

INVESTIGAÇÃO DE anti-HBs EM DOADORES DE SANGUE COM SOROLOGIA REATIVA PARA anti-HBc e anti-HBc/HBsAg, EM UM BANCO DE SANGUE EM CASCAVEL/PR

KIEL, Greicy¹
ALVES, José Roberto Pereira²
BORDIGNON, Juliana³

RESUMO

A contaminação pelo vírus da hepatite é comum, porém muitos portadores ainda desconhecem a infecção. Este trabalho teve como objetivo, rastrear e analisar a prevalência do marcador Anti-HBs na população estudada, quando esta apresentava sorologia reativa para Anti-HBc e Anti-HBc/HBsAg. O presente estudo envolveu dois grupos de doadores de sangue que compareceram ao Instituto de Hematologia de Cascavel em períodos distintos. O grupo 1 foi composto por 11.093 doadores de sangue entre 12/06/2007 a 29/02/2008, dos quais 70 amostras (0,63%) apresentaram-se reagentes concomitantemente para anti-HBc e HBsAg. O grupo 2 compreendeu 2.769 doadores de sangue no período de 01/02/2008 a 05/04/2008, dos quais 200 amostras (7,22%) tiveram resultado reagente somente para anti-HBc. Todas as 270 amostras reagentes foram testadas para anti-HBs. Os resultados foram analisados estatisticamente pelo método χ^2 ($p < 0,05$). Percebeu-se com as análises, que houve um pequeno predomínio de homens reativos (58,3% no grupo 1 e 56,2% no grupo 2) e a maioria dos doadores, em ambos os sexos, estava na faixa etária de 30 a 65 anos de idade. Dentre as 70 amostras reagentes do grupo 1, apenas uma amostra apresentou resultado reagente para anti-HBs, porém com valor baixo (12,31 UI/L). No grupo 2, 76% (152/200) das amostras tiveram resultado reagente para anti-HBs, sendo que 48,5% (95/200) destas apresentaram valor acima de 100 UI/L. Tais resultados permitem concluir que os homens apresentam-se numericamente superiores às mulheres quanto a reatividade, a qual acontece em geral acima de 35 anos.

PALAVRAS-CHAVE: Doadores de Sangue. Hepatite B. Anti-HBc. Soroprevalência. Anti-HBs.

INVESTIGATION INTO anti-HBs BLOOD DONORS WITH POSITIVE SEROLOGY FOR ANTI-HBc AND ANTI-HBc/HBsAg IN A BLOOD BANK IN CASCAVEL, PR

ABSTRACT

Contamination by hepatitis is common, but many patients are still unaware of the infection. This study objective is to analyze the prevalence of anti-HBs marker in this population, when it showed reactive serology for anti-HBc and Anti-HBc/HBsAg. This work involved two groups of blood donors who attended the Hematology Institute of Cascavel in different periods. Group 1 was composed of 11,093 blood donors from 12/06/2007 to 29/02/2008, of which 70 samples (0.63%) were concomitantly reactive for anti-HBc and HBsAg. Group 2 comprised 2769 blood donors in the period from 01/02/2008 to 05/04/2008, of which 200 samples (7.22%) had only positive result for anti-HBc. All the reagents 270 samples were tested for anti-HBs results were statistically analyzed by the χ^2 method ($p < 0.05$). It was noticed with the analysis, there was a slight predominance of men reactive (58.3% in group 1 and 56.2% in group 2) and the majority of donors in both sexes, were aged 30 to 65. Among the 70 samples reactive group 1, only one sample showed positive result for anti-HBs, but with low value (12.31 IU / L). In group 2, 76% (152/200) of samples were found reactive for anti-HBs, and 48.5% (95/200) of these presented values above 100 IU / L. These results suggest that men are numerically superior to women as the reactivity, which usually happens over 35 years.

KEYWORDS: Blood Donors. Hepatitis B. Anti-HBc. Seroprevalence. Anti-HBs.

¹ Bióloga. Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente (UFRGS). e-mail: greicykiel@hotmail.com

² Biólogo. Especialista em Análises Clínicas. E-mail: jotafutsal@hotmail.com.

³ Farmacêutica. Graduada pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE. Responsável Técnica do Instituto de Hematologia Cascavel. E-mail: julianabordignon@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

As hepatites virais são doenças causadas por diferentes agentes etiológicos, de distribuições universais, que têm em comum o hepatotropismo. Tais doenças possuem semelhanças do ponto de vista clínico-laboratorial, mas apresentam importantes diferenças epidemiológicas e quanto à sua evolução. A melhoria das condições de higiene e de saneamento das populações, a vacinação contra a Hepatite B e novas técnicas moleculares, estão entre esses avanços importantes no combate a essa doença (FERREIRA e SILVEIRA, 2004). Acredita-se que até o ano de 2000, cerca de 350 milhões de pessoas estivessem contaminadas pelo vírus (FERREIRA, 2000).

Atualmente oito tipos de vírus de hepatites são conhecidos, os mais comuns são do tipo A, B e C (LIEBER, 2007). Porém os tipos B, C e D são considerados casos mais graves, uma que vez que podem tornar-se crônicos (Sabe-se que outros vírus também podem levar à hepatite, como por exemplo o citomegalovírus (CMV), o vírus do herpes simples e o vírus da mononucleose infecciosa (Epstein-Barr Vírus) (LIEBER, 2007).

O contágio pelo vírus da hepatite tende a induzir patologias mais severas quando o agente contaminante for dos tipos B (HBV) e C (HCV), evoluindo para forma crônica, eventualmente com complicações fatais (BRASIL, 2005).

Devido à sua alta especificidade, o HBV infecta o homem, que constitui seu reservatório natural. O período de incubação varia de 30 à 180 dias (média de 70) entre a exposição do hospedeiro ao início dos sinais e sintomas da doença. A evolução da hepatite B aguda consiste em três fases: prodrômica ou pré-ictérica, ictérica e convalescença. A recuperação completa varia de semanas a meses, sendo que cerca de 90 à 95% dos pacientes pode evoluir para a cura (BRASIL, 2005; 2007). Uma parcela dos portadores crônicos, após anos de evolução do VHB, evolui para cirrose, com surgimento de icterícia, edema, barriga d'água, varizes esofágicas e alterações hematológicas. A hepatite B crônica pode também evoluir para hepatocarcinoma sem passar pelo estágio de cirrose (LIEBER, 2007).

Quando um indivíduo está infectado por VHB, é possível detectar antígenos e anticorpos através de testes laboratoriais, relativamente simples. Os antígenos são divididos em dois grupos: os de superfície (HBsAg) e os centrais “core” (HBcAg e HBeAg), que apesar da divisão em grupos, no aspecto e ponto de vista clínico se comportam da mesma maneira. Esses antígenos estimulam o organismo a produzir os anticorpos anti-HBs, anti-HBc e anti-HBe. Os marcadores que podem ser detectados através de testes sorológicos são o HBsAg, anti-HBs, anti-HBc total, anti-HBc IgM, HBeAg e anti-HBe e a análise conjunta dos mesmos permite diagnosticar a fase da doença ou a cura

(LIEBER, 2007). Atualmente, reconhece-se que exista uma correlação entre o nível sérico de HBsAg e os fatores clínicos e virológicos que levam a compreender a cronicidade do HBV em diferentes fases da infecção, assim sendo tais níveis indiquem o complexo equilíbrio entre o vírus e a defesa imunológica do hospedeiro, assim como o produto da transcrição e replicação viral (BRUNETTO, 2010).

A RDC do Ministério da Saúde nº153 de 14 de junho de 2004, preconiza a obrigatoriedade da realização de testes de triagem sorológica de dois marcadores de hepatite B (HBsAg e anti-HBc) em doadores de sangue, porém vale ressaltar que os testes são apenas triagem sorológica tendo como objetivo a proteção do receptor e não o diagnóstico das hepatopatias dos candidatos a doação de sangue (MIRANDA *et al.*, 2000; BRASIL, 2004; VALENTE *et al.*, 2005).

O objetivo do presente trabalho foi verificar se doadores de sangue que apresentaram sorologia reagentes para Anti-HBc e Anti-HBc/HBsAg, adquiriram imunidade ao vírus da hepatite B, ou seja, produziram anticorpos anti-HBs suficientes que possam ser detectados em exame específico. Além de estimar parâmetros através do rastreamento sorológico, estudar os aspectos da epidemiologia da hepatite B (transmissão e prevenção) e determinar a prevalência de marcadores sorológicos do VHB.

2. METODOLOGIA

Após aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da Faculdade Assis Gurgacz (CEP/FAG), sob parecer 299/2008, as pesquisas foram realizadas no Instituto de Hematologia de Cascavel Ltda (Banco de Sangue de Cascavel), por equipamento automatizado ETI-Max 3000 e testes sorológicos. Foram utilizados 288 testes anti-HBs DiaSorin[®] fornecidos pela DiaSorin Ltda e DiagMax (Representação e Comércio de Produtos Médicos Ltda).

Para realização do estudo foram selecionadas 70 amostras reagentes concomitantemente para anti-HBc e anti-HBc/HBsAg de doadores de sangue num período de oito meses. Estes foram selecionados como grupo 1. Para o grupo 2, fizeram parte 200 amostras reagentes somente para anti-HBc. Todas as amostras utilizadas apresentaram resultado não reagente para os demais parâmetros exigidos pelo Ministério da Saúde (HTLV, Chagas, HCV, Sífilis e duas metodologias de HIV 1 + 2).

As amostras passaram por descongelamento lento e depois foram mantidas sob a temperatura indicada pelo fabricante do kit. Após verificar a condição das amostras quanto estarem hemolisadas ou lipêmicas, estas foram homogeneizadas e conduzidas à análise.

Todas as amostras foram submetidas à detecção dos marcadores anti-HBc total, HBsAg e anti-HBs, empregando-se testes imunoenzimático Elisa (Enzymelinked Immunosorbent Assay). Foram utilizados os seguintes kits comerciais: Determinação do HBsAg: ETI-MAK-4[®] HBsAg EIA (DiaSorin). Determinação do anti-HBc total: ETI-AB-COREK Plus[®] Anti-HBc EIA (DiaSorin). Determinação do anti-HBs: ETI-AB-AUK-Anti-HBs EIA[®] (DiaSorin), de acordo com a metodologia e análise recomendadas pelo fabricante.

A leitura foi realizada pelo espectrofotômetro do equipamento utilizando os filtros 450/630nm e 405/630nm. Os resultados abaixo de 10UI/L são considerados não reagentes e os acima de 10UI/L são tidos como reagentes para anti-HBs.

Os dados foram então compilados e analisados a partir do teste estatístico qui-quadrado com 95% de significância ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período no qual se analisou o grupo 1, 11.093 doadores de sangue compareceram ao IHEC e destes 70 foram reagentes concomitantemente para HBsAg e anti-HBc. O grupo 2 foi composto por um total de 2.769 doadores, destes 200 amostras com testes de triagem reagente somente para anti-HBc. Não houve diferença entre o número de primodoadores e doadores de repetição em ambos os grupos, sendo 38,4% (4.256/11.093) no grupo 1 e 41,53% (1.150/2.769) no grupo 2.

Percebeu-se o predomínio de doadores do sexo masculino em ambos os grupos, sendo composto por 58,3 % (6.470/11.093) no grupo 1 e 56,2% (1.557/2.769) no grupo 2. Pôde-se perceber que a maioria dos doadores, em ambos os sexos, está na faixa etária de 30 a 65 anos, porém não houve diferença em relação aos grupos ou a outras faixas.

O pequeno predomínio dos doadores do sexo masculino nos grupos 1 e 2 (58,3 % e 56,2%, respectivamente) durante os períodos analisados não é consistente com os achados em outras regiões do Brasil, com valores iguais a 81,5% no Norte, 82,7% no Nordeste, 76,6% no Centro-Oeste e 71,7% no Sul (VALENTE et al., 2005). Neste estudo foi observado que a porcentagem de mulheres que doaram sangue, praticamente equivaleu-se aos do sexo masculino, que se encontra abaixo dos achados em outras regiões, mostrando uma diferença significativa do perfil dos doadores da região de Cascavel, oeste do Paraná.

No grupo 1, foi possível notar o predomínio de positividade para anti-HBc e HBsAg em doadores do sexo masculino, representando um percentual de 72,9% (51/70). Em ambos os sexos, a

maioria dos resultados reagentes está nas faixas etárias de 18 a 27 anos e 28 a 37 anos, conforme pode ser visualizado na Tabela 1.

Tabela 1 – Distribuição dos doadores com resultado reagente concomitante para anti-HBc e HBsAg, segundo faixa etária e sexo, pertencentes ao primeiro grupo.

Faixa etária (anos)	Sexo					
	Masculino		Feminino		Total	
	nº	%	nº	%	nº	%
18 a 27	21	41,2	07	36,8	28	40
28 a 37	17	33,3	08	42,1	25	35,7
38 a 47	10	19,6	-	-	10	14,3
> 47	03	5,8	04	21,1	07	10
Total	51	100	19	100	70	100

Fonte: Dados da Pesquisa.

No grupo 1, apenas 0,63% dos doadores apresentaram resultado de triagem sorológica reagente para anti-HBc e HBsAg, o que é semelhante ao percentual de 0,6% de prevalência encontrado entre doadores de sangue do Hemocentro de Ribeirão Preto entre os anos de 1996 e 2001 (VALENTE et al., 2005) e, aos dados encontrados por Pereira (2009), sendo a região sul, àquela considerada com menores frequências de infecção por tal vírus.

Cabe salientar que a triagem sorológica realizada nos bancos de sangue não confirma a positividade para a hepatite B, servindo apenas para excluir bolsas potencialmente infectantes. Assim, doadores reagentes deverão ter sua positividade confirmada por técnicas de alta especificidade, o que não constitui uma obrigação legal desses serviços. Esses doadores são encaminhados para serviços especializados para a realização de testes confirmatórios e acompanhamento, caso seja necessário. Indivíduos que apresentam apenas o marcador anti-HBc são considerados como inaptos definitivos à doação de sangue. Contudo, é recomendado a estes que realizem exames confirmatórios em laboratórios externos e, uma vez que estes sejam não reagentes e encaminhados ao banco de sangue, podem ser retirados da lista de inaptidão definitiva, podendo voltar a ser doadores.

Analisando o grupo 2, não se detecta diferença no número de amostras reagentes entre os sexos, sendo que 53,5% (107/200) eram do sexo masculino, e destes a faixa etária de maior concentração foi entre 38 e 47 anos. Do sexo feminino, a maior concentração de indivíduos reativos na análise, está na faixa etária de 28 a 37 anos, conforme é possível observar na Tabela 2.

Tabela 2– Distribuição dos doadores com resultado reagente para anti-HBc, segundo faixa etária e sexo, pertencentes ao grupo 2

	Sexo					
	Masculino		Feminino		Total	
Faixa etária (anos)	nº	%	nº	%	nº	%
18 a 27	18	16,8	15	16,1	33	16,5
28 a 37	25	23,4	37	39,8	62	31
38 a 47	38	35,5	25	26,9	63	31,5
> 47	26	24,3	16	17,2	42	21
Total	107	100	93	100	200	100

Fonte: Dados da Pesquisa.

Apesar da evidência de que a imunização ativa com o anti-HBc possa originar resposta imune, esse marcador não é tido como anticorpo neutralizante e sua presença não assinala a recuperação da infecção pelo HBV (VALENTE *et al.*, 2005). No grupo 2, 200 doadores apresentaram resultado reagente para anti-HBc, com positividade de 7,22% (200/2.769) representando um número significativo de doadores recusados. Este percentual também é semelhante ao de 8,7% apresentado no Hemocentro de Ribeirão Preto entre os anos de 1996 e 2001, mas muito abaixo das referidas, no início da década de 1990, entre doadores de Campinas (11%) (VALENTE *et al.*, 2005). Mello et al. (2011) ao analisar os dados de pacientes internados no núcleo hospitalar na região sul do país, perceberam que a incidência de hepatite C é significativa, o que é um quadro relevante, pois muitos desconhecem sua infecção, tal como a gravidade da situação. Dentre os pacientes com sorologia reativa para HCV, a maioria é constituída por homens acima dos 50 anos.

Dentre as 70 amostras reagentes do grupo 1, apenas uma apresentou resultado reagente para anti-HBs, porém em baixa concentração (12,31 UI/L) e próxima ao limite inferior de 10 UI/L.

Na Tabela 3 é possível perceber que das 200 amostras reagentes do grupo 2, 76 % (152/200) apresentaram resultado reagente com diferentes níveis para anti-HBs e 24% (48/200) apresentaram níveis de anti-HBs abaixo de 10UI/L, sendo consideradas não reagentes.

Tabela 3 - Resultado dos doadores reagentes para anti-HBc testados para anti-HBs (Distribuição segundo sexo, faixa etária e concentração de anti-HBs)

Concentração de Anti-HBs								
>10 a <100								
	>10UI/L		UI/L		>100 UI/L		Total	
Faixa etária								
(anos)	Masc.	Fem.	Masc.	Fem.	Masc.	Fem.	nº	%
18-27	5	3	1	3	12	9	33	16,5
28-37	9	6	6	13	10	18	62	31
38-47	9	3	11	8	18	14	63	31,5
>47	9	4	10	5	7	7	42	21
Total	32	16	28	29	47	48	200	100

Fonte: Dados da Pesquisa.

Das 70 amostras do grupo 1, uma única amostra apresentou resultado reagente, porém dentro da faixa considerada como inconclusiva, podendo ter ocorrido contaminação da amostra ou durante a realização do ensaio.

No grupo 2, das 200 amostras reagentes testadas para anti-HBs, 152 (76%) apresentaram reagentes, percentual este semelhante ao citado por Focaccia (2007), onde estudos demonstram que cerca de 70 a 90% dos doadores de sangue que apresentam anti-HBc isolado têm valores de anti-HBs acima de 10UI/L; e o índice de amostras com concentração abaixo de 10UI/L para anti-HBs foi de 24%. Os resultados de concentração de anti-HBs menores que 10UI/L são considerados não reagentes e é recomendada a vacinação para indivíduos que apresentam este resultado. Das amostras reagentes para anti-HBs nesse mesmo grupo, 57 tiveram resultado reagente entre 10 e 100UI/L, representando 28,5%. Os valores nesta faixa devem ser analisados com cautela e é aconselhado que seja feito um acompanhamento. Caso não haja aumento nestes níveis em alguns meses, estes doadores devem ser vacinados para Hepatite B. Valores acima de 100 UI/L foram encontrados em 47,5% (95/200) amostras. Os indivíduos que apresentam concentração de anti-HBs em níveis maiores que 100 UI/L são considerados imunes ao vírus da Hepatite B.

O coeficiente de prevalência de hepatite B na população adulta tem variado de 0,1 a 20% em estudos realizados em diferentes partes do mundo. No Brasil de acordo com a endemicidade assume-se que existem três padrões, sendo o primeiro definido como de alta endemicidade com prevalência superior a 7% e inclui a região Amazônica, Espírito Santo e Oeste de Santa Catarina; o segundo padrão é de média endemicidade ficando entre 2 e 7% nas regiões Nordeste e Centro

Oeste; já o terceiro padrão encontra-se nas demais regiões do Brasil com menos de 2%, considerada de baixa endemicidade. Um levantamento de dados realizado pelo Ministério da Saúde no período de 1996 a 2000, apontou o Estado de Santa Catarina como tendo a maior taxa de detecção de Hepatite B do País equivalente a 0,12% com 117 casos por 100.000 habitantes, seguido pelo Distrito Federal 0,09% com 92,8, do Paraná 0,06% com 63,8 e Roraima 0,05% com 56,8 casos por 100.000 habitantes (BRASIL, 2004).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Percebeu-se que em geral os indivíduos com resultado reagente para anti-HBc e HBsAg concomitantemente não apresentam anti-HBs. Daqueles que apresentam somente o marcador de anti-HBc isolado, a grande maioria (70 a 90%) apresenta positividade para anti-HBc. Contudo, neste estudo, não se pôde concluir se os anticorpos anti-HBs são decorrentes de vacinação ou de infecção pelo vírus, pois não se tinha a informação sobre vacinação na maioria dos casos reagentes.

Outra observação importante foi em relação à porcentagem de mulheres que doaram sangue no período estudado, que praticamente equivaleu-se aos doadores do sexo masculino.

REFERÊNCIAS

BRASIL. **Resolução nº 153, de 14 de junho de 2004.** Determina o regulamento Técnico para os procedimentos hemoterápicos, incluindo a coleta, o processamento, a testagem, o armazenamento, o transporte, o controle de qualidade e o uso humano de sangue, e seus componentes, obtidos do sangue venoso, do cordão umbilical, da placenta e da medula óssea. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 24 de junho de 2004.

BRASIL. **Programa Nacional de Hepatites para a Prevenção e controle das Hepatites virais.** Manual de Aconselhamento de Hepatites Virais. [periódico na Internet] 1ª edição. Ministério da Saúde. Brasília, DF, 2005.

BRASIL. **Programa Nacional Para a Prevenção e o Controle das Hepatites Virais.** Ministério da Saúde. Brasília, DF, 2007.

BRUNETTO, M.R. A new role for an old marker, HBsAg. **Journal of Hepatology**, v. 52, p.475-477, 2010.

FERREIRA, M.S. Diagnóstico e tratamento de hepatite B. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.33, n.4, p.389-400, 2000.

FERREIRA, C.T.; SILVEIRA, T.R. Hepatites virais: aspectos da epidemiologia e da prevenção. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.7, n.4, P. 473-487, 2004.

FOCACCIA, R. **Tratado de Hepatites Virais**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2007.

LIEBER, S.R. **Hepatites**. 2007. Disponível em: <<http://www.marckenzie.com.br/universidade>> . Acesso em 08 set 2009.

MELLO, J.C.; MOTTA, T.P.; SANTOS, M.C dos. Perfil epidemiológico de portadores de hepatite C do núcleo hospitalar epidemiológico do sul do Brasil. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v.15, n.3, p. 55-64, 2011.

MIRANDA, L.V.G.; PASSOS, A.D.C.; FIGUEIREDO, J.F.C.; GASPAR, A.M.C.; YOSHIDA, C.F.T. Marcadores sorológicos de hepatite B em indivíduos submetidos a exames de sangue em unidades de saúde. **Revista Saúde Pública**, v.34, n.3 p. 286-291, 2000.

PEREIRA LM, MARTELLI CM, MERCHÁN-HAMANN E, MONTARROYOS UR, BRAGA MC, DE LIMA ML, CARDOSO MR, TURCHI MD, COSTA MA, DE ALENCAR LC, MOREIRA RC, FIGUEIREDO GM, XIMENES RA. Population-based multicentric survey of hepatitis B infection and risk factor differences among three regions in Brazil. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, v.81, p.240-247, 2009.

VALENTE VB, COVAS DT, PASSOS ADC. Marcadores sorológicos das hepatites B e C em doadores de sangue do Hemocentro de Ribeirão Preto, SP. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.38, n.6, p.488-492, 2005.