 (35%)	8 (36,4%)	9 (34,6%)
Não respondedores				
10 a 99 mUI/mL	50 (50%)	11 (23%)	6 (27,3%)	5 (19,2%)
Soroconversão				
>100 mUI/mL	40 (40%)	20 (42%)	8 (36,4%)	12 (46,2%)
Soroproteção				

P<0,05

Como se nota, nos doadores do grupo C observou-se 10%, 50% e 40% de não resposta, soroconversão e soroproteção, respectivamente. Nos pacientes anti-HBc reagentes com HCV (grupo D) essas taxas foram, respectivamente, 36%, 27% e 36% ($p=0,0050$).

Após 3 doses de vacina houve diferença significativa quando se compara os 3 grupos de acordo com o status sorológico para o anti-HBc e o anti-HCV ($p < 0,05$).

Considerando-se apenas os pacientes com hepatite C (grupos D e E), observou-se que 36,4% dos pacientes do grupo D não responderam às 3 doses de vacina, contra 34,6% de não respondedores entre os pacientes do grupo E ($p > 0,05$).

6 - DISCUSSÃO

Estudos em doadores de sangue no Brasil têm mostrado que a prevalência do anti-HBc, até recentemente, era uma das mais altas da América do Sul, atingindo 27,6% em algumas regiões, colocando-nos bem acima dos 5,3% encontrados no Chile e sendo menor, apenas, que a observada na República Dominicana (81%) e no Suriname (37,9%) (HADLERS *et al*, 1987). Em indígenas da Amazônia, o anti-HBc mostra prevalências altíssimas, geralmente maiores que 90% (FRANCO *et al*, 1985). Em um amplo levantamento realizado com mais de 100.000 doadores de sangue nos EUA, a prevalência do anti-HBc variou regionalmente, numa taxa de 0,55 a 6,38%, com uma média obtida de 2,6% (KLINE *et al*, 1987). Quanto aos países europeus, os doadores de sangue exibem prevalências para o anti-HBc de 1,85% na Inglaterra (KITCHEN *et al*, 1988); 1,15% na Noruega (HETLAND *et al*, 1990) e 2,4% na Holanda (KATCHAKI *et al*, 1982). Na Espanha encontrou-se uma prevalência bastante elevada para o anti-HBc, 17,3% (HOYOS *et al*, 1989), o que sem dúvida foge aos padrões do continente. Já no Japão, a prevalência é de 9,7% (OHTO *et al*, 1989), bem próxima da de Campinas (11%) e bastante distante da notificada em Taiwan, que supera a faixa de 80% nos indivíduos adultos (LIN-CHUN *et al*, 1990). Entre os doadores de sangue brasileiros procedentes de São Paulo, observou-se há alguns anos a prevalência de 8,6% no Hospital Israelita Albert Einstein (SOUZA *et al*, 1990) e de 8,8% no Hospital Samaritano (LUZZI *et al*, 1990). Nos hospitais Sírio Libanês e 9 de Julho, na mesma cidade, a prevalência também era alta, atingindo 10,2% (WENDEL *et al*, 1991). No Hospital da Universidade Federal do Rio de Janeiro (RJ), a prevalência era de 14,8% (NOGUEIRA *et al*, 1990). A encontrada no Hemocentro de Campinas situava-se entre esses extremos (GONÇALES *et al*, 1993). Atualmente, de 4 a 5 % dos doadores de sangue são positivos para o anti-HBc em nossa região.

Um relatório de abrangência nacional feito pela ANVISA mostrou que os índices de positividade para o anti-HBc no Brasil, no ano 2000, eram: 8,79% para a região norte; 5,83% para a região nordeste; 3,78% para a sudeste; 3,44% para a centro-oeste e 6,92 para a região sul. A prevalência do anti-HBc, portanto, diminuiu nos últimos anos em nosso país.

Em Campinas, GONÇALES *et al* (1993) observaram que 81,9% dos seus doadores de sangue exibiam o padrão imunológico anti-HBc positivo/anti-HBs positivo. Essa co-positividade é próxima dos 75,8% encontrados nos doadores do Rio de Janeiro (NOGUEIRA *et al*, 1990); dos 80,2% de Ribeirão Preto (DE SANTOS *et al*, 1990); dos 77% encontrados nos EUA (KOZIOL *et al*, 1986; STEVENS *et al*, 1984) e dos 82,15% observados na Espanha (HOYOS *et al*, 1983), demonstrando que a maioria dos doadores anti-HBc positivos, nos bancos de sangue, são indivíduos que foram acometidos pelo VHB no passado.

No presente estudo, avaliamos 587 doadores de sangue provenientes do Hemocentro Campinas, bloqueados na triagem sorológica desse serviço, por apresentarem positividade para o anti-HBc. Ao serem retestados, 15,3% apresentaram-se anti-HBc não reagentes (sendo prováveis falso-positivos), 71,8% apresentaram-se anti-HBs reagentes e 28,2% anti-HBc isoladamente reagentes. Esses dados têm sido historicamente encontrados na população de doadores de sangue da nossa região, sendo, portanto, a casuística representativa de nossa população regional.

Almeida Neto e colaboradores (ALMEIDA NETO *et al*, 2001) observaram uma porcentagem de 16% de doadores de sangue Anti-HBc falso-positivos em São Paulo, semelhante à encontrada em nosso estudo.

Alguns autores consideram que o encontro de altas prevalências para o anti-HBc, pelo método de ELISA, pode dever-se à ocorrência de resultados falso-positivos que necessitam ser confirmados pelo teste de radioimunoensaio (RIE) (HANSON *et al*, 1987; SCHMIDT *et al*, 1988). Outros (TROISI *et al*, 1987) consideram que os testes atuais de RIE e de ELISA, preparados pela tecnologia de DNA recombinante, são comparáveis ao teste original de RIE para a pesquisa do anti-HBc entre os doadores de sangue. Sabemos que a maior incidência de falso-positivos é encontrada no grupo de doadores de sangue com resultados fracamente positivos ou inconclusivos pelo ELISA; por isso, é importante a realização dos testes em duplicata, para que se confirmem os valores obtidos e se diminua o erro inerente à própria técnica. Em nosso serviço, esses testes foram feitos em duplicata e somente quando eram repetidamente reagentes os indivíduos foram considerados positivos.

Em nossa casuística (Quadro 2), a maioria dos doadores de sangue era do sexo masculino (67%), com idade média variando de 32,4 a 39,3 anos. Quando foram analisadas as características dos 3 grupos, notou-se que houve diferença significativa quanto à raça. Houve proporcionalmente mais indivíduos não brancos nos grupos sabidamente positivos para marcadores da hepatite B (grupos B e C) quando comparados aos falso-positivos (grupo A). É lícito supor que o determinante racial não branco associou-se a maiores prevalências do anti-HBc, talvez refletindo fatores econômico-sociais inerentes a esse grupo, que deve estar mais exposto, temporalmente, ao VHB.

É interessante notar que, avaliando uma provável via de transmissão (Quadro 3), em 90% dos falsos positivos não houve caracterização da mesma. Já nos anti-HBs positivos, não foi possível determinar a via de transmissão em cerca de 68% dos doadores e nos anti-HBc isoladamente positivos, em 60%. Nesses 2 grupos, houve predomínio do risco de transmissão sexual (18,8% x 22,1%), quando comparado com os 3,3% de risco de transmissão sexual observado nos anti-HBc falso-positivos. Notamos que uma maior taxa de falsos positivos associou-se à população de menor risco para a aquisição de hepatite B, quando comparada com a observada entre os anti-HBc repetidamente reagentes.

Apesar de ser aplicado um questionário no banco de sangue para excluir os doadores de sangue com algum antecedente positivo para hepatites, pudemos observar que no grupo anti-HBc reagente/anti-HBs reagente, 18,8%; e no grupo anti-HBc isoladamente reagente, 22,1% foram provavelmente contaminados pela via sexual. Devemos destacar que é relativamente comum nos bancos de sangue o indivíduo negar pertencer a grupamento de risco. Gonçalves *et al* (1998) observaram que doadores de sangue anti-HCV reagentes negaram usar drogas E.V. quando entrevistados no banco de sangue, porém relataram seu uso quando a entrevista foi feita no Ambulatório de Hepatites do HC da UNICAMP.

Até recentemente, a negatividade do HBsAg era considerada indicativa de resolução bioquímica e histológica da hepatite B (CHOO *et al*, 1989). 10 a 20% dos indivíduos que já tiveram hepatite B possuem o anti-HBc como único marcador de infecção (BRECHOT *et al*, 2001). Isso foi confirmado por nós neste trabalho, pois cerca de 28% dos nossos doadores eram anti-HBc isoladamente reagente. Desde o desenvolvimento da

técnica da PCR tornou-se possível detectar o DNA-HBV no soro de aproximadamente 10% dos pacientes que são HBsAg negativo/anti-HBc reagente (GROB *et al*, 2000). Neste trabalho, encontramos 6% de positividade para o DNA-VHB em população similar. Esse valor menor talvez se explique por trabalharmos com uma população de baixo risco, a dos doadores de sangue. De qualquer maneira, a negatividade do HBsAg não indica necessariamente ausência de infecção, que pode ser detectada pela PCR dada sua maior sensibilidade quando comparada com o teste de ELISA.

Chama-se infecção oculta a presença de DNA-HBV em pacientes sem HBsAg detectável no soro, pelos métodos sorológicos habituais (GROB *et al*, 2000). Nos Estados Unidos e em algumas regiões da Europa, onde a endemicidade para a hepatite B é baixa, aproximadamente 10% dos pacientes HBsAg negativos foram positivos para o DNA-VHB pela reação da PCR. Em nossa região, a prevalência de infecção pelo VHB entre doadores de sangue atualmente é baixa, com o HBsAg e o Anti-HBc reagentes em 0,9% e 4% dos doadores, respectivamente. Esse percentual varia dependendo do grupo de risco envolvido, sendo mais alto entre os usuários de drogas e os homossexuais.

A principal característica da infecção oculta é o baixo nível de DNA-VHB detectado no sangue e no tecido hepático (BRECHOT *et al*, 1989; FUKUDA *et al*, 2001). Isso também foi observado em nossos pacientes anti-HBc reagentes. Como se sabe, a PCR “in house” é mais sensível que os testes comerciais disponíveis. Em nosso estudo foi utilizado um teste muito sensível para a PCR “in house”, com um limite de detecção de 100 cópias/mL. Nós re-testamos todas as amostras utilizando a PCR “in house” e somente foram consideradas positivas aquelas que apresentaram resultado positivo em pelo menos duas rotinas diferentes. As amostras com testes positivos foram submetidas a um teste comercial quantitativo que apresenta um limite de detecção de 1.000 cópias/mL. Como todos os resultados quantitativos foram negativos pelo teste de PCR comercial, consideramos que nossos pacientes positivos tinham mais que 100 e menos que 1.000 cópias/mL. Isso confirma a baixa carga viral do VHB presente no soro desses pacientes com infecção oculta pelo VHB.

Todos os pacientes de nossos grupos tinham provavelmente apresentado a infecção há longo tempo, eram assintomáticos e negavam icterícia. Consideramos portanto bastante plausível que apresentassem baixos níveis de DNA-VHB circulantes.

Em recente estudo, entre pacientes HBsAg negativos com doença hepática crônica, de etiologia desconhecida, o DNA-VHB foi detectado, pela PCR ultra-sensível, no soro e no tecido hepático de 30% deles (CHEMIN *et al*, 2001 (I), CHEMIN *et al*, 2001 (II)). Com uma exceção, todos os pacientes eram positivos para DNA-VHB em baixos níveis (10^4 cópias/mL ou menos) e 53% foram negativos pelo ensaio comercial Amplicor HBV (< 400 genomas equivalentes/mL) (KOIKE *et al*, 1998). Recentemente um valor arbitrário superior a 10^5 cópias/mL foi estabelecido como um critério de atividade para a hepatite B crônica (LOK *et al*, 2001 (I), LOK *et al*, 2001 (II)). De acordo com esse critério, nossos pacientes com hepatite B oculta não tinham hepatite B em atividade e não necessitavam de tratamento, pois apresentavam, conforme detectamos, baixos níveis séricos do DNA-VHB.

Nossos resultados demonstram que não houve diferença significativa quando pesquisamos o DNA-VHB em doadores de sangue anti-HBc reagentes, de acordo com a presença ou ausência do anti-HBs. Em 100 doadores de sangue anti-HBc isoladamente reagentes em que foi realizada a pesquisa do DNA-VHB, 6% apresentaram-se positivos (Tabela 1). Em 50 doadores de sangue anti-HBc reagente/anti-HBs reagente, nenhum caso de positividade foi encontrada. No total, 4% dos doadores de sangue anti-HBc reagente mostraram-se positivos para a presença do DNA-VHB. Esse achado foi similar ao encontrado em doadores de sangue na Suíça e na Alemanha, onde a positividade para o DNA-VHB foi de 3,9 e 7,4%, respectivamente (GROB *et al*, 2000; JILG *et al*, 2001; KHERFOUCHE *et al*, 1999). Isso confirma o fato de serem menores as prevalências de infecção oculta pelo VHB nas populações anti-HBc reagentes de baixo risco, como é o caso dos doadores de sangue.

No Brasil, Largura e colaboradores estudaram doadores de sangue do estado do Paraná e notaram a ausência do DNA-VHB em 50 pacientes. Esses pacientes eram anti-HBc reagentes; 42 deles eram anti-HBs reagentes e 5 eram anti-HBs não reagentes. A sensibilidade do teste de DNA-VHB por eles utilizado era de 300 genomas/mL. Essa

sensibilidade foi semelhante à do nosso teste e os resultados são semelhantes aos nossos, uma vez que em 50 doadores de sangue anti-HBs reagente não observamos casos de positividade para o DNA-VHB.

Arraes e colaboradores (ARRAES *et al*, 2003) encontraram somente 2,5% de doadores de sangue anti-HBc reagente que foram positivos para o DNA-VHB, sendo que esses eram também positivos para o anti-HBs.

A positividade do anti HBc é uma importante causa de descarte de sangue. A pesquisa do HBsAg não pode ser considerada completamente protetora e portanto a pesquisa do anti-HBc permanece necessária como teste de triagem para o VHB em unidades de sangue. A presença do anti-HBs não é indicativa da ausência do vírus, pois, como pudemos observar na literatura, pacientes anti-HBs reagentes podem ser positivos para o DNA-VHB. (ARRAES *et al*, 2003).

Gonçales *et al* (2003) avaliaram a possibilidade do possível efeito protetor do anticorpo anti-HBs, em infecções persistentes pelo VHB, comparando a prevalência da infecção oculta entre os indivíduos anti-HBc isoladamente reagentes com os anti-HBc reagentes/anti-HBs reagentes em diferentes populações. Em doadores de sangue, a infecção oculta não foi significativamente maior entre os anti-HBc isoladamente reagentes (6%) quando comparada com a prevalência encontrada entre os doadores anti-HBc reagentes/anti-HBs reagentes (0%). O mesmo ocorreu entre os pacientes que eram anti-HCV não reagentes/HIV reagentes com esses dois perfis sorológicos de infecção pelo VHB, com frequências semelhantes de positividade para o DNA-VHB (6,7% x 7,1%). Foi possível detectar a infecção oculta pelo VHB em taxas similares entre pacientes co-infectados ou não pelo HIV, independente da presença do anticorpo protetor anti-HBs. Entre indivíduos HIV não reagentes/HCV reagentes, a infecção oculta pelo VHB foi encontrada em 24% dos pacientes anti-HBc isoladamente reagentes, comparada a 5,4% dessa infecção em indivíduos anti-HBc/anti-HBs reagentes. Portanto, em pacientes imunocompetentes infectados pelo VHC, a ausência do anti-HBs foi associada com uma significativa taxa de infecção oculta pelo VHB. Por outro lado, entre pacientes co-infectados com HIV e VHC, não houve diferença significativa entre os pacientes anti-HBc isoladamente reagentes e anti-HBc/anti-HBs reagentes (3,3% x 3,5%). Por algum

mecanismo desconhecido, a interação entre esses três vírus (VHB, VHC, HIV) parece modificar o perfil usual de infecção observado nos pacientes com VHB e co-infectados com o VHC.

Tem se observado, também, uma apreciável taxa de infecção oculta pelo VHB em pacientes co-infectados com o vírus da hepatite C (CACCIOLA *et al*, 1999; BRECHOT *et al*, 2001; BAGINSKI *et al*, 1992; UCHIDA *et al*, 1997). Depois que o vírus da hepatite C foi identificado e um ensaio laboratorial foi desenvolvido, uma alta porcentagem de pacientes com hepatite C que apresentavam anti-HBc isoladamente reagente foi detectada. Em nosso serviço, aproximadamente 44% dos pacientes infectados pelo VHC possuem o anti-HBc reagente (GONÇALES *et al*, 1993). Pacientes co-infectados podem ter uma baixa atividade de replicação viral, indicando mútua interferência (BRECHOT *et al*, 1989; JEANTET *et al*, 2002; REHERMANN *et al*, 1996; SCHARSCHMIDT *et al*, 1992; THIERS *et al*, 1988; ZIGNEGO *et al*, 1997). Estudos sobre co-infecção indicam haver uma mútua interferência viral entre o VHB e o VHC, sugerindo que o VHC exerce um maior efeito de supressão. (CHEMIN *et al*, 2001 II; BLANPAIN *et al*, 1998; BORTOLOTTI *et al*, 1998; BRECHOT *et al*, 1985; CARMAN *et al*, 1991). Outros autores atribuem um papel dominante ao VHB (JEANTET *et al*, 2002; OON *et al*, 1999; ZARSKI *et al*, 1998). Outros, ainda, consideram que a replicação do VHB é mais afetada, sugerindo que o VHC inibe o VHB mais do que o VHB inibe a replicação do VHC (OHKAWA *et al*, 1995). Esses dados corroboram com uma demonstração *in vitro* (KEW *et al*, 1986) onde se notou que a proteína do core do VHC liga-se ao RNA mensageiro do VHB e suprime a expressão gênica e a replicação do VHB (JEANTET *et al*, 2002). Os níveis séricos de DNA-VHB são significativamente menores em pacientes com altos níveis de RNA-VHC do que em pacientes com níveis indetectáveis de RNA-VHC, e vice-versa (JEANTET *et al*, 2002).

Quando comparamos o grupo dos doadores de sangue com o grupo co-infectado com a hepatite C, encontramos 24% de positividade para o DNA-VHB nesta população. Essa frequência de infecção oculta entre pacientes com hepatite C foi cerca de 4 vezes maior que a observada nos nossos doadores de sangue. Isso se explica, a nosso ver, por serem os doadores de sangue uma população de menor risco. A principal via de

transmissão da hepatite C em nossa região é o uso compartilhado de seringas e agulhas pelos usuários de drogas EV. GONÇALES *et al* (1999), estudando pacientes com hepatite C, encontraram o uso de drogas endovenosas como o principal fator de risco isolado para a aquisição de hepatite C em 23% dos doadores de sangue anti-HCV reagentes. Essa população adquire concomitantemente ou seqüencialmente as hepatites B e C, diferentemente dos doadores de sangue, que apresentam uma menor exposição. Na nossa casuística, praticamente não existiram doadores que confirmassem o uso de drogas.

A causa da infecção oculta pelo VHB ainda permanece desconhecida. Acredita-se que o encontro de HBsAg negativo associado à positividade do DNA-VHB possa ser consequência de um progressivo declínio na replicação e expressão do genoma do VHB (BRECHOT *et al*, 2001). Talvez o HBsAg pudesse ser detectado no soro desses indivíduos HBsAg negativos/anti-HBc reagentes, se testes sorológicos mais sensíveis estivessem disponíveis (BRECHOT *et al*, 2001; KEW *et al*, 1986).

O encontro do anti-HBc isoladamente reagente nos bancos de sangue suscita muitas dúvidas quanto a seu significado e conduta a ser adotada. Como dito anteriormente, o encontro de positividade isolada para o anti-HBc é passível de várias interpretações. Assim, alguns pesquisadores vacinaram os indivíduos anti-HBc isoladamente reagentes, na busca de respostas para esse perfil. McMahon e colaboradores (McMAHON *et al*, 1992) realizaram um estudo com nativos do Alasca que eram anti-HBc isoladamente reagentes, testados pelo método radioimunoensaio e enzimaensaio, e observaram a resposta tipo “booster” (definida como o nível de anti-HBsAg > 50 SRU um mês após receber uma dose de vacina) em 34% dos pacientes que possuíam anti-HBs < 10 SRU e em 6% daqueles que eram negativos para o anti-HBs, 1 mês após a 1ª dose de vacina. Para os pacientes reagentes somente pelo método enzimaensaio, 8,1% apresentaram resposta tipo “booster”. Daqueles que completaram o esquema vacinal e não apresentaram resposta anamnética, 78,8% soroconverteram um mês após a 3ª dose.

Lok e colaboradores (LOK *et al*, 1988) observaram em 32 pacientes com anti-HBc isoladamente reagente que, após receberem 4 doses de vacina contra a hepatite B, 56% apresentaram resposta do tipo primária (anti-HBsAg positivo em altos níveis após 4 doses de vacina), 16% apresentaram resposta anamnética (anti-HBs reagente em altos

níveis após 1 dose de vacina) e 28% não soroconverteram. Com isso concluiu-se que pode ocorrer falsa positividade para o anti-HBc de acordo com o teste utilizado e propôs-se que mesmo indivíduos anti-HBc reagentes em baixos níveis devem ser vacinados.

Na segunda fase deste trabalho, vacinamos os doadores de sangue e acompanhamos sua resposta vacinal (soroconversão para o anti-HBs). Dos 140 doadores de sangue, 100 completaram o esquema vacinal. Pudemos observar que 59% responderam na primeira dose da vacina, 83% na segunda dose e 90% tiveram soroconversão acumulada após a terceira dose da vacina contra a hepatite B. Somente 10% dos pacientes não apresentaram soroconversão. Tal padrão de resposta nos leva a pensar que provavelmente esses doadores poderiam ser imunes à hepatite B, com baixos títulos de anticorpos, não detectados pelos métodos habituais.

No Brasil, Souto e colaboradores (SOUTO *et al*, 2001) estudaram 33 doadores de sangue anti-HBc isoladamente reagentes que receberam a vacina, sendo que 39% soroconverteram após 1 dose, 75% após duas doses e que, no total, 88% soroconverteram. Desses pacientes, em 24 foi pesquisado o DNA-VHB após as duas doses de vacina e o mesmo foi negativo em todos.

Almeida Neto e colaboradores (ALMEIDA NETO *et al*, 2001) estudaram 77 doadores de sangue anti-HBc isoladamente reagentes e, após uma dose de vacina contra a hepatite B, 34% soroconverteram. Nos 39 pacientes que não soroconverteram foi realizada a pesquisa do HBV-DNA e todos foram negativos.

Procuramos também relacionar a resposta vacinal com a presença ou ausência do DNA-HBV nos pacientes HBsAg negativos/anti-HBc reagentes (grupo C). Como podemos ver na Figura 3, após D1 observou-se soroconversão para o anti-HBs em 50% dos pacientes com DNA do VHB (+) e em 59,6% dos pacientes com DNA do VHB (-). Após D2, apresentaram soroconversão 66,7% dos pacientes com DNA do VHB (+) e 84% dos pacientes com DNA do VHB (-). Após D3, houve soroconversão acumulada em 100% dos pacientes com DNA do VHB (+) e em 89,4% dos pacientes com DNA do VHB (-). No final, 10,6% dos doadores DNA do VHB (-) não soroconverteram após D3. Não houve diferença significativa entre as porcentagens de soroconversão entre os dois grupos avaliados.

Desse modo, pensando nas diferentes interpretações para o encontro do anti-HBc isolado, poderíamos avaliar que a positividade do DNA-VHB nesse grupo poderia refletir um portador do VHB com níveis séricos de HBsAg muito baixos, que não seriam detectados pelos métodos habituais de rotina. Seria interessante também notar que, mesmo com a positividade para o DNA-VHB, esses pacientes tiveram soroconversão semelhante à dos DNA-VHB negativos.

100% dos pacientes com DNA do VHB (+) pré-vacinal tornaram-se DNA do VHB (-) nas pesquisas realizadas após D1, D2 e D3, o que nos leva a pensar que a estimulação vacinal pode ter diminuído a carga viral a ponto de não ser mais detectada pela PCR. Podemos considerar que a presença de uma quantidade muito pequena de VHB com uma replicação residual seria incapaz de estimular o sistema imune a produzir anti-HBs em maior quantidade. A inoculação vacinal do antígeno de superfície do VHB teria feito essa estimulação e com isso levado à produção de anti-HBs em maiores quantidades. Nos trabalhos citados, somente houve a pesquisa do DNA-VHB após a vacinação.

Estimular o aparecimento ou reaparecimento do anti-HBs através da vacinação é um modo de constatar o desenvolvimento do estado de imunidade contra o VHB e provável eliminação do agente infeccioso (SOUTO *et al*, 2001). Essa conduta poderia ser usada para diminuir a transmissão do VHB em áreas endêmicas e tornar o doador rejeitado dessas áreas apto à doação, diminuindo o problema com o suprimento de sangue.

A negatificação do DNA-VHB demonstrada pelo nosso teste de PCR “in house” com boa sensibilidade (100 cópias/mL) pode indicar que possivelmente conseguimos eliminar o VHB residual nos pacientes com infecção oculta.

Como pudemos observar, os indivíduos com infecção oculta pelo VHB possuem baixíssimas viremias. É discutível se esses baixos níveis de VHB seriam capazes de transmitir a doença a outros. Somente modelos animais poderiam responder a questão. Do ponto de vista da saúde pública, devemos considerar todo paciente HBsAg negativo/anti-HBc reagente como um possível transmissor do VHB.

Wiedmann *et al* vacinaram pacientes com HCV contra a hepatite B, comparando os resultados com um grupo controle. Observaram que 31% dos pacientes com infecção pelo VHC não responderam à vacina, contra 9% de não resposta nos controles sadios ($p<0,005$). A ausência de soroconversão não estava relacionada com a presença de cirrose, com a concentração do RNA do VHC ou com a presença de antígenos da classe HLA. Os autores concluíram que nos pacientes com hepatite C há menor soroconversão quando comparada à observada entre pacientes sadios, sem hepatite C. Além disso, nos pacientes com hepatite C que apresentaram resposta vacinal contra o vírus da hepatite B, essa foi quantitativamente menor quando comparada à resposta observada em controles. Na nossa casuística, entre os 22 pacientes com hepatite C anti-HBc reagentes que receberam 3 doses da vacina, notamos que 4 (18%) haviam apresentado soroconversão após a 1ª ou 2ª dose, porém não mantiveram títulos de anti-HBs superiores a 10 mUI/mL após a terceira dose. Isso sugere que haveria uma perda precoce de anticorpos. Se medíssemos a soroconversão após 3 doses, como Wiedmann *et al*, não teríamos detectado esses pacientes com soroconversão temporária.

Em um estudo realizado em pacientes hemodialisados com ou sem hepatite C que receberam vacina contra a hepatite B, demonstrou-se a ocorrência de soroconversão (anti-HBs >10 mUI/mL) em 80,5% dos pacientes. Porém, houve diferença significativa quando se analisou os títulos de anti-HBs superiores a 100 mUI/mL (soroproteção), sendo esses 33,3% versus 70,3%, dos pacientes com e sem infecção pelo vírus da hepatite C, respectivamente (NAVARRO *et al*, 1994).

Em outro estudo realizado em pacientes com hepatite C, vacinados contra a hepatite B e comparados com um grupo controle, demonstrou-se soroconversão em 72% versus 92% do grupo controle ($p<0,05$). Porém, não foram observadas diferenças significativas quando esses grupos foram comparados quanto à soroproteção: 51% versus 54%, respectivamente (IDILMAN *et al*, 2002).

A resposta à vacinação contra a hepatite B parece ser significativamente menor em pacientes com hepatite C com cirrose, quando comparados a não cirróticos. (IDILMAN *et al*, 2002; DE MARIA *et al*, 2001).

Na terceira fase deste estudo, vacinamos um grupo de pacientes anti-HBc reagentes e anti-HBc não reagentes, co-infectados com o vírus da hepatite C e acompanhamos a resposta vacinal. De acordo com a Figura 6, comparando-se os 2 grupos após D1, observou-se soroconversão para o anti-HBs em 50% X 15,4% dos pacientes, respectivamente. Após D2 haviam soroconvertido 68,2% X 34,6% dos pacientes. Após D3 houve soroconversão acumulada em 82% X 65,4% dos pacientes. Não houve soroconversão em 18% X 34,6% dos pacientes com hepatite C, respectivamente anti-HBc reagentes e anti-HBc não reagentes. A soroconversão após D1 e D2 foi significativamente menor no grupo anti-HBc não reagente/HCV reagente, quando comparado ao grupo anti-HBc reagente/HCV reagente, o que era esperado, uma vez que esses pacientes não haviam entrado em contato com o vírus da hepatite B. Já após a terceira dose não houve diferença significativa. Esse dado é semelhante ao observado na literatura. Não encontramos na literatura relatos de vacinação em pacientes anti-HBc reagentes/HCV reagentes.

Entre pacientes anti-HBc reagentes com e sem hepatite C observamos taxas de soroconversão de respectivamente 82 e 90%, o que deve indicar que esses pacientes, co-infectados ou não com o vírus C, irão soroconverter independentemente da presença ou não desse agente. Em outras palavras, o vírus C não inibiu a produção do anti-HBs nos pacientes com hepatite C que já possuíam o anticorpo anti-HBc.

Quando analisamos a presença ou ausência do DNA-VHB no grupo anti-HBc reagente/HCV reagente (grupo D), observamos que após D1 houve soroconversão para o anti-HBs em 50% dos pacientes DNA do VHB (+) e em 50% dos pacientes DNA do VHB (-). Após D2, soroconverteram 70% dos pacientes DNA do VHB (+) e 66,7% dos pacientes DNA do VHB (-). Após D3, houve soroconversão acumulada em 90% dos pacientes DNA do VHB (+) e em 75% dos pacientes DNA VHB (-). Do total, 10% dos pacientes DNA do VHB (+) e 25% dos pacientes DNA do VHB (-) não soroconverteram após D3 (Figuras 4 e 9). Nesse grupo anti-HBc reagente/HCV reagente não houve diferença significativa de soroconversão quanto à presença ou ausência do DNA-VHB, como também foi notado no grupo de doadores de sangue.

Também nesse grupo analisamos a negatificação do DNA-VHB após a vacinação. Assim, dos 10 pacientes infectados pelo VHC que eram positivos para a presença do DNA do VHB observamos a negatificação em 77,8%, 87,5% e 90% após D1, D2 e D3, respectivamente (Figura 5).

Esse resultado foi diferente do observado nos doadores de sangue, onde 100% soroconverteram após 3 doses de vacina. Assim, nos pacientes com HVC, a vacinação não foi capaz, em 10% dos casos, de diminuir a carga viral ou eliminar o agente infeccioso.

Sabe-se que pacientes com hepatite C, co-infectados com o VHB ou com o HIV, quando tratados com interferon, apresentam menores taxas de resposta sustentada (eliminação viral), possivelmente como consequência das interações virais. Sabe-se também que há menor soroconversão para o anti-HBs nos pacientes com HVC que recebem vacina contra o VHB. Não é de estranhar que um paciente não tenha conseguido soroconverter e eliminar o VHB residual.

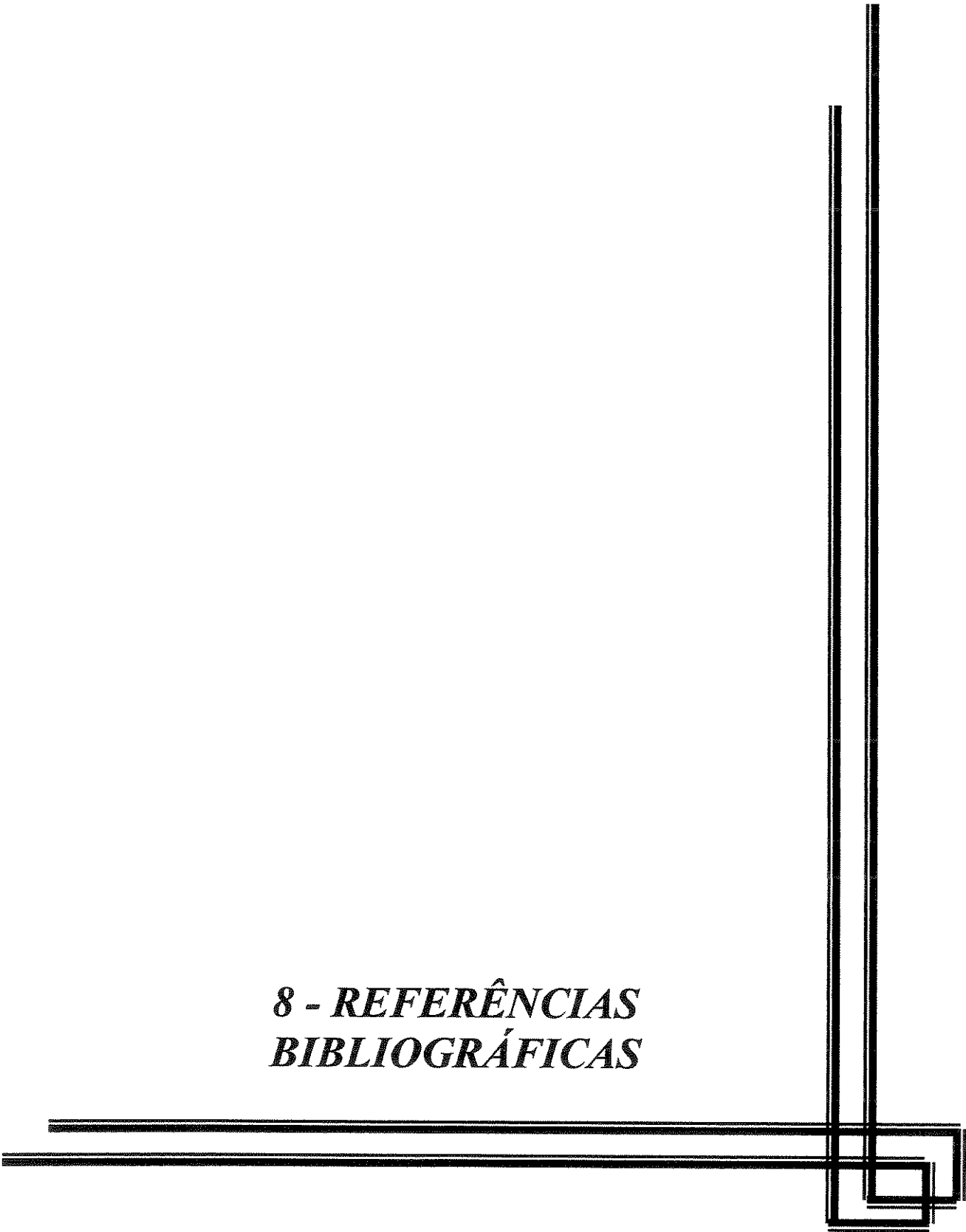
Como pudemos observar na Figura 9, não houve diferença significativa no percentual de soroconversão para o anti-HBs entre os grupos estudados quanto à presença ou ausência de DNA-VHB. Porém, quando comparamos os 3 grupos de acordo com o status sorológico para o anti-HBc e o HCV, notamos que há uma maior taxa de não respondedores entre os pacientes HCV positivos, quando comparado aos pacientes sem infecção pelo VHC. Esses achados são semelhantes aos relatados na literatura.

Com este estudo, esperamos ter contribuído para um melhor entendimento da problemática dos doadores de sangue anti-HBc isoladamente reagentes. Como pudemos notar, esses indivíduos podem apresentar infecção oculta pelo vírus B, principalmente quando estão co-infectados pelo vírus C.

Consideramos ainda que novos estudos utilizando a vacina contra o vírus B necessitam ser realizados, tanto para avaliarmos sua capacidade de proteger os indivíduos com hepatite C, como para eliminar, possivelmente, o VHB residual em pacientes anteriormente infectados pelo vírus B.

7 - CONCLUSÃO

1. Observamos uma frequência moderadamente alta de falso-positivos entre doadores de sangue anti-HBc reagente na triagem sorológica do banco de sangue;
2. A infecção oculta pelo VHB foi encontrada em 6% dos doadores de sangue HBsAg negativo/anti-HBc reagente, valor esse 4 vezes menor que o observado entre pacientes HBsAg negativo/anti-HBc reagentes co-infectados com o VHC (24%);
3. Com a vacinação, houve soroconversão em 90% dos doadores de sangue anti-HBc isoladamente reagente e esta ocorreu independentemente da presença ou ausência do DNA-VHB no soro dos doadores antes da vacinação;
4. Observou-se soroconversão acumulada em 82% dos indivíduos anti-HBc isoladamente reagentes HCV positivo após as 3 doses de vacina e essa ocorreu independentemente da presença do DNA-VHB no soro antes da vacinação;
5. Houve negatificação do DNA-VHB entre doadores de sangue e pacientes com hepatite C em respectivamente 100% e 90% dos vacinados;
6. Houve menor percentual de soroconversão (65,4%) nos indivíduos anti-HBc não reagentes infectados pelo VHC, quando comparada à soroconversão observada nos pacientes anti-HBc reagentes sem hepatite C (90%);
7. O percentual de não respondedores à estimulação vacinal foi maior entre os pacientes anti-HBc reagentes com hepatite C (36,4%) do que entre os doadores de sangue anti-HBc reagentes sem hepatite C (10%);
8. O percentual de não respondedores à vacinação contra o VHB entre pacientes com hepatite C foi de 35%, sendo semelhante tanto entre os que eram anti-HBc reagentes (36,4%) quanto entre anti-HBc não reagentes (34,6%).



8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACH RD. Viral Hepatitis. In FEIGIN RD., Cherry JD (ed) Textbook of pediatric infectious diseases. Philadelphia, W.B. Saunders Co., v.1. pp. 513 – 532, 1981.

ALEXANDER, G.J.M. Immunology of hepatitis B virus infection. **Brit Med Bull** 46: 354 – 367, 1990.

ALMEIDA NETO, C.; STARUSS, E.; SABINO, E.C.; SUCUPIRA, M.C.A.; CHAMONE, D.A.F. Significance of isolated hepatitis B core antibody in blood donors from são Paulo. **Rev. Inst. Med. Trop.** 43(4): 203 – 208, 2001.

ARRAES, L.C.; XIMENES, R.; ANDRIEU, J.M.; LU, W.; BARRETO, S.; PEREIRA, L.M.M.B.; CASTELO, A. “The biological meaning of anti-HBc positive in blood donors: relation to VHB-DNA and to other serological markers” **Rev. Inst. Med. Trop. S.Paulo** 45(3): 137 – 140, 2003.

BAGINSKI, I.; CHEMIN, I. et al. Transmission of serologically silent hepatitis B virus along with hepatitis C virus in two cases os posttransfusion hepatitis. **Transfusion**, 32: 215 – 220, 1992.

BEENSON P.B.. Jaundice occurring one to four months after transfusio of blood or plasma. Report of seven cases. **JAMA** 121: 1.332-1.334, 1943.

BLANPAIN, C.; KNOOP, C.; DELFORGE, M.L.; ANTOINE, M.; PENY, M.D.; LIESNARD, C.; VEREERSTRAETEN, P.; COGAN, E.; ADLER, M.; ABRAMOWICZ, D. Reactivation of hepatitis B after transplantation in patients with pre-existing anti-hepatitis B surface antigen antibodies: report on three cases and review of literature. **Transplantation** 66: 883-886, 1998.

BLUMBERG B.S., GERSTLEY B.J.S. HUNGERFORD D.A. et al A serum antigen (Australia antigen) in Down’s syndrome, leukemia and hepatitis. **Ann Intern Med** 66: 924 – 931, 1967.

BLUMBERG, B.S., ALTER H.J., VISNICH, S. A new antigen in leukemia sera. **JAMA** 191: 541 – 546, 1965.

BLUMBERG, B.S., SUTNICK, A.I., LONDON, W.T., Australia antigen and hepatitis. **JAMA** 207: 1895 – 1895, 1969.

BORTOLOTTI, F.; JARA, P.; CRIVELLARO, C.; HIERRO, L.; CEDROBBI, P.; FRAUCA, E.; CAMARENA, C.; DE LA VEJA, A.; DIAZ, C.; DE MOLINER, L.; NOVENTA, F. Outcome of chronic hepatitis B in Caucasian children during a 20-year observation period. **J. Hepatol.** **29**: 184-190, 1998.

BRÉCHOT, C.; DEGOS, F.; LUGASSY, C.; THIERS, V.; ZAFRANI, S.; FRANCO, D.; BISMUTH, G. Hepatitis B virus DNA in patients with chronic liver disease and negative tests for hepatitis B surface antigen. **N. Engl. J. Med.** **312**: 270-276, 1985.

BRÉCHOT, C.; THIERS, V.; KREMSDORF, D.; NALPAS, B.; POL, S.; PATERLINI-BRÉCHOT, P. Persistent hepatitis B virus infection in subjects without hepatitis B surface antigen: Clinically significant or purely "occult". **Hepatology** **34**: 194-203, 2001.

CACCIOLA, I.; POLLICINO, T.; SQUADRITO, G.; CERENZIA, G.; ORLANDO, M.E.; RAIMONDO, G. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. **N Engl J Med**, **341**: 22-26, 1999.

CARMAN, W.F.; ZANETTI, A.R.; KARAYIANNIS, P.; WATERS, J.; MANZILLO, G.; TANZI, E.; ZUCHERMAN, A.J.; THOMAS, H.C. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. **Lancet** **336**: 325-329, 1990.

CARMAN, W.F.; ZANETTI, A.R. Vaccine – induced escape mutant of hepatitis virus. **Lancet**, **2**, 325 – 329, 1990.

CDC.1991. Hepatitis B virus : a comprehensive strategy for limiting transmission in the United States through universal childhood vaccination. Recommendations of the Immunization Practices Advisory Committee (ACIP). **MMWR** **40**:RR-13:1-25.

CHALASANI, N.; GITLIN, N. Why we need a newer generation of recombinant vaccines against hepatitis B ? **American Journal of Gastroenterology**, **92**: 2314 - 2315, 1997. [Letter]

CHAZOILLERES, O.; MAMISH, D. Et al. "Occult" hepatitis B virus as source of infection in liver transplant recipients. **Lancet** **343**: 142 – 146, 1994.

CHEMIN, I.; JEANTET, D.; KAY, A.; TREPO, C. Role of silent hepatitis virus in chronic hepatitis B surface antigen (-) liver disease. **Antiviral Res** 52: 117-123, 2001.

CHEMIN, I.; ZOULIM, F.; MERLE, P.; ARKHIS, A.; CHEVALLIER, M.; KAY, A.; COVA, L.; CHEVALLIER, P.; MANDRAND, B.; TREPO, C. High incidence of hepatitis B infections chronic hepatitis cases of unknown aetiology. **J. Hepatol.** 34: 447-454, 2001.

CHOO, Q.L.; KUO, G.; WEINER, A.J., OVERBY, L.R.; BRADLEY D.W.; HOUGHTON, M. Isolation of a DNA clone derived from a blood borne non-A, non-B viral hepatitis genome. **Science**, 224: 369-362, 1989.

CHOUDHURY, S.A.; PETERS, V.B. Responses to hepatitis B vaccine boosters in human immunodeficiency virus-infected children. **Pediatr Infect Dis J** 14(1): 65 – 67, 1995.

DANE S.D.; CAMERON, C.H.; BRIGGS, M.; Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen associated hepatitis. **Lancet** 1: 695 - 698, 1970.

DE MARIA, N.; IDILMAN, R.; COLANTONI, A.; VAN THIEL, D.H. Increased effective immunogenicity to high-dose and short-interval hepatitis B virus vaccination in individuals with chronic hepatitis without cirrhosis. **Journal of Viral Hepatitis**, 8: 372 – 376, 2001.

DE SANTIS, G.C.; PRADO JR, B.P.A.; SAVAIA, C.G.; COVAS, D.T.; SIMÕES, B.P.; BOTURÃO NETO, E. Prevalência de marcadores para hepatite B em amostra de doadores positivos para o anti-HBc. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Hematologia, 19, Campinas, 1990, **Anais**, p. 24.

DEINHART, F. Hepatitis viral virology. In: Bockus. Gastroenterology, 4ª ed. Liv. Santos, vol. “Fígado”, pp. 185, 1991.

DENIS, F; MOUNIER, M.; HESSEL, L. Hepatitis B vaccination in the elderly. **J Infect Dis**, 149: 1019, 1984.

DIENNSTAG, J.L. Non-A, non-B hepatitis. Recognition, epidemiology, and clinical features. **Gastroenterology** 85: 439 – 462, 1983.

DIENSTAG, J.L. Prevention of hepatitis B. In AASLD Postgraduate Course – Viral hepatitis A to F: An update, 162 – 173. Chicago, 1994.

DIKE, A.E. Post-transfusion hepatitis B transmitted by HBsAg negative blood containing anti-HBc. **Med Lab Sci** **38**: 415 – 417, 1981.

DRAELOS, M.; MORGAN, T.; SCHIFMAN, R.B.; SAMPLINER, R.E. Significance of isolated antibody to hepatitis B core antigen determined by immune response to hepatitis B vaccination. **JAMA** **258**: 1193 – 1195, 1987.

FEINSTONE, S.M.; KAPIKIAN, A.Z.; PURCELL, R.H. Hepatitis A. Detection by immune electron microscopy of a viruslike antigen associated with acute illness. **Science** **182**: 1026-1028, 1973.

FEITELSON, M.A. Hepadnavirus antigen in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. Presentes at V International Symposium on Viral Hepatitis, Madri, Spain (abstract), Jan. 1992.

FONG, T.L.; DIBISCEGLIE, A.M. et al. Persistence of hepatitis B virus DNA in the liver after loss of HBsAg in chronic hepatitis B. **Hepatology** **18**: 1313 – 1318, 1993.

FORTUIN, M.; CHOTARD, J.; JACK, A.D.; MAINE, N.P.; MENDY, M.; HALL, A.J.; INSKIP, H.M.; GEORGE, M.O.; WHITTLE, H.C. Efficacy of hepatitis B vaccine in the Gambian expanded programme on immunisation. **Lancet** **341**: 1129 – 1131, 1993.

FOUTCH, P.G.; CAREY, W.D. et al. Concomitant hepatitis B surface antigen and antibody in thirteen patients. **Ann Intern Med** **99**: 460 – 463, 1983.

FRANCO, V.S.; GUIMARÃES, R.X.; FRANCO, L.J.; BARUZZI, R.G.; NOVO, N.F. Marcadores sorológicos da hepatite viral B e alfa-1-antitripsina em índios da tribo Mekranhotire. **Rev Paul Med**, **103**: 223 – 227, 1985.

GARDNER, P; SCHAFFNER, W. Immunization of adults. **N Engl J Med** **328(17)**: 1252 – 1258, 1993.

GERLICH, W.H.; HEERMANN, K.H. Functions of hepatitis B virus protein and virus assembly. In: HOLLINGER, F.B.; LEMON, S.M.; MARGOLIS, H.S. (ed). Viral hepatitis and liver disease. Baltimore, Williams and Wilkins, 121 – 34, 1991.

GONÇALES JR, F.L.; BOCCATO, R.S.B.S.; PEDRO, R.J.; PAPAIORDANOU, P.M.O.; SOUZA, C.A.; GONÇALES, N.S.L.; PELLEGRINO JR, J. Prevalência do HBsAg, do anti-HBc e do anti-HCV na população de candidatos à doadores de sangue do hemocentro-Campinas. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, **35(1)**: 45 – 51, 1993.

GONÇALES JR, F.L.; PEDRO, R.J. et al. Hepatites pos-transfusionais na cidade de Campinas, SP, Brasil. I. Incidência, agentes etiológicos e aspectos clínicos-epidemiológicos da hepatite por vírus C. **Rev Inst Med Trop São Paulo** **35**: 53 – 62, 1993.

GONÇALES JR, F.L.; PEDRO, R.J.; SILVA, L.J.; STUCCHI, R.S.B.; GONÇALES, N.S.L. Hepatites pós transfusionais na cidade de Campinas, SP, Brasil II. Presença de anticorpos anti-HBc e anti-HCV em candidatos a doadores de sangue e ocorrência de hepatites pós-transfusionais pelo vírus C nos receptores de sangue ou derivados. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, **35**: 63-71, 1993.

GONÇALES Jr, F.L. Avaliação clínico - epidemiológica prospectiva de candidatos a doadores de sangue anti-HCV reagentes. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, **32(3)**: 315 – 317, 1999.

GONÇALES JR, F.L.; PEREIRA, J.S.F.; SILVA, C.; THOMAZ, G.R.; PAVAN, M.H.P.; FAIS, V.C.; MAGNA, L.A.; GONÇALES, N.S.L. Hepatitis B virus DNA in sera of blood donors and of patients infected with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, **10(4)**: 718 – 720, 2003.

GROB, P.; JILG, W.; BORNHAK, H.; GERLICH, W.; GÜNTHER, S.; HESS, G.; HÜDIG, H.; KITCHEN, A.; MARGOLIS, H.; MICHEL, G.; TREPO, C.; WILL, H.; ZANETTI, A.; MUSHAHWAR, I. Serological pattern Anti-HBc alone: report on a workshop. **Journal of Medical Virology**, **62**: 450 – 455, 2000.

HADLER, S.C.; MARGOLIS, H.S. "Hepatitis B immunization: vaccine types, efficacy and indications for immunization. **Current Clinical Topics in Infectious Diseases**, **13**, 283 – 308, 1992.

HADLER, S.C.; FRANCIS, D.P.; MAYNARD, J.E.; THOMPSON, S.E.; JUDSON, F.N. Long-term immunogenicity and efficacy of hepatitis B vaccine in homosexual men. **N Engl J Med** **315**: 209 – 214, 1986.

- HADLER, S.C.; FAY, O.H.; PINHEIRO, F.; MAYNARD, J.E. La hepatitis em lãs Américas: informe del grupo colaborador de la OPS. **Bol Ofic Sanit Panamer**, 103: 185 – 208, 1987.
- HALL, A.J. Hepatitis B vaccination: protection for how long and against what? **B M J** 307: 276 – 277, 1993.
- HANSON, M.R.; POLENSKY, H.F. Evaluation of routine anti-HBc screening of volunteer blood donors: a questionable surrogate test for non-A, non-B hepatitis. **Transfusion**, 27: 107 - 108, 1987.
- HETLAND, G.; SKAUG, K.; LARSEN, J.; MAELAND, A.; STROMME, J.H.; STORVOLD, G. Prevalence of anti-HVC in Norwegian blood donors with anti-HBc or increased ALT levels. **Transfusion**, 30: 776 – 779, 1990.
- HOLLIGER, E.B. Factors influencing the immune response to hepatitis B vaccine, booster dose guidelines and vaccine protocol recommendations. **Am J Med Suppl**, 3A: 365 – 405, 1989.
- HOLLINGER, E.B.; TROISI, C.L.; PAPE, P.E. Anti-HBs response to vaccination with a human hepatitis B vaccine made by recombinant DNA tecnology in yeast. **J Infect Dis**, 153: 156 – 159, 1986.
- HOLLINGER, E.B. Hepatitis B virus. In FIELDS, B.N.; KNIPE, D.M.; HAWLEY, P.M. eds. *Fields virology*, 3nd ed. Philadelphia: Lippincott Raven: 2739 – 807, 1996.
- HOOFNAGLE, J.H. Serologic markers of hepatitis B vírus infection. **Ann Rev Med**, 32: 1 – 11, 1981.
- HOOFNAGLE, J.H.; GERETY, R.J. *et al.* Antibody to hepatitis B core antigen. A sensitive indicator of hepatitis B virus replication. **N Engl Med**, 299: 1336 – 1340, 1974.
- HOPKINS, R.; KANE, E.; ROBERTSON, A.E.; HASSE, G. Hepatitis B virus transmitted by HBsAg-negative blood containing anti-HBc. **Med Lab Sci** 39: 61 – 62, 1982.

HOYOS, M.; SARRION, J.V.; PEREZ-CASTELANOS, T.; PRIETO, M.; MARTY, M.L.; GARRIGUES, V.; BERENGUER, J. Prospective assessment of donor blood screening for antibody to hepatitis B core antigen as a means of preventing posttransfusion non-A, non-B hepatitis. **Hepatology**, 9: 449 – 451, 1989.

IDILMAN, R.; DE MARIA, N.; COLANTONI, A.; DADIR A.; VAN THIEL, D.H. The effect of high dose and short interval VHB vaccination in individuals with chronic hepatitis C. **The American Journal of Gastroenterology**, 97 (2): 435 – 439, 2002.

JAISWAL, S.B., CHITNIS, D.S. Antibody response to hepatitis B vaccine among hemodialysis patients. **Lancet**, 346(18): 1363, 1995.

JEANTET, D.; CHEMIN, I. et al. Characterization of two hepatitis B virus population isolated from a hepatitis B surface antigen-negative patient. **Hepatology** 35: 1215 – 1224, 2002.

JEANTET, D.; CHEMIN, I.; MANDRAND, B.; ZOULIM, F.; TREPO, C.; KAY, A. Characterization of two hepatitis B virus populations isolated from a hepatitis B surface antigen-negative patient. **Hepatology**, 35: 1215-1224, 2002.

JILG, W.; HOTTENTRÄGER, B.; WEINBERGER, K.; SCHLOTTMANN, K.; FRICK, E.; HOLSTEGE, A.; SCHÖLMERICH, J.; PALITZSCH, K.D. Prevalence of markers for hepatitis B in the adult German population. **J Med Virol** 63: 96 – 102, 2001

KANEKO, S.; FEINSTONE, S.M.; MILLER, R.H. Rapid and sensitive method for the detection of serum hepatitis B virus DNA using the polymerase chain reaction technique. **J Clin Microbiol**, 27: 1930 – 1933, 1989.

KANEKO, S.; MILLER, R.H. ; DI BISCEGLIE, A.M.; FEINSTONE, S.M.; HOOFNAGLE, J.H.; PURCELL, R.H. Detection of hepatitis B virus DNA in serum by polymerase chain reaction: application for clinical diagnosis. **Gastroenterology**, 90: 799 – 804, 1990.

KATCHAKI, J.N.; SIEM, T.H.; BROUWER, R. Non-B post-transfusion hepatitis with hepatitis B core antibodies in donor blood. **New Engl J Med**, 307: 628 – 629, 1982.

KEW, M.; TAKAHASHI, H.; COPPINS, A.; WANDS, J. Comparison between polyclonal and first and second generation monoclonal radioimmunoassays in the detection of hepatitis B surface antigen in patients with hepatocellular carcinoma. **Hepatology**, **6**: 636-639, 1986.

KHERFOUCHE, C. Bedeutung des isolierten hepatitis-serologischen befundes anti-HBc positiv bei Blutspendern. M.S. thesis. University of Zürich, Zürich, Switzerland.

KITCHEN, A.D.; HARRISON, T.J.; MEACOCK, T.J.; ZUCKERMAN, A.J.; HARRISON, J.F. Incidence and significance of hepatitis B core antibody in a healthy blood donor population. **J Med Virol**, **25**: 69 – 75, 1988.

KLINE, W.E.; BOWMAN, R.J.; ENNIS MCCURDY, K.K.; O'MALLEY, J.P.; SANDLER, S.G. Hepatitis B core antibody (anti-HBc) in blood donors in the United States: implications for surrogate testing programs. **Transfusion**, **27**: 99 – 102, 1987.

KOIKE, K.; KOBAYASHI, M.; GONDO, M.; HAYASHI, I.; OSUGA, T.; TAKADA, S. Hepatitis B virus DNA is frequently found in liver biopsy samples from hepatitis C virus-infected chronic hepatitis patients. **J Med Virol**, **54**: 249-255, 1998.

KOZIOL, D.E.; HOLAND, P.V.; ALLING, D.W.; MELPOLDER, J.C.; SOLOMON, R.E.; PURCELL, R.H.; HUDSON, L.M.; SHOUP, F.J.; KRAKANER, H.; ALTER, H.J. Antibody to hepatitis B core antigen as aparadoxical marker for non-A, non-B hepatitis agents in donated blood. **Ann Intern Med**, **104**: 488 – 495, 1986.

KROES, A.C.M.; QUINT, W.G.V.; HEIJTINK, R.A. Signicance of isolated hepatitis B core antibodies detected by enzyme immunoasay in a high risk population. **J Med Virol**, **35**: 96 – 100, 1991.

LANDER, J.J.; GITNICK, G.L.; GELB, L.H.; AACH, R.D. Anticore antibody screening of transfused blood. **Vox Sang**, **34**: 77 – 80, 1978.

LARGURA, M.A.; PACHECO, M.; LARGURA, A. Ausência do HBV-DNA por PCR em soros de doadores de sangue com HBsAg negativo e anti-HBc positivo em região de alta prevalência de hepatite B. **Laes&Haes**.

LARSEN, J.; HETLAND, G.; SKAUG, K. Posttransfusion hepatitis B transmitted by blood from a hepatitis B surface antigen-negative hepatitis B virus carrier. **Transfusion**, **30** (5): 431 – 432, 1990.

LARZUL, D.; GUIGUE, F.; SNINSKY, J.J.; MACK, D.H. BRECHOT, C.; GUESDON, J.L. Detection of hepatitis B virus sequences in serum by using in vitro enzyme amplification. **J Virol Methods**, **20**: 227 – 37, 1988.

LEITE, N.C.; NOGUEIRA, C.M.; COELHO, H.S.M.; PEREZ, R.; MARTINS, S.J.; SOARES, J.A.S.; JUNQUEIRA, P.C. Prevalência do anticorpo contra hepatite C (anti-VHC) em doadores de sangue no Rio de Janeiro, Brasil. Sua relação com ALT e anti-HBc+. **Arq Gastroenterol**, **29**: 5 – 11, 1992.

LEMON, S.M.; GATES, N.L. *et al.* IgM antibody to hepatitis B core antigen as a diagnostic parameter of acute infection with hepatitis B virus. **J Infect Dis**, **143**: 803 – 809, 1981.

LEROUX-ROELS, G.; DESOMBERE, I. “Hepatitis B vaccine containing surface antigen and select pré S1 and pre S2 sequences 1 – Safety and immunogenicity in Young, healthy adults” **Vaccine** **15**: 1724 – 1731, 1997.

LIN-CHUN, M.; TSAI, S.J.L.; WATANABE, J.; NISHIOKA, K. The prevalence of anti-HCV among chinese voluntary blood donors in Taiwan. **Transfusion**, **30**: 471 – 473, 1990.

LOK, A.S.F.; HEATHCOTE, J.; HOOFNAGLE, J.H. Management of hepatitis B: 2000 - Summary of a workshop. **Gastroenterology**, **120**: 1828-185, 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** **8**: 766 – 770, 1988.

LOK, A.S.F.; MCMAHON, B.J. Chronic hepatitis B. **Hepatology**, **34**: 1225-1241, 2001.

LORIOT, M.A.; MARCELLIN, P. *et al.* Persistence of hepatitis B virus DNA in serum and liver from patients with chronic hepatitis B after loss of HBsAg. **J Hepatol**, **27**: 251 – 258, 1997.

LUO, K.X.; ZHOU, R.; HE, C.; LIANG, Z.S.; JIANG, S. Hvirus DNA in sera of carriers positive exclusively for antibodies to the hepatitis B core antigen. **J Med Virol**, **35**: 55 – 59, 1991.

LUZZI, J.R.; SCHALCH, A.L.; BERTONCELLO, C.E.; FUNCHS, F.; NEVES, P.A. Determinação de anti-HBc em doadores de sangue. In Congresso da Sociedade Brasileira de Hematologia, 19, Campinas, 1990, **Anais**, p.109.

MAGNIUS, L.O.; ESPMARK, A. A new antigen complex occurring with Australia antigen. **Acta Path Microbiol Scand**, **80**: 335, 1972.

MAUPAS, P.; COURSAGET, P. "Immunization against Hepatitis B in man. **Lancet**, **26**: 1367 – 1370, 1976.

McKINNEY, W.P.; RUSSLER, S.K.; HOROWITZ, M.M.; BATTIOLA, R.J.; LEE, M.B.F. Duration of response to intramuscular versus dose intradermal hepatitis B booster immunization. **Infect Control Hosp Epidemiol**, **12(4)**: 226 – 230, 1991.

McMAHON, B.J.; PARKINSON, A.J.; HELMINICK, C.; WAINWRIGHT, R.B.; BULKON, L.; KELLERMAN, D.A.; SHOENBERG, S.; RITTER, D. Response of persons positive only for antibody to hepatitis B core antigen (anti-HBc) to hepatitis B vaccines. **Gastroenterology**, **103**: 590 – 594, 1992.

MUSHAHWAR, I.K.; DIENSTAG, J.L.; POLESKY, H.F.; McGRATH, L.C.; DECKER, R.H.; OVERBY, L.R. Interpretation of various serological profiles of hepatitis B virus infection. **Am J Clin Pathol**, **76**: 773 – 777, 1981.

NAVARRO, J.F.; TERUEL, J.L.; MATEOS, M.; ORTUNO, J. Hepatitis C virus infection disease the effective antibody response to hepatitis B vaccine in hemodialysis patients. **Clin Nephrol**, **41(2)**: 113 – 116, 1994.

NEURATH, A.R.; KENT, S.B.H. "Antibodies to a synthetic peptide from the pre S (120 – 145) region of the hepatitis B virus envelope are virus neutralizing. **Vaccine**, **4**: 35 – 37, 1986.

NOGUEIRA, C.M.J.; COELHO, V.C.; FERREIRA, H.S.M.; COSTA, L.C.; JUNQUEIRA, M.J.P. Avaliação dos resultados de marcadores virais de hepatite em doadores de sangue do Hospital universitário Clementino Fraga Filho – U.F.R.J. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Hematologia, 19, Campinas, 1990, **Anais**, p.107.

OHKAWA, K.; HAYASHI, N.; YUKI, N.; MASUZAWA, M.; KATO, M.; YAMAMOTO, K.; HOSOTSUBO, H.; DEGUCHI, M.; KATAYAMA, K. Long-term follow-up of hepatitis B virus and hepatitis C virus replicative levels in chronic hepatitis coinfecting with both viruses. **J Med Virol**, **46**: 258-264, 1995.

OHTO, H.; NINOMIYA, K. Donor anti-HBc and ALT and non-A, non-B hepatitis. **Transfusion**, **29**: 277 – 278, 1989.

OKOCHI, K., MURAKAMI, S., Observations on Australian antigen in Japanese. **Vox Sang**, **15**: 374 – 385, 1968.

OON, C.J.; CHENM W,N., ZHAO, Y.; TENG, S.W.; LEONG, A.L. Detection of hepatitis B surface antigen mutants and their integration in human hepatocellular carcinoma. **Cancer Lett**, **136**: 95-99, 1999.

PEARL, K.K.; ORTIZ, A.A.; PEARL, W. Efficacy immunization with combination of serum and recombinant hepatitis B vaccines. **Infect Control Hosp Epidemiol**, **1(8)**: 476 – 478, 1993.

POOVORAWAN, Y.; SANPAVAT, S.; PONGPUNGLERT, W.; CHUMDERMPASETSUK, S.; SENTRAKUL, P.; VANDEPAPELIERE, P.; SAFARY, A. Long term efficacy of hepatitis B vaccine in infants born to hepatitis B e antigen-positive mothers. **Pediatric Infect Dis J**, **11(10)**: 816 – 821, 1992.

RAKELA, J. MOSLEY, J.W.; AACH, R.D.; GITNICK, G.L.; HOLLINGER, F.B.; STEVENS, C.E.; SZMUNESS, W. Viral hepatitis after transfusion with blood containing antibody to hepatitis B core antigen. **Gastroenterology**, **78**: 1318, 1980.

RAYMOND, S.; KOFF, M.D. Hepatitis B today: clinical and diagnostic overview. **Ped Infect Dis J**, **5**: 428-432, 1993.

REHERMANN, B.; FERRARI, C.; PASQUINELLI, C.; CHISARI, Y.; SHAFRITZ, D.A. Hepatitis B virus persists for decades after patients' recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. **Nature Méd**, 2: 1104-1108, 1996.

SANCHEZ-QUIJANO, A.; JAUREGUI, J.I. *et al.* Hepatitis B virus occult infection in subjects with persistent isolated anti-HBc reactivity. **J Hepatol** 17: 288 – 293, 1993.

SCHARSCHMIDT, B.F.; HELD, M.J.; HOLLAND, H.H.; READ, A.E.; LAVINE, J.E.; VEEREMAN, G.; MCGUIRE, R.F.; THALER, M.M. Hepatitis B in patients with HIV infection: relationship to aids and patients survival. **Ann. Intern. Med.** 117: 837-8, 1992.

SCHMIDT, P.J.; LEPARC, G.F.; SAMIA, C.T. Comparison of assays for anti-HBc in blood donors. **Transfusion**, 28: 389 – 391, 1988.

SHIH, L.N.; SHEU, J.C.; WANG, J.T.; HUANG, G.T.; YANG, P.M.; LEE, H.S.; SUNG, J.L.; WANG, T.H.; CHEN, D.S. Serum hepatitis B virus DNA in healthy HBsAg-negative chinese adults evaluated by polymerase chain reaction. **J Med Virol** 32: 257 – 260, 1990.

SHIOTA, G.; OYAMA, K. *et al.* Occult hepatitis B virus infection in HBs antigen-negative hepatocellular carcinoma in Japanese population: involvement of HBx and p53. **J Med Virol** 62: 151 – 158, 2000.

SIMONETTI R.G.; CAMMA, C.; FIORELLO, F.; COTTONE, M.; RAPICETTA, M.; MARINO, L.; FIORENTINO, G. Hepatitis C virus infection as a risk factor for hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. A case control study." **Ann Intern Med**, 116: 97 – 102, 1992.

SJOGREN, M.; HOOFNAGLE, J.H. Immunoglobulin M antibody to hepatitis B core antigen in patients with chronic type B hepatitis. **Gastroenterology** 89: 252- 258, 1985.

SOUTO, F.J.D.; OZAKI, K.S.; PEREIRA, E.S.; SOUSA, K.M.; SILVEIRA, W.N.; PACHECO, M.S. Efeito da vacina contra hepatite B em indivíduos com anticorpos contra o antígeno central da hepatite B (anti-HBc) como único marcador. **GED** 20(2): 43 – 47, 2001.

SOUZA, A.M.; VAZ, R.S.; CARVALHO, M.B.; ARAL, Y.; HAMERSCHILAK, N. Prevalência de testes sorológicos relacionados à hepatite B e não-A, não-B em doadores de sangue. In Congresso Brasileiro de Hematologia, 19, Campinas, 1990. **Anais**, p.103.

STEVENS, C.E.; AACH, R.D.; HOLLINGER, B.; MOSLEY, J.W.; SZMUNESS, W.; KAHN, R.; WERCH, J.; EDWARDS, V. 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 Inter Med**, **101**: 733 – 738, 1984.

STRAUSS, E. Marcadores de hepatites virais em doadores de sangue: o dilema da escassez versus possibilidade de contaminação. **GED** **14**: 72 – 76, 1995.

STRUVE, J. Hepatitis B virus infection among swedish adults: aspects on seroepidemiology, transmission and vaccine response. **Scand J Infect Dis Suppl** **82**: 1 – 57, 1992.

SUMAZAKI, R.; MOTZ, M.; WOLF, H.; HEINIG, J.; JILG, W.; DEINHARDT, F. Detection of hepatitis B virus in serum using amplification of viral DNA by means of the polymerase chain reaction. **J Med Virol** **27**: 304 – 408, 1989.

SZMUNESS, W.; STEVENS, C.E. Hepatitis B vaccine: demonstration of efficacy in a controller clinical trial in a high risk population in the United States. **New England Journal of Medicine**, **303**: 833 – 841, 1980.

THIERS, V. ; NAKAJIMA, E.; KREMSDORF, D.; MACK ,D.; SCHELLEKENS, H.; DRISS, F.; GOUDEAU, A.; WANDS, J.; SNINSKY, J.; TIOLLAIS, P. Transmission of hepatitis B from hepatitis-B-seronegative subjects. **Lancet**, **2**: 1273-1276, 1988.

THIERS, V.; FUJITA, Y.; TAKAHASHI, H.; SCHELLEKENS, H.; DE REUS, A.; DRISS, F.; DEGOTT, C.; ISSELBACHER, K.; TIOLLAIS, P.; WANDS, J.; BRECHOT, C. Hepatitis B virus DNA sequences in the serum of HBsAg-negative patients with chronic liver disease: Transmission of viral particles to chimpanzees. **Viral Hepatitis and Liver disease**: 553 – 57, 1988.

TROISI, C.L.; HOLLINGER, F.B. Current tests for antibodyto hepatitis B core antigen used to screen donors for non-A, non-B hepatitis are comparable to the original radioimmunoassay for hepatitis B core antigen. **Transfusion**, **27**: 438 – 440, 1987.

- UCHIDA, T.; KANEITA, Y. *et al.* Hepatitis C virus is frequently coinfecting with serum marker-negative hepatitis B virus: probable replication promotion of the former by the latter as demonstrated by in vitro cotransfection. **J Med Virol** **52**: 399 – 405, 1997.
- WANG, J.T.; WANG, T.H.; SHEU, J.C.; SHIH, L.N.; LIN, J.T.; CHEN, D.S. Detection of hepatitis B virus DNA by polymerase chain reaction in plasma of volunteer blood donors negative for hepatitis B surface antigen. **J Infect Dis** **163**: 397 – 399, 1991.
- WENDEL, S.; LUZZI, J.R.; RUSSO, C.; FONTÃO, R.C.R.; GHANAME, J. Pesquisa de anti-HBc em doadores de sangue em São Paulo: deverá este teste ser adotado pelo Brasil? **Rev Paul Med**, **109**: 77 – 83, 1991.
- WIEDMANN, M.; LIEBERT, U.G.; OESSEN, U.; PORET, H.; WIESE, M.; SCHRODER, S.; HALM, U.; MÖSSNER, J.; BERR, F. Decreased Immunogenicity of recombinant hepatitis B vaccine in chronic hepatitis C. **Hepatology**, **31**(1): 230 – 234, 2000.
- ZARSKI, J.P.; BOHN, B.; BASTIE, A.; PAWLOTSKY, J.M.; BAUD, M.; BOST-BEZEAX, F.; NHIEU, J.T.V.; SEIGNEURIN, J.M.; BUFFET, C.; DHUMEAUX, D. Characteristic of patients with dual infection by hepatitis b and C viruses. **J Hepatol**, **28**: 27-33, 1998.
- ZHANG, Y.Y.; GUO, L.S.; LI, L.; ZHANG, Y.D.; HAO, L.J.; HANSSON, B.G.; NORDENFELT, E. Hepatitis B virus DNA detected by PCR in sera and liver tissues of Chinese patients with chronic liver diseases. **Clin Med J** **106**: 7 – 12, 1993.
- ZIGNEGO, A.L.; FONTANA, R.; PULITI, S.; BARBAGLI, S.; MONTI, M.; CARECCIA, G.; GIANNELLI, F.; GIANNINI, C.; BUZZELLI, G.; ROSSANA, M.; BONINO, F.; GENTILINI, P. Relevance of inapparent coinfection by hepatitis B virus in α interferon-treated patients with hepatitis C virus chronic infection. **J Med Virol** **51**: 313-318, 1997.

9 - APÊNDICES

DATA: ____/____/____
NOME: _____ **HC:** _____
FONE: _____ **D.N.:** ____/____/____ **SEXO** _____
COR: _____ **ESTADO CIVIL:** _____ **Nº DE FILHOS:** _____
PROFISSÃO: _____
Nº DE DOAÇÕES: _____ **DATA DOAÇÃO:** ____/____/____
PERFIL NA TRIAGEM SOROLÓGICA: HBsAg: _____
DATA ____/____/____
ANTI HBc IgG: _____
ANTI HBsAg: _____

DROGAS

USOU DROGAS NO PASSADO?
☐ SIM ☐ NÃO
 USAVA DROGAS POR VIA EV, SC, IM, VO, OU INALAÇÃO?
☐ SIM ☐ NÃO VIA: _____
 USAVA DROGAS EM GRUPO POR VIA PARENTERAL?
☐ SIM ☐ NÃO
 ATUALMENTE VOCÊ:
☐ PAROU DE USAR DROGAS HÁ _____ MESES
☐ CONTINUA USANDO DROGAS
 QUAL DROGA VOCÊ USA? _____
 USA DROGAS POR VIA PARENTERAL, ATUALMENTE?
 QUAL(IS) _____
☐ SIM ☐ NÃO ☐ EM GRUPO

HÁBITOS SEXUAIS

SEU COMPORTAMENTO SEXUAL NO PRESENTE É:
☐ NÃO MANTÉM RELAÇÕES SEXUAIS HÁ _____ (TEMPO)
☐ HETEROSSEXUAL COM PARCEIRO ÚNICO HÁ _____ (TEMPO)
☐ HETEROSSEXUAL COM MÚLTIPLOS PARCEIROS, EM MEDIA _____/MÊS,
 SENDO TAIS PARCEIROS CONHECIDOS
☐ HETEROSSEXUAL COM MÚLTIPLOS PARCEIROS, EM MEDIA _____/MÊS,
 SENDO TAIS PARCEIROS DESCONHECIDOS
☐ HETEROSSEXUAL COM UM PARCEIRO FIXO E _____ VARIÁVEL(IS)
 ESTE PARCEIRO VARIÁVEL É GERALMENTE:
☐ CONHECIDO ☐ DESCONHECIDO
☐ HOMOSSEXUAL COM PARCEIRO ÚNICO HÁ _____ (TEMPO)
☐ HOMOSSEXUAL COM MÚLTIPLOS PARCEIROS, EM MEDIA _____/MÊS,
 SENDO TAIS PARCEIROS CONHECIDOS
☐ HOMOSSEXUAL COM MÚLTIPLOS PARCEIROS, EM MEDIA _____/MÊS,
 SENDO TAIS PARCEIROS DESCONHECIDOS
☐ HOMOSSEXUAL COM UM PARCEIRO FIXO E OUTRO(S) VARIÁVEL(IS)
 Nº _____

ESTE(S) PARCEIRO(S) VARIÁVEL(IS) SÃO GERALMENTE:

- ☐ CONHECIDOS ☐ DESCONHECIDOS
☐ BISSEXUAL, VARIANDO O PARCEIRO MASCULINO
☐ BISSEXUAL, VARIANDO O PARCEIRO FEMININO
☐ BISSEXUAL, VARIANDO AMBOS PARCEIROS

ESTES PARCEIROS SÃO:

- ☐ CONHECIDOS ☐ DESCONHECIDOS
☐ PROSTITUTOS(AS)

DOAÇÕES DE SANGUE

É DOADOR DE SANGUE?

- ☐ 1º VEZ ☐ OCASIONALMENTE ☐ HABITUAL

JÁ FEZ EXAMES PARA HEPATITES EM OUTRAS DOAÇÕES?

- ☐ SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SABE RESULTADO: _____

TEM CARTEIRA DE DOADOR?

- ☐ SIM ☐ NÃO Nº _____

JÁ RECEBEU TRANSFUSÃO DE SANGUE?

- ☐ SIM ☐ NÃO

QUANTAS VEZES? _____

EM QUE DATA FOI A ÚLTIMA? _____

O SEU PARCEIRO SEXUAL JÁ RECEBEU SANGUE OU HEMODERIVADOS?

- ☐ SIM ☐ NÃO ☐ NÃO SABE HÁ QTO TEMPO _____

JÁ RECEBEU INJEÇÕES COM SERINGAS E/OU AGULHAS NÃO DESCARTÁVEIS?

- ☐ SIM ☐ NÃO HÁ QTO TEMPO? _____

JÁ FEZ TRATAMENTO COM ACUPUNTURA?

- ☐ SIM ☐ NÃO

JÁ FEZ TATUAGEM?

- ☐ SIM ☐ NÃO

TEVE CONTATO COM PESSOA COM HEPATITE OU ICTERÍCIA?

- ☐ SIM ☐ NÃO

QUAL O TIPO DE CONTATO?(SEXUAL, SOCIAL,ETC) _____

HÁ QTO TEMPO FOI ESTE CONTATO? _____

JÁ TEVE HEPATITE OU ICTERÍCIA?

- ☐ SIM ☐ NÃO

DESCREVA _____

CIRURGIAS ANTERIORES: _____

_____ DATA: ____ / ____ / ____

_____ DATA: ____ / ____ / ____



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS-UNICAMP
HOSPITAL DE CLÍNICAS

SERVIÇO SOCIAL

Cidade Universitária "Zeferino Vaz", S/Nº - Caixa Postal 6142 -
13083-970 - Campinas - SP
☎ (019) 788-7250 - (019) 788-7460

Prezado doador

Quando você doou sangue, vários exames foram realizados. O seu exame mostrou que você tem um anticorpo contra o vírus da hepatite B. Isto significa que você teve, em algum momento da sua vida, contato com este vírus.

Com certeza você não está doente no momento. Com os exames realizados até agora, não é possível saber se você, embora não tendo doença no fígado, ainda tem a possibilidade de transmitir este vírus para outras pessoas.

Estamos convocando você para realizar um outro tipo de exame de sangue, que vai com certeza definir o seu caso.

Se você estiver totalmente livre de transmitir o vírus da hepatite B, será comunicado por carta que não necessita comparecer ao Hospital de Clínicas e receberá alta.

Se você ainda não estiver totalmente livre de transmitir a hepatite B, será comunicado por carta para comparecer ao Hospital de Clínicas para receber uma dose de vacina.

Obrigado.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS-UNICAMP
HOSPITAL DE CLÍNICAS

SERVIÇO SOCIAL

Cidade Universitária "Zeferino Vaz", S/Nº - Caixa Postal 6142 -
13083-970 - Campinas - SP
☎ (019) 788-7250 - (019) 788-7460

Prezado doador,

Como foi explicado na reunião realizada no Hospital de Clínicas da UNICAMP realizamos a pesquisa do anticorpo protetor (Anti HBs) no seu sangue.

No seu caso o exame foi positivo e você está totalmente livre da hepatite B e também não está mais transmitindo o vírus da hepatite B para outras pessoas. Portanto não há necessidade de você comparecer ao Hospital de Clínicas, ou se preocupar com este assunto.

Como estes exames ficam positivos por muitos anos, se você doar sangue, apesar de não ter mais o vírus da hepatite B, você será novamente bloqueado para investigação.

Aconselhamos, para evitar este problema, que você não doe sangue outra vez.

Obrigado.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS-UNICAMP
HOSPITAL DE CLÍNICAS

SERVIÇO SOCIAL

Cidade Universitária "Zeferino Vaz", S/Nº - Caixa Postal 6142 -
13083-970 - Campinas - SP
☎ (019) 788-7250 - (019) 788-7460

Prezado doador,

Como foi explicado na reunião realizada no Hospital de Clínicas da UNICAMP realizamos a pesquisa do anticorpo protetor (Anti HBs) no seu sangue.

No seu caso, o exame foi negativo.

Para tanto, a fim de estimularmos a produção deste anticorpo, e você ficar protegido e livre da hepatite B estamos solicitando que você compareça ao Ambulatório do Hospital de Clínicas, na faixa marrom (no mesmo lugar onde você foi atendido) no dia _____ de _____, quinta-feira, às 8 horas para receber uma dose de vacina contra o vírus da hepatite B.

Obrigado.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS-UNICAMP
HOSPITAL DE CLÍNICAS

SERVIÇO SOCIAL

Cidade Universitária "Zeferino Vaz", S/Nº - Caixa Postal 6142 -
13083-970 - Campinas - SP
☎ (019) 788-7250 - (019) 788-7460

Prezado doador,

Como foi explicado na reunião realizada no Hospital de Clínicas da UNICAMP, repetimos a pesquisa do anticorpo Anti-HBc no seu sangue.

Na repetição o exame foi **NEGATIVO**.

Com este resultado agora confirmado o(a) Sr(a) não necessita mais se preocupar com este assunto de Hepatite B na doação de sangue, nem comparecer ao Hospital de Clínicas.

O seu exame era um falso positivo e não há necessidade de qualquer tratamento ou de novos exames.

Obrigado.

1. Determinação do Antígeno de Superfície do Vírus da Hepatite B (HBsAg)

A determinação do HBsAg foi realizada através de um imunoenensaio enzimático de micropartículas (MEIA) de terceira geração utilizando-se o analisador automático AXSYM.

As amostras e todos os reagentes do Axsym HBsAg necessários são pipetados pela sonda de amostra nos vários poços de uma célula de reação (reaction vessels - RV) no centro de pipetagem. A RV é imediatamente transferida para o centro de processamento pela sonda de processamento. Pipetagens adicionais são realizadas no centro de processamento pela sonda de processamento.

As reações ocorrem na seguinte seqüência:

As amostras, as micropartículas revestidas com anticorpos Anti-HBs e os anticorpos Anti-HBs biotinilados, combinam-se na cavidade da RV.

Quando o HBsAg está presente na amostra, liga-se às micropartículas revestidas de Anti-HBs e ao Anti-HBs biotinilado, formando um complexo antígeno- anticorpo numa mistura de reação.

Uma parte da mistura de reação é transferida para a matriz de fibra de vidro (matrix cell). As micropartículas ligam-se irreversivelmente à matriz de fibra de vidro.

O conjugado de anticorpos anti-biotina fosfatase alcalina é dispensado na “matrix cell” liga-se a qualquer complexo antígeno- anticorpo ligado às micropartículas.

A “matrix cell” é lavada de forma a remover materiais não ligados as micropartículas.

O substrato 4-metilumbeliferil-fosfato é adicionado. O conjugado marcado com fosfatase alcalina catalisa a remoção do grupo fosfato do substrato, formando-se 4-metilumbeliferona, um produto fluorescente que é medido pelo conjunto óptico MEIA.

A presença ou ausência de HBsAg na amostra é determinada pela comparação da taxa de formação de produto fluorescente com uma taxa de cutoff determinada à partir de uma calibração. Se a taxa de formação de produto fluorescente da amostra for superior ou igual à taxa de cutoff, a amostra é considerada reativa para o HBsAg.

2. Determinação Quantitativa do Anticorpo para o Antígeno de Superfície do Vírus da Hepatite B (Anti-HBs)

A determinação do Anti-HBs foi realizada através de um imunoensaio enzimático de micropartículas (MEIA) utilizando-se o analisador automático AXSYM. As amostras e todos os reagentes do AxSYM AUSAB necessários são pipetados pela probe de amostra nos vários poços de uma célula de reação (reaction vessels - RV) no centro de amostra. A RV é imediatamente transferida para o centro de processamento pela sonda de processamento, onde são feitas as pipetagens pela probe de processamento.

As reações ocorrem na seguinte sequência:

As amostras, e as micropartículas revestidas com o antígeno de superfície recombinante do vírus da hepatite B (rHBsAg) combinam-se em um poço da RV.

Quando o Anti-HBs está presente na amostra, liga-se as micropartículas revestidas, formando um complexo antígeno - anticorpo na mistura da reação.

Uma parte da mistura da reação é transferida para a matriz de fibra de vidro (matrix cell). As micropartículas ligam-se irreversivelmente à matriz de fibra de vidro.

O HBsAg Biotinilado é dispensado na matrix cell formando um complexo de antígeno-anticorpo-antígeno.

A anti-biotina conjugado de fosfatase alcalina é dispensada na “matrix cell” liga-se a qualquer complexo antígeno-anticorpo-antígeno ligado às micropartículas.

A “matrix cell” é lavada de forma a remover materiais não ligados as micropartículas.

O substrato 4-metilumbeliferil-fosfato é adicionado. O conjugado marcado com fosfatase alcalina catalisa a remoção do grupo fosfato do substrato, formando-se 4-metilumbeliferona, um produto fluorescente que é medido pelo conjunto óptico MEIA.

A concentração de Anti-HBs na amostra é determinada usando uma curva de calibração feita previamente. Se a concentração da amostra for igual ou superior a 10 mUI/mL, a amostra é considerada reativa.

3. Determinação do Anticorpo contra o Antígeno “Core” do Vírus da Hepatite B (Anti-HBc)

A determinação do Anti-HBc foi realizada através de um imunoenensaio enzimático de micropartículas (MEIA) utilizando-se o analisador automático AXSYM. As amostras e todos os reagentes do Axsym Core necessários são pipetados pela probe de amostra nos vários poços de uma célula de reação (reaction vessels - RV) no centro de amostra. A RV é imediatamente transferida para o centro de processamento pela sonda de processamento, onde são feitas as pipetagens pela probe de processamento.

As reações ocorrem na seguinte sequência:

As amostras, o diluente de amostra e as micropartículas revestidas com o antígeno core contra o vírus da hepatite B (rHBcAg) combinam-se em um poço da RV.

Quando o Anti-HBc está presente na amostra, liga-se as micropartículas revestidas de rHBcAg, formando um complexo antígeno - anticorpo na mistura da reação.

Uma parte da mistura da reação é transferida para a matriz de fibra de vidro (matrix cell). As micropartículas ligam-se irreversivelmente à matriz de fibra de vidro.

O conjugado de anticorpo (humano) contra o antígeno core do vírus da hepatite B fosfatase alcalina é dispensado na matrix cell e liga-se aos sítios antigênicos rHBcAg nas micropartículas que não estiverem ligados com o Anti-HBc da amostra.

A “matrix cell” é lavada de forma a remover materiais não ligados as micropartículas.

O substrato 4-metilumbeliferil-fosfato é adicionado. O conjugado marcado com fosfatase alcalina catalisa a remoção do grupo fosfato do substrato, formando-se 4-metilumbeliferona, um produto fluorescente que é medido pelo conjunto óptico MEIA.

A presença ou ausência de Anti-HBc na amostra é determinada pela comparação da taxa de formação de produto fluorescente com uma taxa de cutoff determinada à partir de uma calibração. Se a taxa de formação de produto fluorescente da amostra for inferior ou igual à taxa de cutoff, a amostra é considerada reativa para o Anti-HBc.

4. Determinação do Antígeno “e” do Vírus da Hepatite B (HBeAg)

A determinação do HBeAg foi realizada através de um imunoensaio enzimático de micropartículas (MEIA) utilizando-se o analisador automático AXSYM. As amostras e todos os reagentes do AxSYM HBe necessários são pipetados pela probe de amostra nos vários poços de uma célula de reação (reaction vessels - RV) no centro de amostra. A RV é imediatamente transferida para o centro de processamento pela sonda de processamento, onde são feitas as pipetagens pela probe de processamento.

As reações ocorrem na seguinte sequência:

As amostras, as micropartículas revestidas com o Anti-HBe (monoclonal de camundongo) e diluente de amostra combinam-se em um poço da RV.

Quando o HBeAg está presente na amostra, liga-se as micropartículas revestidas de Anti-HBe formando um complexo antígeno - anticorpo na mistura da reação.

Uma parte da mistura da reação é transferida para a matriz de fibra de vidro (matrix cell). As micropartículas ligam-se irreversivelmente à matriz de fibra de vidro.

O conjugado de Anti-HBe fosfatase alcalina é dispensado na matrix cell e liga-se com o complexo antígeno-anticorpo, formando um complexo anticorpo-antígeno-anticorpo.

A “matrix cell” é lavada de forma a remover materiais não ligados as micropartículas.

O substrato 4-metilumbeliferil-fosfato é adicionado. O conjugado marcado com fosfatase alcalina catalisa a remoção do grupo fosfato do substrato, formando-se 4-metilumbeliferona, um produto fluorescente que é medido pelo conjunto óptico MEIA.

A presença ou ausência de HBeAg na amostra é determinada pela comparação da taxa de formação de produto fluorescente com uma taxa de cutoff determinada à partir de uma calibração. Se a taxa de formação de produto fluorescente da amostra for superior ou igual à taxa de cutoff, a amostra é considerada reativa para o HBeAg

5. Determinação do Anticorpo para o Antígeno “e” do Vírus da Hepatite B (Anti-HBe)

A determinação do Anti-HBe foi realizada através de um imunoensaio enzimático de micropartículas (MEIA) utilizando-se o analisador automático AXSYM. As amostras e todos os reagentes do AxSYM Anti-HBe necessários são pipetados pela probe de amostra nos vários poços de uma célula de reação (reaction vessels - RV) no centro de amostra. A RV é imediatamente transferida para o centro de processamento pela sonda de processamento, onde são feitas as pipetagens pela probe de processamento.

As reações ocorrem na seguinte seqüência:

As amostras, e o reagente neutralizante (rHBeAg) são misturados no poço da RV.

Quando o Anti-HBe está presente na amostra, liga-se ao reagente neutralizante, formando um complexo antígeno - anticorpo na mistura da reação.

O diluente de amostra e as micropartículas revestidas com o anticorpo para o antígeno “e” do vírus da hepatite B (monoclonal de camundongo) são misturados em outro poço da mesma célula de reação.

As micropartículas revestidas com o anticorpo para o antígeno “e” do vírus da hepatite B (monoclonal de camundongo) diluídas são adicionadas ao complexo antígeno-anticorpo. Todos os rHBeAg não ligados do reagente neutralizante irá ligar-se as micropartículas

Uma parte da mistura da reação é transferida para a matriz de fibra de vidro (matrix cell). As micropartículas ligam-se irreversivelmente à matriz de fibra de vidro.

O conjugado anticorpo para o antígeno “e” do vírus da hepatite B fosfatase alcalina é dispensado na matrix cell e liga-se ao rHBeAg nas micropartículas.

A “matrix cell” é lavada de forma a remover materiais não ligados as micropartículas.

O substrato 4-metilumbeliferil-fosfato é adicionado. O conjugado marcado com fosfatase alcalina catalisa a remoção do grupo fosfato do substrato, formando-se 4-metilumbeliferona, um produto fluorescente que é medido pelo conjunto óptico MEIA.

A presença ou ausência do Anti-HBe na amostra é determinada pela comparação da taxa de formação de produto fluorescente com uma taxa de cutoff determinada à partir de uma calibração. Se a taxa de formação de produto fluorescente da amostra for inferior ou igual à taxa de cutoff, a amostra é considerada reativa para o Anti-HBe.

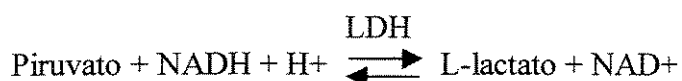
1. Dosagem das aminotransferases

1.1. Alanina Aminotransferase (ALT)

A dosagem bioquímica da alanina aminotransferase (ALT) foi realizada através de um ensaio cinético quantitativo a 37°C utilizando-se o analisador automático Hitachi 917 (Roche Laboratories). A reação ocorre quando o ALT catalisa a seguinte reação de equilíbrio:



O aumento do piruvato é determinado numa reação indicadora catalisada pela lactato-desidrogenase.

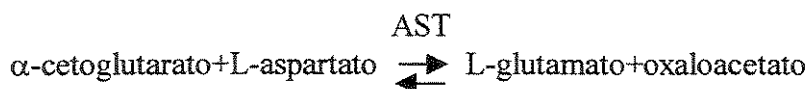


Na segunda reação, o NADH é oxidado para NAD. A velocidade de diminuição do NADH (medido fotometricamente) é diretamente proporcional à velocidade de formação do piruvato e, logo, à atividade da ALT.

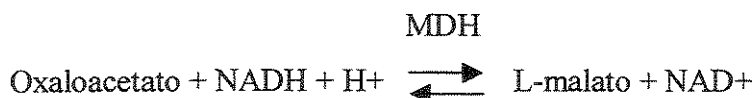
O resultado foi expresso em Unidades/Litro (U/L) e o valor de referência até 40 U/L para homens e até 30 U/L para mulheres.

1.2. Aspartato Aminotransferase (AST)

A dosagem bioquímica da aspartato aminotransferase (AST) foi realizada através de um ensaio cinético quantitativo a 37°C utilizando-se o analisador automático Hitachi 917 (Roche Laboratories). A reação ocorre quando o AST catalisa a seguinte reação de equilíbrio:



O aumento do oxaloacetato é determinado numa reação indicadora catalisada pela malato-desidrogenase.

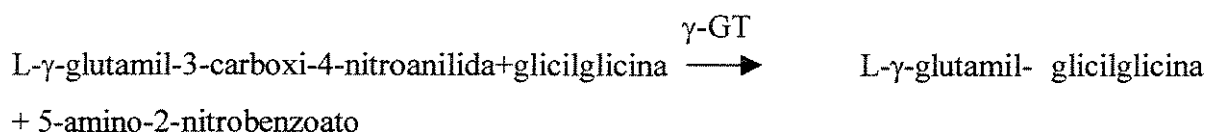


O NADH é oxidado para NAD. A velocidade de diminuição do NADH (medido fotometricamente) é diretamente proporcional à velocidade de formação do oxaloacetato, e logo, à atividade da AST.

O resultado foi expresso em Unidades/Litro (U/L) e o valor de referência de até 37 U/L para homens e até 31 U/L para mulheres.

2. Dosagem da Gama Glutamiltransferase (GGT)

A dosagem bioquímica da gama glutamiltransferase (GGT) foi realizada através de um ensaio cinético quantitativo a 37°C utilizando-se o analisador automático Hitachi 917 (Roche Laboratories).

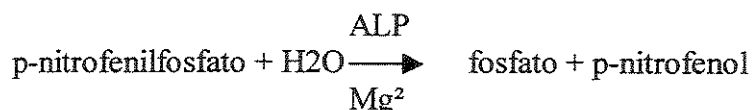


A gama-glutamiltransferase transfere o grupo γ -glutamilo da L- γ -glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida para a glicilglicina. A quantidade libertada de 5-amino-2-nitrobenzoato é proporcional à atividade de GGT e pode ser medida fotometricamente.

O resultado foi expresso em Unidades/Litro (U/L) e o valor de referência de 9 a 40 U/L para homens e de 9 a 35 U/L para mulheres.

3. Determinação da Fosfatase Alcalina

A dosagem bioquímica da fosfatase alcalina foi realizada através de um ensaio cinético quantitativo a 37°C utilizando-se o analisador automático Hitachi 917 (Roche Laboratories).



Na presença de íons de magnésio, o p-nitrofenilfosfato é transformado em fosfato e p-nitrofenol pela ação de fosfatase. O p-nitrofenol liberado é proporcional a atividade da fosfatase alcalina e pode ser medida fotometricamente. O resultado foi expresso em Unidades/Litro (U/L) e o valor de referência até 269 U/L para homens e até 239 U/L para mulheres.

PCR Amplicor Monitor (Roche Laboratories)

Este teste baseia-se em quatro processos principais: preparação da amostra, amplificação do DNA alvo por PCR usando iniciadores complementares específicos do HBV, hibridização dos produtos amplificados por sondas oligonucleotídicas específicas do(s) alvo(s), e detecção dos produtos amplificados e fixos à sonda por determinação colorimétrica.

O teste permite uma amplificação por PCR simultânea do DNA alvo do HBV e do DNA do padrão interno do HBV. O reagente de mistura principal contém um par de iniciadores específicos para o DNA alvo do HBV e para o DNA do padrão interno do HBV. A quantificação do DNA viral do HBV é efetuada utilizando o padrão interno do HBV, que é uma cópia transcrita de DNA não infecciosa que contém locais de fixação ao iniciador idênticos aos do DNA alvo do HBV e uma região de fixação da sonda que permite que o amplicon do padrão interno se distinga do amplicon do HBV. O padrão interno encontra-se incorporado em cada amostra individual, num número de cópias conhecido e é transportado através dos passos de amplificação por PCR, hibridização e detecção da amostra em conjunto com o HBV alvo e amplificado conjuntamente com o HBV alvo. Os níveis de DNA do HBV presentes na amostra de teste são determinados comparando o sinal do HBV com o sinal do padrão interno em cada amostra. A quantificação do DNA do HBV é efetuada utilizando uma curva padrão externa gerada em cada execução. Seis padrões do HBV são incluídos em cada execução. O número de cópias de cada padrão é representado graficamente contra a proporção do HBV: padrão interno para cada padrão para gerar uma curva padrão. Os níveis de DNA do HBV nas amostras são determinados por comparação da proporção do HBV: padrão interno para cada amostra com a curva padrão gerada em cada execução. O padrão interno compensa os efeitos de inibição e controla o processo de amplificação visando permitir uma quantificação rigorosa do DNA do HBV em cada amostra.

Este teste quantifica títulos de DNA de 1×10^3 a 4×10^7 partículas virais por mL de soro. Uma quantidade fixa de padrão interno, que é incluída na mistura principal, é adicionada a cada um dos tubos contendo a amostra processada de HBV ou o padrão do DNA do HBV. O DNA do HBV e do padrão interno são amplificados simultaneamente com semelhante eficácia. A proporção do sinal da densidade óptica (DO) do HBV ao sinal da D.O. do padrão interno é calculada para corrigir quaisquer diferenças na ampliação de tubo a tubo. A proporção do HBV/padrão interno para cada amostra é depois comparada com uma curva padrão gerada à partir de padrões de DNA do HBV executados com cada amplificação e reação de detecção e um número de genomas virais do HBV presentes em cada amostra é determinado à partir da curva padrão.

Resumidamente temos:

1. Preparação do Master Mix (pré-amplificação):

Adicionar 450 μL de MgCl_2 em um tubo de Master Mix (suficiente para 16 determinações). Homogeneizar por inversão 10 a 15 vezes (Não usar o vortex). O Master Mix pronto para uso tem estabilidade de 4 horas conservado 2 a 8°C.

Determine o número de tubos de reação necessários para amostras e padrões. Recomenda-se que os 6 padrões sejam amplificados a cada bateria de testes.

Pipetar 75 μL do Master Mix pronto para uso em cada tubo de reação.

Guardar o tray em um saco plástico de 2-8°C por até no máximo 4 horas

2. Preparação das amostras e controles (pré-amplificação):

Um controle negativo extra, soro humano normal poderá ser usada em paralelo com as amostras dos pacientes.

Os padrões não são extraídos.

Determine e identifique o número de tubos de 1,5 mL com tampa de rosca para cada amostra.

Adicionar 25 μL da solução “A” de preparação da amostra em cada um dos tubos.

Adicionar 50 μL de cada soro ou plasma no tubo correspondente. Tampar e agitar no Vortex por 5 segundos.

Marcar a face do tubo que ficará para a parte externa da centrífuga. Centrifugar por 5 minutos a 12.500 x g temperatura ambiente.

3. Preparação das amostras e controles (pré-amplificação):

Descartar cuidadosamente o sobrenadante de cada tubo com um transfer tip (usando um transfer novo para cada amostra). Remover o máximo de líquido possível sem agitar o “pellet”.

Pipetar 25 μL da solução “B” de preparação da amostra em cada “pellet” usando ponteiras com barreiras e tampar o tubo.

Agitar no Vortex por 15 segundos. O “pellet” não dissolve por completo. Não interfere no resultado do teste.

Incubar a 60°C por 1 hora.

Adicionar 25 μL da solução “C” de preparação da amostra, agitar no Vortex por 5 segundos.

Incubar os tubos a 100°C por 10 minutos.

4. Preparação das amostras e controles (pré-amplificação):

Centrifugar os tubos por 15 minutos na velocidade máxima (mínimo de 12.000 x g) a temperatura ambiente. Se a amplificação e a detecção não for realizada no mesmo dia armazenar as amostras processadas a -20°C ou menos por até 3 meses.

Usando uma micropipeta e ponteira com barreira transferir 25µL de cada padrão de HBV e cada amostra preparada nos tubos de reação contendo o Master Mix e tampar.

5. Amplificação e detecção.

Colocar o “tray” no bloco de amostra do termociclador que deverá conter o seguinte programa:

HOLD Program	2 min. 50°C.
HOLD Program	5 min. 96°C.
CYCLE Program (30 ciclos)	20 seg. 96°C; 20 seg. 58°C; 30 seg. 72°C.
HOLD Program	10 min. 72°C.
HOLD Program	72°C não ultrapassar 2 horas

Inicie o programa que terá um tempo de aproximadamente 1,5 horas.

Remover o “tray” do termociclador e tirar as tampas cuidadosamente para evitar aerossol e imediatamente pipete 100 µL do Binding Buffer (tampão de ligação) e misturar com a pipeta várias vezes. Incubar 10 minutos à temperatura ambiente.

O amplicon poderá ser armazenado por até 3 dias a 2-8°C, se a detecção não for realizada imediatamente.

Deixar todos os reagentes a temperatura ambiente.

Dissolver 1 tablete em 1 frasco de tampão substrato.

Remover o número de tiras da microplaca necessário para realizar o teste.

Transferir 2 alíquotas de 50 µL do DNA amplificado (uma para hibridização com HBV e outra com QS), para cada poço da microplaca.

Deixe um poço vazio para o “blank” substrato. Incubar por 15 minutos à temperatura ambiente no agitador de placa.

Adicionar 50 µL do eluente em cada poço. Incubar por 1 minuto à temperatura ambiente no agitador de placa.

Preparar a solução de lavagem diluindo 1/10 com água destilada ou deionizada.

Lavar 5 vezes com a solução de lavagem bater bem a placa.

Adicionar 50 µL do probe em todos os poços. Exceto o blank substrato Adicione HBV-probe para uma tira e QS probe para outra tira de amostras. Incubar no agitador de placa por 15 minutos à temperatura ambiente.

Lavar 5 vezes, bater bem a placa.

Adicionar 50ul conjugado Anti-DNP-AP em cada poço exceto no blank substrato. Agitar no agitador de placas por 15 minutos a temperatura ambiente.

Lavar 5 vezes, bater bem a placa

Adicionar 100 µL da solução substrato usando uma pipeta multicanal para minimizar a diferença de tempo, e começar marcar o tempo depois da adição da solução de substrato pronta na primeira tira. Coloque a placa no agitador à temperatura ambiente. A leitura da absorbância é feita no espectrofotômetro a 405 nm a 4 minutos, 10 minutos e 30 minutos contra o “blank”. Volte à placa para o agitador entre as leituras.

6. Interpretação de Resultados

Determine a média das duas leituras do blank para cada tempo de leitura (4, 10 e 30 minutos).

Selecione o sinal HBV e QS para amostras e padrões da seguinte forma: (O sinal HBV e QS pode ser lido para diferentes pontos de tempo).

Para todas as amostras e padrões que tenham uma absorbância menor ou igual à 2,0 aos 30 minutos de leitura, marcar o valor da absorbância na folha de cálculo. Marque a média da absorbância do blank para esse ponto. Marque o fator tempo como 1. Se A_{405} é maior que 2,0 aos 30 minutos de leitura vá para a de 10 minutos.

Para todas as amostras e padrões que tenham menor ou igual à 2,0 aos 10 minutos de leitura marque o valor da absorbância no folha de cálculo. Marque o fator tempo como 3. Se A_{405} é maior que 2,0 vá para a leitura de 4 minutos.

Para todas as amostras e padrões restantes use a leitura de 4 minutos. Marque o valor da absorbância na folha de cálculo. Marque a média absorbância do blank para esse ponto. Marque o fator tempo como 7,5.

Para cada padrão calcular a relação HBV/QS usando a seguinte fórmula:

(DO HBV – Blank) x fator tempo

(DO QS – Blank) x fator tempo

Verifique os padrões de HBV 0 e 10 especificada na seção controle de qualidade. Compare a relação de HBV/QS para o critério de aceitação lote específico. Se todos os valores são válidos, continue. Se qualquer valor dos padrões sair fora dos critérios de validade contate a Roche local.

	30 minutos	Procedimento	10 Minutos	Procedimento	4 Minutos		
HBV	> 2,0	Vá para leitura♣ Seguinte	>2,0	Vá para leitura♣ seguinte	<2,0 Marcar esta leitura		
QS	> 2,0	Vá para leitura♣ Seguinte	>2,0	Vá para leitura♣ seguinte	<2,0 Marcar esta leitura		
HBV	>2,0	Vá para leitura♣ Seguinte	<2,0 Marcar esta leitura				
QS	>2,0	Vá para leitura♣ Seguinte	<2,0 Marcar esta leitura				
HBV	<2,0 Marcar esta leitura						
QS	<2,0 Marcar esta leitura						

Determine uma curva padrão usando um papel log x log para colocar o número de cópias de cada padrão (0 a 10⁶) no eixo do X e o sinal correspondente da relação HBV/QS da folha de cálculo no eixo do Y.

Calcule a relação HBV/QS das amostras dos pacientes usando a fórmula
(DO HBV – Blank) x fator tempo / (DO QS – Blank) x fator tempo

Coloque a relação das amostras dos pacientes sobre o eixo do Y usando a curva padrão.

Determine o número de cópias de HBV por reação das amostras dos pacientes lendo o valor correspondente no eixo do X.

Multiplique o número de cópias de HBV por reação das amostras dos pacientes por 40 para determinar o número de cópias por mL.

7. Controle de qualidade

Como em qualquer procedimento laboratorial, quando novos operadores vão realizar o teste mais controles negativos e positivos deverão ser adicionados ao ensaio até se ter confiabilidade na habilidade deles realizarem a técnica.

7.1. Padrão de HBV 0 cópias

O valor da DO₄₀₅ HBV Total (DO- blank) para o padrão 0 deverá ser <0,100. Se esse valor for > 0,1 toda corrida deverá ser invalidada e a reação de amplificação e detecção deverá ser repetida. Consulte o guia de problemas ou contate o Centro de assistência técnica e científica Roche Local se o problema persistir.

7.2. Padrão de HBV 10 cópias

O valor da DO₄₀₅ HBV Total (DO – Blank) para o padrão 10 deverá ser >0,01 e pelo menos 2 vezes o valor do padrão 0. Se ambas condições não forem encontradas o ensaio deverá ser invalidado e a reação de amplificação e detecção deverão ser repetidas

7.3. Resultados inesperados

DO ₄₀₅ HBV Total 30 minutos amostra	DO ₄₀₅ HBV IS Total 30 minutos amostra	<u>Causa e solução</u>
<0,10	> 4,0	Estão fora do range dinâmico do teste, o resultado deverá ser liberado como > 4 X 10 ⁷ ou diluir amostra 1:100 em soro normal e repetir todo o procedimento
<0,10	<4,0	A PCR deve ter sido inibida Todo ensaio deverá ser repetido, extração, amplificação e detecção. Se persistir a mesma condição após a repetição um resultado não poderá ser liberado.

Nome	HC	HBsAg	AHbC	AHbS	q AST	q ALT	q ALP	q GGT	Idade	Sexo	Raça	GR
M A A	666808-4	N	N	N	n	n	n	n	25	M	B	Sexual/Sangue
A M P	667515-6	N	N	N	n	1.7	1.1	1.25	36	M	B	Indeterminado
I G S	668517-1	N	N	N	n	n	n	1.2	28	M	B	Sexual
E M S	671561-1	N	N	N	n	n	n	n	20	M	P	Indeterminado
V L S	671721-3	N	N	N	n	n	n	n	26	F	B	Indeterminado
E M P	673493-2	N	N	N	n	n	n	n	25	F	B	Indeterminado
M F C	629067-1	N	N	N	n	n	n	n	31	M	B	Indeterminado
P C R	675400-9	N	N	N	n	n	n	n	22	M	B	Indeterminado
S J F	676859-1	N	N	N	n	n	n	n	32	M	B	Indeterminado
A N G	627764-7	N	N	N	n	n	n	n	20	F	B	Indeterminado
E C S	679845-1	N	N	N	n	n	n	n	50	F	B	Indeterminado
N Z S	679841-5	N	N	N	1.1	1.1	n	3.7	47	M	N	Indeterminado
V M C	041868-9	N	N	N	n	n	n	n	51	F	N	Sangue
C S	684786-2	N	N	N	n	n	n	n	25	F	B	Sangue
G O S	695831-8	N	N	N	n	n	n	n	23	M	B	Indeterminado
R A O	697282-5	N	N	N	n	n	n	n	35	M	B	Indeterminado
S L B S	608093-7	N	N	N	n	n	n	n	44	F	B	Sangue
M F	697630-6	N	N	N	n	1.3	n	n	40	F	P	Sangue
L G A	698219-5	N	N	N	n	n	n	n	26	M	B	Indeterminado
M M	698744-0	N	N	N	n	n	n	n	56	M	B	Indeterminado
J F V	699042-7	N	N	N	n	n	n	n	37	M	B	Indeterminado
J J C	699027-7	N	N	N	n	n	n	n	43	M	P	Indeterminado
V M S	699022-7	N	N	N	n	n	n	n	21	F	P	Indeterminado
E R B	703819-3	N	N	N	n	n	n	n	20	M	B	Indeterminado
R G S	703821-6	N	N	N	n	n	n	n	18	M	P	Indeterminado
J C A	706760-7	N	N	N	1.08	1.02	n	1.9	46	M	B	Sexual
A A R	707479-7	N	N	N	1.4	n	n	3.0	41	M	B	Indeterminado
L M A O	708265-1	N	N	N	n	n	n	n	51	M	B	Indeterminado
S F S	709062-4	N	N	N	n	n	n	n	45	M	P	Indeterminado
R A	713262-2	N	N	N	n	n	n	1.4	38	M	B	Indeterminado
V B O C	400793-5	N	N	N	n	n	n	n	25	F	B	Indeterminado

Nome	HC	HBsAg	AHBe	AHBs	q AST	q ALT	q ALP	q GGT	Idade	Sexo	Raça	GR
SVS	719730-1	N	N	N	n	n	n	n	52	M	B	Indeterminado
DHC	720412-6	N	N	N	n	n	n	n	36	M	B	Indeterminado
MMF	506709-5	N	N	N	n	n	n	n	41	M	B	Indeterminado
TCCMA	726190-2	N	N	N	n	n	n	n	21	F	B	Indeterminado
GJ	726192-0	N	N	N	n	n	n	n	28	F	B	Indeterminado
MPS	729797-7	N	N	N	n	n	n	n	22	M	B	Indeterminado
MClM	729839-1	N	N	N	n	n	n	n	22	F	B	Indeterminado
JFBN	731717-9	N	N	N	n	n	n	n	21	M	B	Indeterminado
SECJ	731720-6	N	N	N	n	n	n	n	20	M	B	Indeterminado
JAO	731714-7	N	N	N	n	n	n	n	31	M	B	Indeterminado
JP	734089-1	N	N	N	n	n	n	n	42	M	B	Indeterminado
PHB	735862-8	N	N	N	n	n	n	n	29	M	B	Indeterminado
SLS	744301-5	N	N	N	n	n	n	n	38	M	B	Indeterminado
MHPS	672147-8	N	N	N	n	n	n	n	51	F	B	Indeterminado
ZDS	687362-3	N	N	N	n	n	n	n	33	F	P	Indeterminado
BRL	676399-1	N	N	N	n	n	n	1.3	21	M	B	Indeterminado
DMV	747512-7	N	N	N	n	n	n	n	41	F	B	Indeterminado
SHSF	747505-4	N	N	N	n	n	n	n	36	F	P	Indeterminado
DWF	747526-8	N	N	N	n	n	n	n	43	F	P	Indeterminado
ESR	747520-4	N	N	N	n	n	n	n	35	F	B	Indeterminado
ASL	748327-7	N	N	N	n	n	n	1.3	33	M	B	Indeterminado
AVS	748330-4	N	N	N	n	n	n	n	32	M	B	Indeterminado
BF	284780-2	N	N	N	n	n	n	n	37	M	N	Indeterminado
AAM	750005-3	N	N	N	n	n	n	n	48	M	B	Indeterminado
MEO	750000-3	N	N	N	n	n	n	n	20	F	B	Indeterminado
GRA	750926-1	N	N	N	n	n	n	n	29	M	N	Indeterminado
IAM	750946-1	N	N	N	n	n	n	n	47	M	B	Indeterminado
VMVM	754792-6	N	N	N	n	n	n	n	33	F	B	Indeterminado
CH	754790-8	N	N	N	n	n	n	n	22	F	B	Indeterminado
EAB	754786-7	N	N	N	n	n	n	n	29	F	B	Indeterminado
RCR	754796-2	N	N	N	n	n	n	n	23	F	B	Indeterminado

Nome	HC	HBsAg	AHBc	AHBs	q AST	q ALT	q ALP	q GGT	Idade	Sexo	Raça	GR
FVB	381212-3	N	N	N	n	n	n	n	26	F	B	Indeterminado
SSA	415769-7	N	N	N	n	n	n	n	28	F	B	Indeterminado
HSS	755659-5	N	N	N	n	1.1	n	1.4	23	M	B	Indeterminado
CPS	468129-2	N	N	N	n	n	n	n	24	M	P	Indeterminado
APS	702672-6	N	N	N	n	n	n	n	22	M	B	Indeterminado
MABA	759950-5	N	N	N	n	n	n	n	22	M	B	Indeterminado
CLR	760572-4	N	N	N	n	n	n	n	22	F	B	Sangue
MAM	762370-8	N	N	N	n	n	n	1.1	37	M	B	Indeterminado
ARA	762384-9	N	N	N	n	n	n	n	50	F	B	Indeterminado
ICPS	640740-8	N	N	N	n	n	n	n	52	F	B	Indeterminado
JMC	734269-7	N	N	N	n	n	n	n	26	F	B	Indeterminado
RFB	765174-3	N	N	N	n	n	n	1.4	25	M	B	Indeterminado
DFA	766711-4	N	N	N	n	n	n	n	44	F	P	Indeterminado
CJS	766707-3	N	N	N	n	n	n	n	32	M	B	Indeterminado
CGM	739848-0	N	N	N	1.3	1.8	n	n	19	F	B	Indeterminado
MAT	767641-0	N	N	N	n	n	n	n	38	M	B	Indeterminado
AOS	767620-6	N	N	N	n	n	n	n	18	M	P	Sexual
RSM	767645-6	N	N	N	n	n	n	n	22	M	B	Indeterminado
CR	767629-2	N	N	N	n	n	n	n	20	M	B	Indeterminado
JVC	767685-6	N	N	N	n	n	n	n	30	F	B	Indeterminado
BLS	376305-3	N	N	N	n	n	n	n	51	F	N	Indeterminado
BLIS	478186-8	N	N	N	1.5	n	n	n	20	F	B	Indeterminado
LHB	768405-1	N	N	N	n	n	n	n	33	F	B	Indeterminado
JGS	768411-0	N	N	N	n	n	n	n	25	M	B	Indeterminado
JAF	768418-8	N	N	N	n	n	n	n	28	M	B	Indeterminado
TA	769097-7	N	N	N	n	n	n	n	51	M	A	Indeterminado
FTP	318603-9	N	N	N	n	n	n	n	22	M	B	Indeterminado
WBR	526447-5	N	N	N	n	n	n	n	39	M	B	Indeterminado

NOME	HC	HBsAg	AHBc	AHBs	qAST	qALT	qALP	qGGT	Idade	Sexo	Raça	GR
ZML	666777-9	N	P	>1000	n	n	n	n	36	F	B	Indeterminado
CNP	666793-3	N	P	>1000	n	1.6	n	6.1	33	M	N	Sexual/sangue
DPF	666775-1	N	P	119,7	n	1.7	n	3.1	41	M	B	Sexual/sangue
DA	150690-0	N	P	415,5	n	n	n	n	37	F	P	Indeterminado
JSS	097748-5	N	P	>1.000	n	n	n	n	53	M	P	Sexual
JRS	667631-6	N	P	>1.000	n	n	n	n	42	M	B	Indeterminado
MLBA	6676384	N	P	>1.000	n	n	n	n	58	F	B	Indeterminado
LDS	032627-2	N	P	>1.000	n	n	n	n	44	F	P	Sangue
SSO	667441-9	N	P	261,0	n	n	n	n	29	M	B	Indeterminado
RCAM	668650-1	N	P	>1.000	n	n	n	n	26	F	N	Indeterminado
CS	668359-7	N	P	405,6	n	n	1.0	n	37	M	B	Sexual
AMALS	664289-8	N	P	>1.000	n	n	n	n	52	F	B	Indeterminado
GFC	668524-4	N	P	116,8	n	n	n	n	26	M	B	Indeterminado
SNC	668498-9	N	P	18,8	n	n	n	n	25	M	B	Indeterminado
JDCN	662779-9	N	P	42,8	n	n	n	n	30	M	B	Sexual
BRV	668490-7	N	P	168,6	n	n	1.04	n	49	M	P	Sexual
JEAF	668495-7	N	P	>1.000	n	n	n	n	39	M	B	Indeterminado
NFR	669193-8	N	P	>1.000	n	n	n	n	43	F	B	Indeterminado
LMS	667435-0	N	P	27,5	n	n	n	n	50	F	P	Indeterminado
LJSN	669394-4	N	P	139,7	n	n	n	n	33	M	P	Sexual/sangue
EJS	669397-6	N	P	347,3	n	n	n	n	22	M	P	Sexual
EFS	670581-4	N	P	206,5	n	n	n	n	49	M	P	Indeterminado
JAM	670576-9	N	P	80,7	n	n	n	n	34	M	B	Indeterminado
JMP	670589-6	N	P	14,3	n	n	n	n	38	M	B	Indeterminado
CCDG	670552-3	N	P	>1.000	n	n	n	n	37	F	B	Sangue
RAA	6707539	N	P	>1000	n	n	n	n	28	M	B	Indeterminado
GCP	667899-0	N	P	676,0	n	n	n	1.5	57	M	B	Contato domiciliar
EEA	496466-8	N	P	>1000	n	n	1.03	n	51	F	B	Sangue
MRF	671552-0	N	P	>1000	n	n	n	n	22	F	B	Contato domiciliar
CAC	507260-6	N	P	15,7	n	1.3	n	3.4	42	M	B	Sangue

NOME	HC	HBsAg	AHBe	AHBs	qAST	qALT	qALP	qGGT	Idade	Sexo	Raça	GR
NRLJ	671723-1	N	P	>1000	n	n	n	n	31	M	B	Indeterminado
FMCF	672605-5	N	P	286,0	n	n	n	n	43	M	N	Sexual/sangue
ARS	673512-4	N	P	17,2	1,5	1,1	n	n	32	M	B	Indeterminado
ORA	673507-9	N	P	>1000	n	n	n	n	58	M	B	Sangue
ASB	674427-0	N	P	268,0	n	n	n	n	46	M	N	Sexual
ST	674437-5	N	P	10,2	n	n	n	n	45	M	A	Indeterminado
MCC	675129-7	N	P	855,0	n	n	n	n	33	F	B	Sangue
ARM	675398-0	N	P	>1000	n	n	n	n	28	M	P	Sexual
CLR	675382-1	N	P	590,0	n	n	n	n	37	F	B	Sangue
GAC	676180-8	N	P	P	n	n	n	n	25	F	B	Sangue
WAS	676164-4	N	P	>1000	n	n	n	n	20	M	N	Indeterminado
ALS	394058-4	N	P	126,0	n	n	n	n	47	F	B	Contato domiciliar
NI	676307-8	N	P	>1000	n	n	n	n	56	M	B	Indeterminado
FN	676324-6	N	P	19,8	n	n	n	n	56	M	B	Sangue
RB	9904403-9	N	P	>1000	n	n	n	n	36	M	N	Indeterminado
AG	657185-5	N	P	191,9	n	n	n	n	42	M	B	Indeterminado
MFS	677175-0	N	P	89,6	n	n	n	n	37	M	B	Indeterminado
JES	547708-0	N	P	107,3	n	n	n	n	40	M	B	Indeterminado
CHG	677192-8	N	P	>1000	1,3	n	n	2,7	34	M	B	Sexual
SRM	677934-4	N	P	>1000	n	n	n	1,3	31	M	B	Indeterminado
SNF	677925-3	N	P	74,3	n	n	n	n	26	M	B	Indeterminado
SRS	678934-1	N	P	>1000	n	n	n	n	26	M	B	Indeterminado
JCFS	678925-0	N	P	>1000	n	n	n	1,1	28	M	N	Sexual
SLF	678929-6	N	P	>1000	n	n	n	n	42	M	B	Sexual
CTS	678919-1	N	P	>1000	n	n	n	n	53	M	B	Indeterminado
MBPS	441935-4	N	P	>1000	n	n	n	n	34	F	N	Indeterminado
MMS	678913-7	N	P	>1000	n	n	n	n	49	M	B	Indeterminado
TMOA	678916-9	N	P	>1000	n	n	n	n	36	F	B	Indeterminado
TYFO	661096-8	N	P	>1000	n	n	n	n	42	F	A	Sexual
JMGP	679834-2	N	P	21,0	n	n	n	n	38	M	P	Sexual
ECG	591313-9	N	P	>1000	n	n	n	n	38	M	P	Sexual

NOME	HC	HBsAg	AHBe	AHBs	qAST	qALT	qALP	qGGT	Idade	Sexo	Raça	GR
ACM	679822-9	N	P	90,8	n	n	n	n	44	F	N	Indeterminado
JRC	671732-2	N	P	126,0	n	n	n	1.05	46	M	P	Indeterminado
GPV	680725-0	N	P	>1000	n	n	n	n	40	M	B	Indeterminado
MAB	682151-7	N	P	>1000	n	n	n	n	37	F	B	Indeterminado
AFS	685152-2	N	P	24,9	n	n	n	n	43	M	N	Contato domiciliar
DAA	685159-0	N	P	>1000	n	n	n	n	33	M	P	Sangue
SAS	685165-9	N	P	>1000	n	n	n	1.6	31	M	B	Indeterminado
AJZ	685164-5	N	P	>1000	n	n	n	1.3	53	M	B	Indeterminado
CPS	685979-8	N	P	>1000	n	n	n	n	23	M	B	Sexual
ECA	685970-2	N	P	86,0	n	n	n	n	34	M	B	Indeterminado
LACM	685969-3	N	P	>1000	n	n	n	n	34	M	B	Sexual
JABP	685968-9	N	P	>1000	n	n	n	n	35	M	P	Indeterminado
JIN	329708-8	N	P	26,6	n	n	n	n	49	M	B	Sexual
CALS	686956-3	N	P	209,0	n	n	n	n	32	M	B	Indeterminado
SVHR	599285-2	N	P	>1000	n	n	n	n	33	F	B	Indeterminado
JGF	686946-8	N	P	>1000	n	n	n	n	46	M	P	Indeterminado
AF	686944-0	N	P	146,8	n	n	n	n	45	M	B	Indeterminado
ARS	687665-3	N	P	117,8	n	1.4	n	6.3	36	M	B	Indeterminado
EMS	539237-7	N	P	25,3	n	n	n	1.85	53	M	B	Sexual
PSS	688503-6	N	P	335,5	n	n	n	n	26	M	B	Sangue
ARS	688498-5	N	P	84,8	n	n	n	1.1	48	M	B	Sangue
IPMG	688506-8	N	P	>1000	n	n	n	n	39	F	B	Indeterminado
ASS	688502-2	N	P	682,0	n	n	n	n	26	M	P	Indeterminado
SB	688500-4	N	P	300,8	n	n	n	n	33	M	N	Indeterminado
FM	688500-4	N	P	276,0	n	n	n	n	31	M	P	Sexual
PMC	681058-2	N	P	126,9	n	n	n	n	51	M	B	Indeterminado
MRS	689345-9	N	P	439,4	n	n	n	n	36	M	N	Indeterminado
TSS	689362-7	N	P	>1000	n	n	n	n	48	M	B	Indeterminado
VAF	689352-2	N	P	80,9	n	n	n	n	34	F	B	Indeterminado
FR	690187-0	N	P	962,1	n	n	n	1.7	48	M	B	Indeterminado
DSSS	624629-0	N	P	80,9	n	n	n	n	28	F	P	Indeterminado

NOME	HC	HBsAg	AHBc	AHBs	qAST	qALT	qALP	qGGT	Idade	Sexo	Raça	GR
AP	691023-5	N	P	544,3	n	n	n	n	47	M	B	Indeterminado
WA	691046-7	N	P	67,8	n	n	n	1,6	51	M	B	Indeterminado
HR	249468-9	N	P	468,2	n	n	n	n	36	F	N	Indeterminado
PA	691879-2	N	P	246,0	n	n	n	n	40	M	N	Indeterminado
MPL	691874-2	N	P	63,8	n	n	n	n	51	F	P	Indeterminado
ESA	692725-2	N	P	>1000	n	n	n	n	23	M	P	Sexual
JVS	694958-5	N	P	536,3	n	n	n	n	56	M	P	Indeterminado
CPS	290291-1	N	P	>1000	n	n	n	n	39	F	N	Indeterminado
PMA	694971-7	N	P	>1000	n	n	n	n	26	F	B	Indeterminado
ALSG	609764-5	N	P	335,6	n	n	n	n	36	M	B	Indeterminado
AJL	695843-1	N	P	>1000	n	n	n	1,4	43	M	N	Sangue
JRL	695842-7	N	P	21,1	n	n	n	1,07	55	M	N	Sexual
JLSF	695837-2	N	P	>1000	n	n	n	n	46	M	P	Indeterminado
EPS	431688-5	N	P	>1000	n	n	n	n	23	F	P	Indeterminado
VC	695833-6	N	P	331,8	n	n	n	n	28	F	B	Indeterminado
DL	431609-9	N	P	>1000	n	1,02	n	1,4	31	M	N	Sexual
MRB	677270-6	N	P	62,0	n	n	n	n	52	F	B	Sangue
JAM	695830-4	N	P	13,6	n	n	n	n	43	M	P	Sexual
SAC	696745-0	N	P	117,0	1,4	n	n	4,0	28	M	B	Sangue
FDS	696733-7	N	P	>1000	n	n	n	1,2	30	M	N	Sangue
SMCPP	696732-3	N	P	>1000	n	n	n	n	28	F	B	Indeterminado
MSS	696723-2	N	P	>1000	n	n	n	n	39	M	B	Indeterminado
VR	697631-0	N	P	62,0	n	n	n	n	25	M	P	Indeterminado
LRM	598291-4	N	P	92,8	n	n	n	n	24	M	B	Indeterminado
JRSO	698718-1	N	P	>1000	n	n	n	n	32	M	P	Indeterminado
HFS	544162-9	N	P	156,0	n	n	n	1,02	39	M	P	Indeterminado
JLF	699025-9	N	P	>1000	n	n	n	2,1	44	M	B	Indeterminado
JMS	699041-3	N	P	>1000	n	n	n	1,1	39	M	N	Sexual
UJS	699028-1	N	P	143,6	n	n	n	n	42	M	B	Droga inalatória
RS	699912-6	N	P	254,6	n	n	n	n	29	M	B	Contato domiciliar
JO	699910-8	N	P	472,0	n	n	n	n	34	M	N	Sangue

NOME	HC	HBsAg	AHBc	AHBs	qAST	qALT	qALP	qGGT	Idade	Sexo	Raça	GR
AAS	700488-9	N	P	>1000	n	n	n	1.7	38	M	B	Indeterminado
VG	700473-4	N	P	141,0	n	n	n	n	32	M	B	Indeterminado
MECF	700474-8	N	P	71,3	n	n	n	n	47	F	B	Indeterminado
JBN	700465-7	N	P	768,6	n	n	n	n	30	M	B	Indeterminado
ACSS	095162-1	N	P	>1000	n	n	n	n	40	M	N	Sexual
RRR	702153-0	N	P	>1000	n	n	n	n	23	M	B	Sexual
MLBG	041095-4	N	P	>1000	n	n	n	1.1	43	F	B	Indeterminado
JAO F	702118-0	N	P	>1000	n	n	n	n	48	M	B	Indeterminado
LCN	565811-5	N	P	190,3	n	n	n	n	28	M	B	Sexual
RRS	702974-2	N	P	>1000	n	n	n	n	27	M	B	Indeterminado
LD	702966-5	N	P	>1000	n	1.1	n	1.3	46	M	B	Indeterminado
WA	702962-9	N	P	396,7	n	n	n	n	46	M	B	Indeterminado
FAS R	701281-6	N	P	501,5	n	n	n	n	20	M	N	Contato domiciliar
JL	524648-7	N	P	367,4	n	n	n	n	30	F	P	Indeterminado
RCAGS	428840-6	N	P	530,0	n	n	n	n	27	F	B	Indeterminado
FXH	704430-0	N	P	>1000	n	n	n	n	53	M	B	Indeterminado
AA	118527-1	N	P	>1000	n	n	n	n	49	F	B	Sexual/Sangue
GR L	705201-4	N	P	39,0	n	n	n	n	56	M	B	Indeterminado
SCP	705210-5	N	P	>1000	n	n	n	n	26	F	B	Indeterminado
OJS	705215-5	N	P	>1000	n	n	n	1.2	31	M	P	Sexual
G C J	705904-8	N	P	>1000	n	n	n	n	23	M	B	Indeterminado
LPS	427534-2	N	P	66,0	n	n	n	n	24	F	B	Indeterminado
CAOG	706648-3	N	P	P	n	n	n	n	28	M	B	Indeterminado
MLF	463238-4	N	P	>1000	n	n	n	n	54	F	B	Sangue
AAB	512259-0	N	P	108,5	n	n	n	n	29	F	B	Sexual
JVS	708257-4	N	P	12,6	n	n	n	n	36	M	P	Sangue
MIAE	708249-7	N	P	>1000	n	n	n	n	46	F	B	Indeterminado
GLD	708255-6	N	P	80,4	n	n	n	n	28	F	P	Sexual
MCF	708263-3	N	P	10,9	n	n	n	n	33	F	B	Indeterminado
NFC	708259-2	N	P	>1000	n	n	n	n	27	F	B	Indeterminado
GAP	708264-7	N	P	>1000	n	n	n	n	45	M	B	Indeterminado

NOME	HC	HBsAg	AHBc	AHBs	qAST	qALT	qALP	qGGT	Idade	Sexo	Raça	GR
VWC	708274-2	N	P	126,7	n	n	n	n	40	F	B	Indeterminado
NRR	709057-9	N	P	583,6	n	n	n	n	38	M	P	Sangue
MDS	709054-7	N	P	418,0	n	n	n	n	51	M	B	Indeterminado
DV	709047-4	N	P	26,7					21	M	B	Indeterminado
OM	709046-0	N	P	>1000	n	n	n	1,8	40	M	B	Indeterminado
RLM	709839-5	N	P	>1000	n	n	n	n	58	M	N	Indeterminado
MJAP	709825-4	N	P	14,4	n	n	n	n	43	F	B	Indeterminado
GDO	710659-8	N	P	42,0	n	n	n	n	28	M	B	Sexual
MGR	711499-3	N	P	537,0	n	n	n	n	30	M	B	Indeterminado
MTSP	712369-9	N	P	147,4	n	n	n	n	43	F	N	Indeterminado
MASS	712347-1	N	P	101,2	n	n	n	n	50	F	P	Indeterminado
LAP	712354-4	N	P	69,8	n	n	n	n	34	M	B	Indeterminado
MEBC	713257-7	N	P	474,6	n	n	1,3	n	51	F	P	Indeterminado
MJMS	713653-5	N	P	324,4	n	n	n	n	35	F	P	Indeterminado
ARD	713627-6	N	P	24,1	n	n	n	n	27	F	B	Indeterminado
CAS	714206-5	N	P	>1000	n	n	n	n	27	M	B	Indeterminado
JMS	715467-8	N	P	50,4	n	1,5	n	1,5	36	M	B	Indeterminado
FAI	569452-3	N	P	555,6	n	n	n	1,2	29	M	B	Indeterminado
MB	717238-9	N	P	301,1	n	n	n	n	28	M	B	Indeterminado
DS	717237-5	N	P	46,9	n	n	n	n	33	M	N	Indeterminado
VBN	718164-9	N	P	>1000	n	1,4	n	n	44	F	B	Indeterminado
CS	247647-3	N	P	230,0	n	n	n	n	30	M	B	Indeterminado
ERN	719605-5	N	P	>1000	n	n	n	n	56	F	B	Indeterminado
JRS	720424-9	N	P	>1000	n	n	n	n	37	M	N	Sexual
BGS	720415-8	N	P	>1000	n	n	n	n	44	M	B	Indeterminado
AS	459587-7	N	P	19,0	n	n	n	n	24	M	B	Sexual
JZBM	716420-7	N	P	47,3	n	n	n	1,4	41	M	B	Indeterminado
MCV	545272-7	N	P	403,3	n	n	1,2	n	35	F	B	Indeterminado
ACS	724147-1	N	P	260,4	n	n	n	n	28	M	B	Sexual
EAR	724162-1	N	P	260,4	1,30	2,97	n	2,05	25	M	B	Indeterminado
CBJ	725184-6	N	P	564,7	n	n	n	n	50	F	B	Indeterminado

NOME	HC	HbSag	AHbC	AHBs	qAST	qALT	qALP	qGGT	Idade	Sexo	Raça	GR
SIARP	058673-9	N	P	>1000	n	n	n	n	45	F	B	Indeterminado
DRS	726189-3	N	P	>1000	n	n	n	n	42	M	N	Sexual
MLS	726155-2	N	P	221,0	n	n	1,7	1,5	55	F	B	Indeterminado
RCS	726167-5	N	P	>1000	n	n	n	n	26	M	P	Sexual
JCO	726169-3	N	P	>1000	n	n	n	1,3	30	M	B	Indeterminado
LAL	726158-4	N	P	861,0	n	n	1,1	1,4	51	M	N	Indeterminado
JEGAS	727079-9	N	P	143,0	n	n	n	2,7	46	M	N	Sexual
JSS	727157-7	N	P	789,6	n	n	n	n	22	M	P	Sexual
ASS	729817-3	N	P	287,7	n	n	n	n	27	M	P	Indeterminado
FCS	730805-5	N	P	>1000	n	n	n	n	26	M	N	Indeterminado
JBN	462428-4	N	P	>1000	n	n	n	n	32	M	B	Indeterminado
RAS	731715-1	N	P	>1000	n	n	n	n	23	M	P	Indeterminado
CFM	731718-3	N	P	225,0	n	n	n	n	48	M	B	Indeterminado
JAC	731698-7	N	P	>1000	n	n	n	n	43	F	B	Indeterminado
JCV	731712-9	N	P	47,9	n	n	n	n	46	M	B	Indeterminado
ACP	671743-1	N	P	>1000	n	n	n	n	33	M	B	Sexual
NL	731693-7	N	P	>1000	n	n	n	n	51	M	B	Indeterminado
AVR	317453-5	N	P	>1000	n	n	n	n	47	M	B	Indeterminado
OM	732657-0	N	P	505,3	n	n	n	n	56	M	N	Indeterminado
CD	732651-6	N	P	>1000	n	n	n	n	28	F	B	Indeterminado
MHC	264759-7	N	P	33,7	n	n	n	n	32	F	N	Indeterminado
ICS	678753-5	N	P	>1000	n	n	n	n	24	M	P	Indeterminado
JC	734985-9	N	P	67,5	n	1,07	n	1,02	45	M	B	Indeterminado
AMV	735861-4	N	P	866,0	n	n	n	n	34	F	B	Indeterminado
ABN	735835-5	N	P	21,1	n	n	n	n	26	M	B	Indeterminado
EFS	145361-8	N	P	>1000	n	n	n	n	53	F	P	Indeterminado
MDRQ	485660-1	N	P	28,9	n	n	n	n	25	F	B	Indeterminado
JMS	735843-2	N	P	243,4	n	n	n	n	47	M	B	Sexual
LCL	526821-5	N	P	137,0	n	n	n	n	32	M	P	Indeterminado
AC	735583-4	N	P	>1000	n	n	n	n	27	M	B	Indeterminado
SFS	555666-0	N	P	85,0	n	n	n	n	27	F	B	Indeterminado

NOME	HIC	HBsAg	AHBc	AHBs	qAST	qALT	qALP	qGGT	Idade	Sexo	Raça	GR
CAM	736713-8	N	P	>1000	1.3	1.4	n	3.4	42	M	B	Indeterminado
ASS	596807-5	N	P	>1000	n	n	n	3.9	38	M	P	Sexual
CCS	739151-5	N	P	35,8	n	n	n	n	33	M	B	Indeterminado
ACP	739153-3	N	P	93,0	n	n	n	1.45	42	M	N	Indeterminado
MLDS	551308-2	N	P	96,3	n	n	n	n	41	F	B	Sangue
CST	519401-4	N	P	>1000	n	n	n	n	58	F	B	Indeterminado
FRN	740719-8	N	P	330,0	n	n	1.04	1.3	37	M	B	Indeterminado
NDB	740730-2	N	P	216,0	n	n	n	n	38	M	N	Sexual
IFL	726971-4	N	P	143,0	n	n	n	n	36	F	N	Indeterminado
AGFVD	740728-9	N	P	>1000	n	n	n	n	48	F	B	Indeterminado
JRS	740732-0	N	P	227,0	n	n	n	1.1	29	M	B	Indeterminado
TMP	740723-9	N	P	314,0	n	n	n	n	53	F	B	Indeterminado
SEC	740744-3	N	P	90,0	n	n	n	n	21	F	B	Indeterminado
FGP	741537-5	N	P	110,0	n	n	n	n	55	M	B	Indeterminado
MSM	741552-5	N	P	258,0	n	n	n	n	53	F	B	Indeterminado
JMB	741542-0	N	P	>1000	n	n	n	n	43	M	B	Sexual/sangue
VAF	741566-6	N	P	>1000	n	n	n	n	39	F	P	Indeterminado
MLN	742529-5	N	P	634,0	n	n	n	n	44	F	B	Sangue
JAS	742528-1	N	P	167,0	n	1.1	1.1	n	43	M	B	Contato domiciliar
LCS	742525-9	N	P	56,0	n	n	n	n	43	M	N	Sexual
NCJ	742520-9	N	P	>1000	n	1.1	n	n	48	M	B	Sangue
ZEAO	742506-3	N	P	13,0	n	n	1.3	n	23	F	B	Sangue
JS	742494-4	N	P	65,0	n	n	n	1.9	40	M	P	Indeterminado
MEFS	743468-2	N	P	97,7	n	n	n	n	41	F	P	Indeterminado
MV	743449-6	N	P	>1000	n	n	n	n	36	M	B	Sangue/Droga E. V.
MOR	743437-3	N	P	>1000	n	n	n	n	26	M	B	Sexual
SPM	743420-0	N	P	273,3	n	n	n	n	26	F	B	Sangue
MRS	743451-9	N	P	391,7	n	n	n	n	40	F	B	Sexual/sangue/Sangue
FGB	743429-6	N	P	>1000	n	n	n	n	30	M	P	Sexual
ECC	743430-5	N	P	456,6	n	n	n	n	27	M	B	Sexual
MS	743433-7	N	P	>1000	n	n	n	n	34	F	B	Indeterminado

NOME	HC	HBsAg	AHBc	AHBs	qAST	qALT	qALP	qGGT	Idade	Sexo	Raça	GR
IAR	743423-2	N	P	851,8	n	n	n	n	52	F	B	Indeterminado
JAR	479441-3	N	P	>1000	n	n	n	n	39	M	P	Sexual
ASA	576606-3	N	P	44,0	n	n	1,2	n	19	M	P	Indeterminado
TAG	744310-6	N	P	161,8	n	n	n	1,6	37	M	B	Sexual
VLG	744303-3	N	P	161,8	n	1,3	n	1,9	51	F	B	Indeterminado
JAS	744299-6	N	P	231,1	n	n	n	1,5	30	M	B	Indeterminado
ITB	744291-4	N	P	344,3	2,0	3,2	n	4,0	32	M	P	Sexual
IMO	744331-0	N	P	816,0	n	n	n	n	49	F	B	Indeterminado
JNRP	745018-7	N	P	112,8	n	n	n	1,1	47	M	P	Indeterminado
MFR	450003-8	N	P	134,2	n	n	n	n	38	F	P	Indeterminado
OLS	745019-1	N	P	191,0	n	n	n	n	44	M	B	Indeterminado
CCS	252638-5	N	P	>1000	n	n	n	n	44	F	P	Indeterminado
MLRS	512915-6	N	P	>1000	n	n	n	n	48	F	B	Indeterminado
RRS	018290-1	N	P	469,2	n	n	n	n	44	F	P	Indeterminado
NDN	417625-9	N	P	>1000	n	n	1,1	1,8	44	M	B	Sexual
RNAS	745847-6	N	P	>1000	n	n	n	n	46	M	B	Sexual
WFCs	745851-7	N	P	>1000	n	1,3	n	n	26	M	P	Indeterminado
EAF	745855-3	N	P	14,8	n	n	n	n	54	M	B	Indeterminado
ASLN	746647-1	N	P	>1000	n	n	n	n	33	M	B	Indeterminado
ECA	746648-5	N	P	>1000	n	n	n	n	44	M	B	Indeterminado
GA	746650-8	N	P	>1000	1,5	1,02	nm	2,9	30	M	P	Indeterminado
MYOH	747522-2	N	P	65,2	n	n	n	n	52	F	A	Indeterminado
MLMP	338881-9	N	P	>1000	n	n	n	n	39	F	P	Indeterminado
ACS	747528-6	N	P	35,8	n	n	n	n	39	M	P	Indeterminado
VLL	540022-5	N	P	>1000	n	n	n	n	46	F	B	Indeterminado
ACS	748346-3	N	P	>1000	n	n	n	n	38	M	B	Sexual
MPA	748348-1	N	P	94,8	n	n	n	n	27	M	P	Sexual
CPB	749212-3	N	P	489,6	n	n	n	n	24	M	P	Sexual
JLS	749995-7	N	P	P	n	n	n	n	40	M	P	Indeterminado
FCA	682962-4	N	P	579,0	n	n	n	1,1	30	M	P	Sexual
LR	750918-4	N	P	>1000	n	n	n	n	39	M	B	Sexual

NOME	HC	HBsAg	AHBc	AHBs	qAST	qALT	qALP	qGGT	Idade	Sexo	Raça	GR
CPSN	442009-8	N	P	128,0	n	n	n	n	30	F	P	Sangue
FFL	750911-6	N	P	137,2	n	n	n	n	44	M	B	Sangue
ESK	750922-5	N	P	>1000	n	n	n	1.1	29	M	B	Indeterminado
MLSF	396206-7	N	P	16,8	n	n	1.3	n	57	F	P	Indeterminado
JEL	751813-5	N	P	360,0	n	n	n	1.3	53	M	B	Indeterminado
JRST	486841-4	N	P	35,0	n	n	n	n	41	M	B	Sexual
APM	751826-2	N	P	>1000	n	n	n	n	47	M	B	Indeterminado
MSAO	751832-1	N	P	29,0	n	n	n	n	34	F	B	Indeterminado
MADS	345283-8	N	P	>1000	n	n	n	n	41	F	P	Indeterminado
MGD	752708-1	N	P	467,0	1.9	1.6	n	6.6	40	M	P	Indeterminado
ASS	752707-7	N	P	>1000	n	n	n	n	19	F	P	Indeterminado
JAT	752699-4	N	P	27,9	n	n	n	n	53	M	B	Indeterminado
LM	752701-3	N	P	>1000	n	n	n	n	38	M	B	Sexual
AGS	752695-8	N	P	>1000	n	n	n	n	37	M	B	Indeterminado
SRC	753084-0	N	P	402,9	n	n	n	n	53	M	N	Indeterminado
JMB	754805-9	N	P	746,6	n	n	n	n	40	M	P	Sexual
CMF	754789-9	N	P	449,8	n	n	n	n	28	M	N	Sexual
CRC	754810-4	N	P	>1000	n	n	n	n	38	M	N	Indeterminado
TMO	589495-1	N	P	>1000	n	n	n	n	24	F	P	Indeterminado
LAF	753874-3	N	P	452,4	n	n	n	n	29	M	B	Sexual
FCS	755329-2	N	P	>1000	n	n	n	n	27	M	N	Sexual
SMOC	755694-5	N	P	32,2	n	n	n	n	39	F	B	Indeterminado
SMR	755677-7	N	P	>1000	n	n	n	n	38	F	B	Indeterminado
MJS	755681-8	N	P	>1000	n	n	n	n	38	F	B	Indeterminado
JCR	755669-0	N	P	217,6	1.2	1.6	n	1.6	32	M	B	Sangue
JJMT	756614-2	N	P	91,0	n	n	n	n	46	M	B	Indeterminado
LBM	512670-8	N	P	>1000	n	n	n	n	50	M	B	Indeterminado
RC	756619-2	N	P	>1000	n	n	1.2	n	26	M	N	Indeterminado
JFS	756627-9	N	P	10,0	n	1.05	n	n	52	M	B	Indeterminado
OPS	756620-1	N	P	403,6	n	1.35	n	4.1	42	M	B	Indeterminado
JCSB	757508-4	N	P	>1000	n	n	n	n	28	M	B	Indeterminado

NOME	HC	HBsAg	AHBe	AHBs	qAST	qALT	qALP	qGGT	Idade	Sexo	Raça	GR
MSBQ	757478-3	N	P	48,3	n	n	n	n	42	F	N	Indeterminado
JRSF	757497-9	N	P	52,0	n	n	n	n	32	M	N	Indeterminado
JVS	737223-0	N	P	187,2	n	n	n	n	49	M	B	Indeterminado
JIPM	757485-6	N	P	>1000	n	n	n	n	21	M	N	Indeterminado
AF	757486-0	N	P	>1000	n	n	n	n	47	M	B	Indeterminado
EJC	759006-0	N	P	295,9	n	n	n	1,5	51	M	P	Indeterminado
MLS	514620-7	N	P	68,0	n	n	n	n	36	M	B	Indeterminado
RFS	759020-6	N	P	83,3	n	n	n	n	43	M	P	Sexual
RAGS	759032-9	N	P	>1000	n	n	n	n	42	M	B	Indeterminado
MJSC	759968-2	N	P	>1000	n	n	n	n	49	F	B	Indeterminado
JVS	759968-2	N	P	457,0	n	n	n	n	50	M	P	Indeterminado
DM S	759956-9	N	P	>1000	1,3	1,95	n	n	33	M	B	Indeterminado
PS R	761521-2	N	P	>1000	n	n	n	n	28	M	B	Indeterminado
MIF	761489-8	N	P	>1000	n	n	1,05	n	37	F	B	Indeterminado
ORC	265466-9	N	P	>1000	n	1,8	1,1	2,4	31	M	B	Indeterminado
JRS	762374-4	N	P	>1000	n	n	n	1,3	38	M	B	Indeterminado
MIA B	620708-4	N	P	27,5	n	n	n	n	39	F	B	Indeterminado
AGC	762399-4	N	P	11,2	n	1,7	n	n	26	M	N	Sexual
SARR	762394-4	N	P	55,7	n	n	n	n	30	F	B	Indeterminado
AC	763249-0	N	P	38,5	n	n	n	n	42	M	B	Indeterminado
MGSF	476894-3	N	P	>1000	n	n	n	n	53	M	N	Indeterminado
MAN	763248-6	N	P	13,0	n	n	n	1,9	45	M	B	Sexual
AFS	763251-3	N	P	>1000	n	n	n	n	40	F	B	Sangue
VLBM	763288-6	N	P	191,0	n	n	n	n	33	F	P	Indeterminado
JS	227031-2	N	P	100,0	n	n	n	n	58	M	B	Indeterminado
VCS	763299-5	N	P	>1000	n	n	n	n	21	F	P	Indeterminado
VS	346513-8	N	P	131,0	n	n	n	n	30	M	B	Sangue
EPR	764236-0	N	P	297,0	n	n	n	n	26	M	B	Indeterminado
LCSS	764847-5	N	P	127,0	n	n	n	n	30	M	P	Indeterminado
MJSS	766688-1	N	P	>1000	n	n	n	n	45	F	B	Indeterminado
SBO	766718-2	N	P	467,1	n	n	n	n	30	M	P	Indeterminado

NOME	HC	HBsAg	AHBc	AHBs	qAST	qALT	qALP	qGGT	Idade	Sexo	Raça	GR
JFS	766714-6	N	P	>1000	n	n	1.1	n	33	M	N	Sexual
KFCL	708468-5	N	P	12,98	n	n	n	n	34	F	P	Indeterminado
HBA	766721-9	N	P	42,7	n	n	n	n	40	M	B	Sexual
JBS	766705-5	N	P	422,6	n	n	n	n	36	M	B	Indeterminado
MMS	767337-1	N	P	>1000	n	n	n	n	52	M	N	Indeterminado
ARS	767642-4	N	P	752,5	n	n	n	n	28	M	P	Indeterminado
MMO	768405-1	N	P	>1000	n	n	n	n	33	F	B	Indeterminado
RLS	769087-2	N	P	>1000	n	1.2	n	1.2	28	F	P	Indeterminado
LA	769102-8	N	P	>1000	n	n	n	n	49	M	B	Indeterminado
MGP	739090-9	N	P	>1000	n	n	1.2	n	55	F	B	Indeterminado
VT	770870-2	N	P	104,9	n	n	n	n	31	M	B	Indeterminado
AC	712455-4	N	P	397,4	n	1.1	n	1.55	39	M	P	Sexual
JFO	761152-7	N	P	91,1	n	n	1.2	2.1	63	F	B	Indeterminado
JAD	773577-3	N	P	309,3	n	n	n	n	50	M	B	Indeterminado
ACS	773591-9	N	P	88,0	n	n	n	1.1	26	F	B	Indeterminado
CG	776244-9	N	P	292,4	n	n	n	n	29	F	B	Indeterminado
EJ	776245-3	N	P	149,9	n	n	n	n	30	M	B	Indeterminado

Nome	HC	HBsAg	AHBe	AHBs	HBe	AHBe	q AST	q ALT	q ALP	q GGT	Idade	Sexo	Raça	GR
CJM	667491-4	N	P	N	N	P	n	n	n	n	29	M	B	Sexual
MPA	371098-7	N	P	N	N	P	n	n	n	n	61	M	B	Sexual
MJFM	652993-9	N	P	N	N	IND	n	n	n	n	46	F	B	Sangue
JMMS	641507-1	N	P	N	N	N	n	n	n	3.3	47	M	B	Indeterminado
IL	530351-6	N	P	N	N	N	n	n	n	n	14	F	B	Contato domiciliar
JEL	560351-6	N	P	N	N	P	n	n	n	n	46	M	B	Sexual
MIA	660387-8	N	P	N	N	P	n	n	n	n	51	M	B	Sexual
GCB	477132-0	N	P	N	N	P	n	n	n	n	34	M	B	Sangue
AFS	668530-3	N	P	N	N	P	n	n	n	n	44	M	B	Sexual
MJT	668485-2	N	P	N	N	P	1.05	1.1	n	n	43	M	N	Sexual
JAS	670749-8	N	P	N	N	P	n	n	n	n	40	M	P	Indeterminado
PSC	671595-2	N	P	N	N	P	n	n	n	n	21	M	B	Indeterminado
NJS	637054-8	N	P	N	N	N	1.2	1.2	n	n	45	M	P	Indeterminado
EAS	645889-5	N	P	N	N	P	1.1	1.6	n	1.8	43	M	B	Indeterminado
HS	671756-8	N	P	N	N	P	n	n	n	1.4	47	M	B	Indeterminado
MPA	666914-9	N	P	N	N	P	n	n	n	n	45	M	P	Sexual/Sangue
CHA A	604701-8	N	P	N	N	P	n	n	2.1	n	14	M	B	Sexual
ECF	672562-2	N	P	N	N	N	n	n	n	n	30	M	B	Indeterminado
SCJS	602946-6	N	P	N	N	P	n	n	n	1.2	50	M	B	Indeterminado
LRS	634494-1	N	P	N	N	P	n	n	n	1.4	36	M	N	Sangue
CAP	673523-3	N	P	N	N	N	n	n	n	n	35	M	B	Indeterminado
EJZ	657885-1	N	P	N	N		n	n	n	n	39	M	B	Indeterminado
BP	463601-5	N	P	N	N	P	n	n	n	n	57	M	B	Sexual
PB	674441-6	N	P	N	N	P	n	n	n	1.4	40	M	B	Indeterminado
AG	160949-7	N	P	N	N	P	n	n	n	n	48	M	B	Sangue
MT	662776-7	N	P	N	N	P	n	n	n	n	32	F	B	Indeterminado
LFB	665975-6	N	P	N	N	N	n	n	n	n	42	M	P	Indeterminado
EAS	658030-5	N	P	N	N	N	n	n	n	4.7	52	M	B	Indeterminado
AGB	676865-0	N	P	N	N	N	n	n	n	n	42	M	B	Indeterminado

Nome	HC	HBsAg	AHBc	AHBs	HBc	AHBc	q AST	q ALT	q ALP	q GGT	Idade	Sexo	Raça	GR
VCA	671875-0	N	P	N	N	P	n	n	n	n	29	F	B	Sexual
GC	527463-6	N	P	N	N	N	1.9	1.5	n	1.4	48	M	P	Indeterminado
APC	653649-7	N	P	N	N	P	n	n	n	2.0	49	M	B	Indeterminado
GAA	677739-2	N	P	N	N	P	n	n	n	n	46	M	N	Indeterminado
RCSL	466751-7	N	P	N	N	P	2.2	3.0	n	1.8	25	F	B	Indeterminado
ASORS	553322-2	N	P	N	N	IND	n	n	n	n	39	F	B	Indeterminado
CSP	657156-8	N	P	N	N	N	n	n	n	n	32	M	B	Indeterminado
MAF	388736-8	N	P	N	N	P	n	n	n	n	43	M	N	Sexual
JLM	678928-2	N	P	N	N	P	n	n	n	n	43	M	B	Sexual
DFG	608347-6	N	P	N	N	P	n	n	n	n	53	M	B	Indeterminado
MCO	340843-9	N	P	N	N	P	n	n	n	2.4	54	M	B	Sexual
AM	607635-4	N	P	N	N	P	n	n	n	1.7	58	M	B	Sexual
TT	605500-9	N	P	N	N		n	n	n	n	43	F	B	Indeterminado
MGS	227021-7	N	P	N	N	N	n	n	2.0	2.0	56	F	B	Sexual/Sangue
DVS	656364-0	N	P	N	N	P	n	n	n	n	25	F	P	Indeterminado
VRL	629079-4	N	P	N	N	P	n	n	n	1.2	54	M	B	Indeterminado
MTW	222349-2	N	P	N	N	IND	n	n	1.1	2.6	31	M	A	Sexual
VRM	585518-1	N	P	N	N		n	n	n	n	35	M	P	Sexual
MBL	555924-0	N	P	N	N	P	n	n	n	n	50	F	P	Indeterminado
AD	690160-2	N	P	N	N	N	n	n	n	n	60	M	B	Indeterminado
NBS	660516-1	N	P	N	N		n	n	n	n	33	M	P	Indeterminado
IJS	584562-5	N	P	N	N	P	n	n	n	n	28	M	N	Indeterminado
JSLN	692715-7	N	P	N	N	P	n	n	n	1.4	41	M	P	Indeterminado
MFM	557487-8	N	P	N	N		n	n	n	n	49	M	N	Indeterminado
AR	677598-6	N	P	N	N		n	n	n	n	24	M	B	Indeterminado
ELS	694999-9	N	P	N	N	N	n	n	n	n	32	M	B	Indeterminado
JLA	484887-4	N	P	N	N	N	n	n	n	1.3	45	M	B	Indeterminado
FCAN	527104-2	N	P	N	N		n	n	n	n	44	M	B	Indeterminado
DFR	638415-3	N	P	N	N	P	n	n	n	n	41	M	P	Sangue
LCP	699029-5	N	P	N	N	IND	n	n	n	n	51	M	B	Indeterminado

Nome	HC	HBsAg	AHBe	AHBs	HBe	AHBe	q AST	q ALT	q ALP	q GGT	Idade	Sexo	Raça	GR
PCSF	664820-8	N	P	N	N	N	n	n	n	n	28	M	B	Indeterminado
PCSF	664820-8	N	P	N	N	N	n	n	n	n	28	M	B	Indeterminado
JFDNJ	701450-9	N	P	N	N	P	n	n	n	n	28	M	B	Sexual/Sangue
AJD	702127-1	N	P	N	N	P	n	n	n	n	60	M	B	Indeterminado
JMG	041095-4	N	P	N			n	n	n	n	46	M	P	Indeterminado
VPS	093230-0	N	P	N			n	n	n	n	38	M	B	Indeterminado
DPS	702985-1	N	P	N	N	P	n	n	n	1.1	36	M	B	Sexual
JCA	704437-8	N	P	N	N	P	n	n	n	n	30	M	B	Sexual
AVF	704433-2	N	P	N	N	N	n	n	n	n	44	M	N	Indeterminado
JTNP	704432-8	N	P	N	N	P	n	n	n	n	24	M	B	Sexual/Sangue
FB	705208-2	N	P	N	N	N	n	n	n	1.4	36	M	B	Sexual
JFS	705206-4	N	P	N	N	P	n	n	n	n	31	M	N	Sexual
JBJM	705903-4	N	P	N	N	P	n	n	n	n	34	M	N	Indeterminado
JCS	245511-4	N	P	N	N	P	n	n	n	2.7	55	M	P	Indeterminado
MBB	515269-6	N	P	N	N	P	n	n	n	n	58	M	P	Indeterminado
MDPS	708251-0	N	P	N			n	n	n	n	44	M	P	Sexual
FIGG	575430-5	N	P	N	N	P	n	n	n	n	26	F	P	Indeterminado
MAJ	036276-7	N	P	N			1.2	1.4	n	1.3	55	F	B	Sexual/Sangue
CTI	709043-8	N	P	N	N	P	n	n	n	n	28	M	A	Indeterminado
SRL	709045-6	N	P	N	N	N	n	n	n	n	49	F	B	Indeterminado
MBS	709071-5	N	P	N			n	n	n	n	44	F	B	Indeterminado
IDM	709869-0	N	P	N	N	P	n	n	n	n	46	F	P	Indeterminado
FRC	709843-6	N	P	N	N	N	n	n	n	1.05	41	M	P	Indeterminado
ALA	709836-3	N	P	N	N	N	n	n	n	n	25	M	B	Sangue
CLM	676190-3	N	P	N	N	P					21	F	B	Indeterminado
RCS	712348-5	N	P	N	N	N	n	n	n	n	29	M	B	Indeterminado
EMR	558765-3	N	P	N	N	N	n	n	n	n	27	F	P	Indeterminado
EAM	713242-2	N	P	N	N	N	n	n	n	n	26	F	B	Indeterminado
VAB	590668-5	N	P	N	N	N	n	n	n	n	50	M	B	Sangue
FG	716336-0	N	P	N	N	P	n	n	n	n	26	M	B	Indeterminado
DM	711196-3	N	P	N	N	P	n	n	1.04	n	26	F	P	Indeterminado

Nome	HC	HBsAg	AHBc	AHBs	HBc	AHBc	q AST	q ALT	q ALP	q GGT	Idade	Sexo	Raça	GR
LAS	709726-0	N	P	N	N	N	n	n	n	n	38	M	B	Indeterminado
AAVC	720453-0	N	P	N	N	P	n	n	1.7	1.5	54	F	B	Sangue
ARF	545941-0	N	P	N	N	P	n	n	n	n	27	F	B	Sexual/Sangue
DJ	725784-2	N	P	N	N	N	n	n	n	n	52	M	B	Sexual
NVS	268707-2	N	P	N			n	n	n	n	28	M	B	Indeterminado
RAL	726182-5	N	P	N	N	P	n	n	n	n	20	F	B	Indeterminado
JJ	729813-7	N	P	N	N	N	n	n	n	n	37	M	B	Contato domiciliar
CFD	729844-6	N	P	N	N	N	n	n	n	n	32	M	B	Indeterminado
MFCC	730779-0	N	P	N	N	N	n	n	n	1.3	40	F	B	Indeterminado
MSM	557160-0	N	P	N	N	P	n	n	n	1.02	26	F	B	Indeterminado
MAN	734096-4	N	P	N	N	P	n	n	n	n	41	M	P	Sexual
PSM	733734-1	N	P	N	N	P	n	n	n	n	31	M	B	Sexual/Sangue
CMS	735857-3	N	P	N	N	P	n	n	n	n	34	F	P	Indeterminado
ARS	736717-4	N	P	N	N	P	n	1.02	n	2.0	34	M	B	Indeterminado
JPS	739179-9	N	P	N	N	P	n	n	n	n	38	M	N	Indeterminado
TCS	740703-9	N	P	N	N	P	n	n	n	n	44	F	B	Indeterminado
RZ	741563-4	N	P	N	N	N	n	n	1.04	1.35	48	M	B	Sexual
EM	296435-1	N	P	N	N	P	n	n	n	n	34	M	B	Sexual
ACL	741549-8	N	P	N	N	P	n	n	n	n	33	F	B	Indeterminado
AB	741534-3	N	P	N	N	P	n	n	n	n	28	F	N	Indeterminado
JBS	239447-7	N	P	N	N	P	n	n	n	n	54	M	B	Sangue
CAR	742519-0	N	P	N	N	P	n	n	n	n	25	M	P	Indeterminado
PS	745020-0	N	P	N	N	N	n	n	n	n	45	M	B	Sexual
APL	651315-4	N	P	N	N	P	n	n	n	1.1	42	M	B	Sexual
AS	268817-3	N	P	N	N	P	1.9	1.3	n	8.2	48	M	B	Indeterminado
GDR	018503-6	N	P	N	N	N	n	n	n	n	48	M	B	Indeterminado
MEB	137653-5	N	P	N	N	P	n	n	n	n	38	F	P	Sangue
EPS	311045-2	N	P	N	N	P	n	n	n	n	43	F	B	Indeterminado
JV	699562-7	N	P	N	N	P	n	n	n	n	51	M	B	Sexual
WCG B	747516-3	N	P	N	N	P	n	n	n	n	51	M	B	Indeterminado
LCL	745824-4	N	P	N	N	P	n	n	1.1	2.0	36	M	B	Indeterminado

Nome	HC	HBsAg	AHBc	AHBs	HBe	AHBe	qAST	qALT	qALP	qGGT	Idade	Sexo	Raça	GR
ATO	750917-0	N	P	N	N	P	n	n	n	n	55	M	B	Sexual
MLTF	750921-1	N	P	N	N	N	n	n	n	n	44	F	B	Indeterminado
ACSPS	699688-7	N	P	N	N	P	n	n	1.3	2.7	33	M	N	Ocupacional
LBR	613838-8	N	P	N	N	P	n	n	n	n	22	F	B	Contato domiciliar
MJCM	752709-5	N	P	N	N	N	n	n	n	n	41	F	B	Indeterminado
CPS	743088-8	N	P	N	N	N	n	n	n	n	40	M	B	Sexual
JBS	570221-7	N	P	N	N	P	n	n	n	n	49	F	B	Sangue
EAS	757496-5	N	P	N	N	N	n	n	n	n	33	M	N	Indeterminado
RCF	757512-5	N	P	N	N	N	n	n	n	1.06	26	F	B	Indeterminado
ENNO	299176-8	N	P	N	N	P	n	n	n	n	43	M	B	Sexual
BPK	764231-0	N	P	N	N	N	n	n	n	n	47	M	N	Sexual
SLS	160724-5	N	P	N	N	N	n	n	n	n	38	M	B	Indeterminado
MAD	768143-5	N	P	N	N		n	n	n	n	31	M	B	Indeterminado
RFC	769110-5	N	P	N	N	N	n	n	n	n	22	F	B	Indeterminado
CHCS	076080-8	N	P	N	N	P	n	n	n	n	29	M	B	Indeterminado
SLZM	242597-7	N	P	N			n	n	n	n	39	M	B	Sexual
JLM	554609-5	N	P	N	N	P	n	n	n	n	44	M	N	Sexual
AL	747506-8	N	P	N	N	P	n	n	n	n	56	M	P	Indeterminado
MOC	726687-5	N	P	N	N	P	n	n	n	n	21	M	B	Contato domiciliar
OAF	531299-9	N	P	N	N	P	n	n	n	1.3	50	M	B	Sexual