



Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

Jaqueline Calça Assis

**Prevalência de anti-HBc isolado em
amostras do Instituto Adolfo Lutz e hepatite
B oculta após resposta vacinal em
pacientes do Ambulatório Municipal de
Hepatites Virais**

São José do Rio Preto

2016

Jaqueline Calça Assis

**Prevalência de anti-HBc isolado em
amostras do Instituto Adolfo Lutz e hepatite
B oculta após resposta vacinal em
pacientes do Ambulatório Municipal de
Hepatites Virais**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina de São José do Rio Preto
para obtenção do Título de Mestre
no Programa de Pós-graduação em
Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Fernando G. Rubio

São José do Rio Preto

2016

Calça-Assis, Jaqueline

Prevalência de anti-HBc isolado em amostras do Instituto Adolfo Lutz e hepatite B oculta após resposta vacinal em pacientes do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais / Jaqueline Calça Assis

São José do Rio Preto, 2016

69p.

Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP

Eixo Temático: Medicina em ciências Correlatas.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Gôngora Rubio

1. Hepatite B; 2. Vírus da hepatite B; 3. Hepatite B crônica

Jaqueline Calça Assis

**Prevalência de anti-HBc isolado em
amostras do Instituto Adolfo Lutz e hepatite
B oculta após resposta vacinal em
pacientes do Ambulatório Municipal de
Hepatites Virais**

BANCA EXAMINADORA

TESE PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Fernando
Gôngora Rubio

2º Examinador: Profa. Dra. Patrícia S. Fucuta

3º Examinador: Profa. Dra. Márcia M.C.N. Soares

Suplentes: Prof. Dr. Ricardo Santaella Rosa

Profa. Dra. Rita de Cássia M.A. Silva

São José do Rio Preto, 07/11/2016.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	i
AGRADECIMENTOS.....	ii
EPÍGRAFE.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
LISTA DE QUADROS.....	vii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	viii
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
INTRODUÇÃO.....	1
1. Histórico.....	1
2. A Doença.....	3
3. Epidemiologia.....	5
4. O Vírus da Hepatite B (HBV).....	7
5. Genoma.....	9
6. Marcadores Virais.....	11
7. Diagnóstico da Hepatite B.....	14
8. Anti-HBc Isolado e Hepatite B Oculta.....	17
9. Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais.....	21
10. Imunização.....	26
OBJETIVOS.....	28
1. Primários.....	28
2. Secundários.....	28

CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	29
1. Local e População do Estudo.....	29
1.1 Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto.....	29
1.2 Ambulatório Municipal de Hepatites Virais.....	30
2. Tipo de Estudo.....	30
3. Definições.....	31
4. Critérios de Inclusão.....	31
5. Critérios de Exclusão.....	32
6. Coleta de Dados e Período de Estudo.....	32
6.1 População do Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto	32
6.2 População do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais	35
7. Análise Laboratorial.....	37
7.1 População do Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto	37
7.2 População do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais	43
8. Análise de Dados.....	44
RESULTADOS.....	45
1. Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto.....	45
1.1 Prevalência de Anti-HBc isolado.....	45
1.2 Presença de anticorpos contra HIV e HCV.....	46

2.	Ambulatório Municipal de Hepatites Virais.....	47
2.1	Resposta vacinal em pacientes anti-HBc isolado.....	47
2.2	Prevalência de hepatite B oculta.....	49
2.3	Presença de anticorpos contra HIV e HCV.....	51
	DISCUSSÃO.....	53
	CONCLUSÕES.....	62
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu filho Theo Calça Assis razão do meu viver, ao meu marido e companheiro André Luiz Alves de Assis, à minha mãe Therezinha Calça e à minha madrinha Ana Maria Calça exemplos de vida e porto seguro. Obrigada pela compreensão nos momentos difíceis e pelos estímulos constantes.

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as bênçãos derramadas em minha vida.

Ao meu orientador, Dr Fernando Gôngora Rubio, pela sugestão do tema, confiança e estímulo durante a realização do trabalho.

À Dra Delzi Vinha Nunes Gôngora pela ajuda inestimável.

À diretora do Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto, Margarida Georgina Bassi por não medir esforços para que esse projeto acontecesse. Obrigada pelo incentivo.

Aos amigos do Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto pelo carinho a mim dispensado.

Aos funcionários do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais que me receberam com muito carinho e estavam sempre dispostos a me auxiliar.

À minha família que foi refúgio de minhas angústias, acreditou e me incentivou na busca do conhecimento.

EPÍGRAFE

“É melhor tentar e falhar, que preocupar-se e ver a vida passar.

É melhor tentar, ainda que em vão que sentar-se, fazendo nada até o final.

Eu prefiro na chuva caminhar, que em dias frios em casa me esconder.

Prefiro ser feliz embora louco, que em conformidade viver.”

Martin Luther King

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Estrutura da partícula do vírus da hepatite B (HBV).	8
Figura 2.	Representação esquemática da organização genômica do vírus da hepatite B (HBV) mostrando as fases abertas de leitura (ORF) existentes.	10
Figura 3.	Fluxograma 2 de triagem da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) utilizando testes rápidos (TR).	22
Figura 4.	Fluxograma 3 de diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV).	23
Figura 5.	Fluxograma 4 para o diagnóstico da infecção oculta pelo vírus da hepatite B (IOB).	24
Figura 6.	Fluxograma 5 para o diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) em indivíduos menores de 18 meses.	25
Figura 7.	Protocolo do Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto para o diagnóstico sorológico de hepatite B no período de 01 de janeiro a 31 de dezembro de 2014.	33
Figura 8.	Fluxograma de procedimento de pesquisa de anti-HBc isolado realizada no Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto no período de 01 de janeiro a 31 de dezembro de 2014.	34
Figura 9.	Fluxograma de procedimento de pesquisa de anti-HBc isolado realizada no Ambulatório Municipal de Hepatites	36

Virais no período de 01 de janeiro a 31 de dezembro de 2014.

- Figura 10.** Distribuição dos marcadores de hepatite B nas amostras do Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014. 46
- Figura 11.** Distribuição de anti-HBc isolado quanto à coinfeção com HIV e HCV nas amostras do Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014. 47
- Figura 12.** Distribuição da soroconversão em pacientes anti-HBc isolado do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014. 48
- Figura 13.** Distribuição da soroconversão quanto ao número de doses recebidas em pacientes anti-HBc isolado do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014. 49
- Figura 14.** Ocorrência de hepatite B oculta em pacientes anti-HBc isolado sem resposta vacinal do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014. 50
- Figura 15.** Distribuição de anti-HBc isolado quanto à coinfeção com HIV, HCV nos pacientes do Ambulatório Municipal de 51

Hepatites Virais no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014.

Figura 16. Distribuição da evolução dos pacientes anti-HBc isolado do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014. 52

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.	Interpretação dos resultados dos testes sorológicos da hepatite B.	16
Quadro 2.	Interpretação dos resultados dos kits sorológicos ADVIA Centaur CP, Biokit e Diasorin para diagnóstico da hepatite B	37
Quadro 3.	Interpretação dos resultados para Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em Tempo Real - COBAS AmpliPrep/ TaqMan HBV Roche.	39
Quadro 4.	Interpretação dos resultados para Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) - COBAS Amplicor HBV Roche.	40
Quadro 5.	Interpretação dos resultados para Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (Real Time PCR).	41
Quadro 6.	Interpretação dos resultados para Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em Tempo Real - COBAS AmpliPrep/ COBAS TaqMan HBV Test, v2.0.	42
Quadro 7.	Interpretação dos resultados para Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em Tempo Real - Abbott.	43
Quadro 8.	Interpretação dos resultados dos kits sorológicos Diasorin e Biomerieux para diagnóstico da hepatite B.	44
Quadro 9.	Resultado da análise de Reação em cadeia da Polimerase (PCR) em pacientes anti-HBc isolado do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais, no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014.	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

a.C.	Antes de Cristo
AMHV	Ambulatório Municipal de Hepatites Virais
Anti-HBc	Anticorpo contra o antígeno <i>core</i> do vírus B
Anti-HBcIgM	Anticorpo IgM contra o antígeno <i>core</i> do vírus B
Anti-HBcIgG	Anticorpo IgG contra o antígeno <i>core</i> do vírus B
Anti-HBc total	Anticorpos totais contra o antígeno <i>core</i> do vírus B
Anti-HBe	Anticorpo contra o antígeno “e” do vírus B
Anti-HBs	Anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus B
cccDNA	DNA fita dupla completa covalentemente fechada circular
CHC	Carcinoma hepatocelular
CORE	Componente central
CRIE	Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais
CV	Carga viral
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DRS	Departamento Regional de Saúde
DST	Doenças Sexualmente Transmissíveis
HBcAg	Antígeno <i>core</i> do vírus B
HBeAg	Antígeno “e” do vírus B
HBsAg	Antígeno de superfície do vírus B
HBV	Vírus da hepatite B
HBV-DNA	DNA do vírus da hepatite B
HCV	Vírus da hepatite C

HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IAL - CLR X - SJRP	Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto
IOB	Infecção oculta pelo vírus da hepatite B (hepatite B oculta)
ITS	Infecções Sexualmente Transmissíveis
Nm	Nanômetro
OMS	Organização Mundial da Saúde
ORF	Fase de leitura aberta (do inglês <i>open reading frame</i>)
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase (Polymerase Chain Reaction)
SAE - SJRP	Serviço de Atendimento Especializado de São José do Rio Preto
SIGH	Sistema Integrado de Gestão Hospitalar
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
TR	Testes Rápidos
UBS	Unidade Básica de Saúde
UPA	Unidade de Pronto Atendimento
UI/mL	Unidades Internacionais por mililitro

RESUMO

Introdução: A presença do anti-HBc isolado pode ter vários significados: falso positivo, janela imunológica de cura, imunidade tardia ou infecção oculta pelo vírus da hepatite B (IOB). Na prática clínica é importante e necessário o esclarecimento diagnóstico para evitar transmissão em populações de risco como pacientes hemodialisados, doadores de sangue, transplantados e indivíduos coinfectados com HIV e/ou HCV. **Objetivo:** O objetivo do estudo foi determinar a prevalência de anti-HBc isolado e hepatite B oculta, respectivamente, em amostras de sangue do Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto (IAL - CLR X - SJRP) e pacientes do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais (AMHV) ambos da cidade de São José do Rio Preto, no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014. **Casuística e Métodos:** A população estudada do IAL - CLR X - SJRP é proveniente da região atendida pela Divisão Regional de Saúde (DRS) XV e a do AMHV é uma população triada para esclarecimento, acompanhamento e tratamento das hepatites virais do município. Nesta população com anti-HBc isolado os pacientes foram imunizados contra hepatite B e os indivíduos sem resposta vacinal foram selecionados para realização da pesquisa de HBV-DNA para diagnóstico da hepatite B oculta. **Resultados:** Durante o período de estudo, foram avaliadas 6805 amostras, sem duplicação, no IAL - CLR X - SJRP, destas, 624 amostras apresentavam anti-HBc reagente, sendo a prevalência de anti-HBc isolado 17,63% (110/624). No AMHV foram analisados 940 pacientes com anti-HBc total isolado destes 816 (86,81%) foram vacinados e depois de aplicado o critério de desconsiderar os pacientes vacinados que não tiveram o anti-HBs avaliado após a vacinação (85 - 10,42%), 731 (89,58%) pacientes foram considerados para análise da resposta vacinal, sendo que 568 (77,70%) apresentaram soroconversão com anti-HBs positivo e 163 (22,30%) pacientes não soroconverteram. A pesquisa do HBV-DNA foi realizada em 25,77% (42/163) dos pacientes sem resposta vacinal, encontrando uma prevalência de hepatite B oculta (IOB) de 47,62% (20/42). A presença de anticorpos contra HIV e HCV foi de 25,40%, 13,25% nas amostras do IAL - CLR X - SJRP e no AMHV foi de 1,80%, 0,33%, respectivamente. **Conclusão:** Os resultados obtidos demonstram a ocorrência de anti-HBc isolado nas amostras do IAL - CLR X - SJRP e a necessidade de acompanhamento dessa população. No AMHV a vacinação esclareceu a maioria dos casos, o que demonstra a necessidade da introdução da vacina como rotina em pacientes anti-HBc isolado na população geral. A hepatite B oculta foi encontrada em quase metade dos pacientes não respondedores vacinais avaliados.

Palavras chave: Hepatite B; Vírus da Hepatite B; Hepatite B Crônica

ABSTRACT

Introduction: The presence of anti-HBc alone can have several meanings: false positive, healing immune window, delayed immunity or occult hepatitis B virus infection (OBI). In clinical practice, it is important and necessary to clarify the diagnosis to prevent transmission to the risk population such as hemodialysis patients, blood donors, transplant recipients and co-infected individuals with HIV and/or HCV. **Objectives:** The aim of the study was to determine the prevalence of anti-HBc alone and occult hepatitis B, respectively, in blood samples from Adolfo Lutz Institute - Regional Laboratory Center X - São José do Rio Preto (IAL - CLR X - SJRP) and patients from Municipal Ambulatory of Viral Hepatitis (AMHV) both from São José do Rio Preto city in the period from January 1st, 2009 to December 31st, 2014. **Methods:** The study population of IAL - CLR X - SJRP is from the region served by the 15th Health Regional Division (DRS), and the AMHV is a population screened for clarification, monitoring and treatment of viral hepatitis in the city. In this population with anti-HBc alone, patients were immunized against hepatitis B and the individuals without vaccine response were selected for the performance of HBV-DNA research for the diagnosis of occult hepatitis B. **Results:** During the study period, 6805 samples were evaluated without duplication in IAL - CLR X - SJRP, of these 624 samples had anti-HBc positive, and the prevalence of anti-HBc alone was 17.63% (110/624). In the AMHV, 940 patients anti-HBc isolated were evaluated, from these 816 (86.81%) were vaccinated and after the criterion of disregarding the vaccinated patients who did not have anti-HBs evaluated after vaccination (85 - 10.42%), 731 (89.58%) patients were considered for analysis of the vaccine response, and 568 (77.70%) presented seroconversion with anti-HBs positive and 163 (22.30%) non-seroconverted patients. The research of HBV-DNA was performed in 25.77% (42/163) patients without a vaccine response, finding a prevalence of occult hepatitis B (OBI) of 47.62% (20/42). The presence of antibodies to HIV and HCV was 25.40% and 13.25% in the blood samples IAL - CLR X - SJRP and in AMHV was 1.80% and 0.33%, respectively. **Conclusion:** The results show the occurrence of anti-HBc alone in IAL - CLR X - SJRP and the need of monitoring this population. In AMHV, the vaccination was effective for most cases, which demonstrates the need of vaccine introduction as a routine in anti- HBc alone patients in the overall population. The occult hepatitis B was found in almost half of patients assessed without vaccine response.

Keywords: Hepatitis B; Hepatitis B virus; Chronic Hepatitis B

INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus da hepatite B é um importante problema de saúde devido a sua elevada endemicidade. A presença do anti-HBc (anticorpos contra o antígeno *core* do vírus B) isolado pode ter vários significados, falso positivo, janela imunológica de cura, imunidade tardia ou Infecção oculta pelo vírus da hepatite B (IOB). Na prática clínica é importante e necessário o esclarecimento diagnóstico da hepatite B para evitar transmissão em populações de risco como hemodialisados, doadores de sangue, transplantados e coinfectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e/ou o vírus da hepatite C (HCV).

1. Histórico

Os Babilônios, há cerca de 2500 anos, já haviam feito referências a surtos epidêmicos de icterícia entre o seu povo. Hipócrates, no século IV a.C., também descreve quadros de icterícia epidêmica, seus escritos revelam historicamente que: a icterícia seria provavelmente de origem infecciosa e que o problema poderia estar no fígado, embora sem qualquer ideia de agente causal ou formas de transmissibilidade. Quadros de icterícia epidêmica ocorreram por séculos e foram marcantes, sobretudo, nos períodos de guerra e catástrofes humanas, particularmente na Idade Média, quando ocorria piora das condições sócio-higiênicas locais. ^(1,2) A primeira associação com transmissão parenteral ocorreu no início do século XX, quando foram introduzidas as vacinas contra febre amarela e injeções para diabetes e sífilis,

logo após foram observados novos surtos de icterícia nesses pacientes.⁽²⁻⁷⁾ Em 1944, Maccallum, na Inglaterra, confirmou a transmissão parenteral em voluntários.^(1,8)

Em 1965, Baruch Blumberg descobriu, no soro de um aborígine australiano, um antígeno que reagia com o soro de dois hemofílicos politransfundidos, o qual foi atribuído o nome de Antígeno Austrália. Porém, a associação deste com o vírus da hepatite B, sugerida por Price, Okochy e Murakami, foi confirmada somente em 1969, por Krugwai e colaboradores. Em 1970, Dane e colaboradores demonstraram a natureza completa do vírus da hepatite B (HBV). Em 1973 a Organização Mundial da Saúde (OMS) propôs que o termo hepatite por soro homólogo ou sérica fosse substituído por hepatite B.^(1,2,8)

Os relatos sobre a história das hepatites no Brasil, antes do início do século XIX, são escassos, todavia no museu de Porto Velho - Rondônia, hoje desativado, encontrava-se uma urna funerária confeccionada pelos índios Aruak que habitavam esta região no período da descoberta do Brasil, ou seja, há mais de 500 anos atrás. A urna funerária de barro cozido representava um nativo pertencente à família Aruak e revela do ponto de vista médico alguns sinais e estigmas de cirrose hepática, tais como: ascite, umbigo protuso pelo aumento do volume abdominal (hérnia umbilical), ginecomastia e aranhas vasculares. Seria este um dos primeiros registros antropológicos sobre a doença cirrose hepática, de provável etiologia viral, no Brasil.⁽²⁾

2. A Doença

Hepatite é um termo genérico que significa inflamação do fígado. Pode ser causada por medicamentos, doenças autoimunes, metabólicas e genéticas, álcool, substâncias tóxicas e vírus. O termo hepatite viral é empregado para definir as infecções causadas por vírus com tropismo primário pelo tecido hepático, denominados com as letras do alfabeto, A, B, C, D, E, F, G. ⁽⁹⁻¹⁴⁾

Os quadros clínicos agudos das hepatites virais são muito diversificados variando desde formas subclínicas ou oligossintomáticas até formas de insuficiência hepática aguda grave. A maioria das hepatites virais agudas é assintomática, independentemente do tipo de vírus. Quando apresenta sintomas cursa com predominância de fadiga, mal-estar, náuseas, dor abdominal, anorexia, fraqueza muscular e icterícia. ^(10,11,15)

As hepatites virais têm grande importância para a saúde pública e para o indivíduo, pelo número de indivíduos atingidos e pela possibilidade de complicações das formas agudas e crônicas. A distribuição das hepatites virais é universal, sendo que a magnitude dos diferentes tipos varia de região para região. No Brasil, também há grande variação regional na prevalência de cada hepatite. ^(10,12,16,17)

Não existem manifestações clínicas ou padrões de evolução característicos dos diferentes agentes. O diagnóstico etiológico só é possível por meio de exames sorológicos e/ou de biologia molecular. ^(8-10,13)

O diagnóstico preciso e precoce permite um tratamento adequado e impacta diretamente a qualidade de vida do indivíduo, sendo ainda um

poderoso instrumento de prevenção de complicações mais frequentes como cirrose avançada e câncer hepático. ⁽¹²⁾

As hepatites virais são doenças de notificação compulsória regular (em até sete dias). Portanto, todos os casos confirmados e surtos devem ser notificados e registrados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), utilizando-se a Ficha de Investigação das Hepatites Virais. As fichas devem ser encaminhadas ao nível hierarquicamente superior ou ao órgão responsável pela vigilância epidemiológica - municipal, regional, estadual ou federal. ^(11,12,17)

A hepatite B continua sendo um grande problema de saúde pública no mundo. É uma das dez principais causas de óbito, responsável por cerca de 1 milhão de óbitos anualmente. ⁽⁸⁾ Estima-se que aproximadamente 1/3 da população mundial já teve contato com o vírus da hepatite B (HBV, do inglês *hepatitis B virus*) e que cerca de 350 milhões de pessoas apresentam infecção ativa, portadoras do antígeno de superfície do vírus (HBsAg). ^(15,18-20) É considerada a causa mais comum de doença hepática crônica nos países desenvolvidos. ^(18,20,21)

O vírus da hepatite B é conhecido por ser altamente infeccioso e está relacionado com morbidade a longo prazo e mortalidade por complicações como cirrose e carcinoma hepatocelular (CHC), sendo estas patologias encontrados em 25 a 40% dos pacientes com infecção crônica pelo vírus da hepatite B. A hepatite B serve também como porta de entrada para outras patologias como a infecção pelo vírus da hepatite Delta. ^(17,18,20,21)

No Brasil a distribuição do vírus da hepatite B é heterogênea. Considera-se de baixa endemicidade (abaixo de 2%) a região sul do país. Endemicidade intermediária (2% a 7%) as regiões nordeste, centro-oeste e sudeste e alta endemicidade, com prevalência superior a 7%, presentes na região Amazônica, oeste dos estados do Paraná e de Santa Catarina e alguns locais do Espírito Santo. Sendo a taxa de mortalidade, no Brasil, por hepatite B de 0,6 por 100 000 habitantes. ^(8,16,22,23)

3. Epidemiologia

A transmissão do vírus da hepatite B (HBV) se faz através dos fluidos corpóreos ou do sangue, estando comprovada a transmissão pelas exposições perinatais (transplacentária, durante o parto ou amamentação), pelas relações sexuais (ITS: infecções sexualmente transmissíveis), pelas exposições a sangue e hemoderivados, por transplante de órgãos ou tecidos, através de seringas compartilhadas pelos usuários de drogas endovenosas, por lesões de pele, por picadas de agulhas ou por meio de outras exposições de origens ainda desconhecidas. ^(9,18-20,23-26)

No Brasil, para evitar a transmissão do HBV em transfusões sanguíneas, adota-se, desde 1989, a pesquisa do HBsAg nos pré-doadores de sangue. E, desde 1993, também a pesquisa do anti-HBc total (anticorpos totais contra o antígeno *core* do vírus B), aumentando, assim, a sensibilidade da triagem. ⁽⁹⁾ Com a triagem sorológica para o HBV nos serviços hemoterápicos, diminuíram, substancialmente, os casos de infecção pelo HBV transmitidas por sangue e

hemoderivados, tendo por outro lado, aumentado substancialmente entre usuários de drogas injetáveis que compartilham seringas ou agulhas. ^(9,23)

Apesar da vacina contra o vírus da hepatite B ser extremamente eficaz, a doença continua sendo um dos maiores problemas de saúde pública em todo o mundo. O vírus da hepatite B determina uma ampla variedade de apresentações clínicas, de portador assintomático a manifestações graves como hepatite fulminante, hepatite crônica, cirrose e carcinoma hepatocelular (CHC). É uma importante causa de morte em todo mundo, relacionada principalmente com o desenvolvimento de cirrose e hepatocarcinoma, sendo considerada a principal causa isolada para o desenvolvimento dessas complicações. ^(8,9,15,18-22,25-28)

De maneira semelhante às outras hepatites, as infecções causadas pelo HBV são habitualmente anictéricas. Apenas 30% dos indivíduos apresentam a forma icterícia da doença, reconhecida clinicamente. Aproximadamente 5% a 10% dos indivíduos adultos infectados cronificam. Caso a infecção ocorra por transmissão vertical, o risco de cronificação dos recém-nascidos de gestantes com evidências de replicação viral (Antígeno “e” do vírus B [HBeAg] reagente e/ou DNA do vírus da hepatite B [HBV-DNA] $> 10^4$ cópias/ml) é de cerca de 70 a 90%, e entre 10 a 40% nos casos sem evidências de replicação do vírus. Cerca de 70 a 90% das infecções ocorridas em menores de 5 anos cronificam e 20 a 25% dos casos crônicos com evidências de replicação viral evoluem para doença hepática avançada (cirrose e hepatocarcinoma). ^(10,23)

A prevalência de infecção crônica pelo vírus da hepatite B varia consideravelmente entre as várias populações. A hepatite B é altamente

endêmica em regiões em desenvolvimento com grande população, sendo que nestas áreas, a maior parte das infecções ocorre na infância e na maioria das vezes, é assintomática, portanto nestas regiões não há grande evidência de infecção aguda, mas há altas taxas de doença crônica hepática e câncer de fígado. Em áreas de endemicidade moderada, é comum a doença na forma aguda, porque muitas infecções ocorrem em adolescentes e adultos, entretanto taxas de infecção crônica são mantidas, frequentemente, por infecções adquiridas na infância. A endemicidade do HBV é baixa em áreas mais desenvolvidas, onde somente, 0,5-2% da população são portadores crônicos. Nestas áreas, a infecção ocorre usualmente em adolescentes e adultos jovens e o grupo de risco é bem definido incluindo usuários de drogas injetáveis, homossexuais masculinos, trabalhadores da saúde, pacientes que necessitam de transfusão de sangue regularmente ou hemodialisados. ^(8,19,23,26)

4. O Vírus da Hepatite B (HBV)

O HBV produz 2 tipos de partículas virais: as partículas incompletas esféricas e filamentosas, não infecciosas de 22 nm de diâmetro, constituídas apenas pelo envelope viral e as partículas virais infecciosas como descritas por DANE et al. em 1970, esféricas, de 42 nm de diâmetro e constituem o virion completo. Essas partículas do HBV são constituídas por um envoltório lipídico que contém o antígeno de superfície do HBV (HBsAg) e uma estrutura central densa (core), constituído por um envoltório protéico (nucleocapsídeo). Esta estrutura central possui ainda uma proteína (HBcAg: antígeno core do vírus B),

que induz a formação de anticorpos (anti-HBc) pelos indivíduos infectados. Este antígeno não é secretado, daí a dificuldade de ser detectado no sangue circulante diferentemente do que ocorre no fígado doente, onde é abundante. Na zona central da partícula de Dane encontra-se ainda o ácido nucléico viral (DNA viral). No genoma ainda se encontram enzimas como a DNA-polimerase e a fosfoquinase. (Figura 1). ^(8,23,29,30)

Na parte central do vírus encontra-se também outro antígeno, o antígeno “e” do vírus B (HBeAg), que é associado à replicação viral e à infectividade induzindo a formação do anticorpo (anti-HBe), normalmente relacionado com a parada da replicação viral. Este antígeno que é secretado pode ser facilmente detectado no sangue de indivíduos infectados. ⁽²³⁾

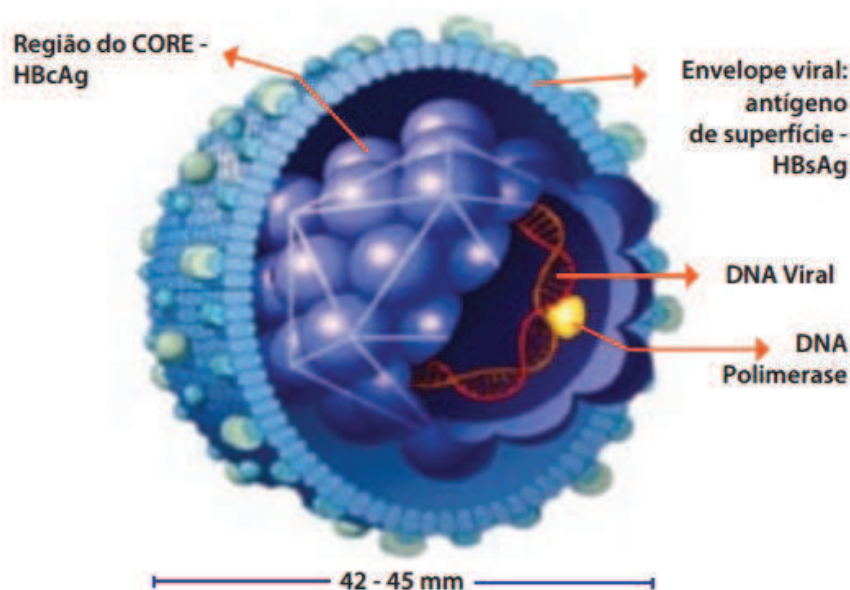


Figura 1. Estrutura da partícula do vírus da hepatite B (HBV). CORE: Componente central; DNA: Ácido desoxirribonucleico; HBcAg: antígeno *core* do vírus B; HBsAg: antígeno de superfície do vírus B.

Fonte: ABCDE do diagnóstico para as hepatites virais, Ministério da Saúde, 2009. ⁽¹¹⁾

5. Genoma

O genoma do HBV é o menor dos genomas de ácido desoxirribonucléico (DNA) conhecido entre os vírus animais, com apenas 3200 pares de base de comprimento e organização genômica compacta, é único na virologia por possuir moldes de leitura sobrepostos e por ser dependente da transcrição reversa. ^(8,19,24)

É composto por uma molécula de DNA circular de fita parcialmente dupla pertencente à família Hepadnaviridae (vírus hepatotrópico de DNA). O genoma viral possui quatro fases abertas de leitura (ORFs) para a produção das proteínas virais: capsídeo, envelope, DNA polimerase e proteína regulatória X (Figura 2). A tradução do produto da ORF que codifica a proteína de envelope pode produzir as três formas dessa proteína: pequena (pré-S1), média (pré-S2) e grande (S). As três formas da proteína de envelope do vírus da hepatite B dão origem ao antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg). A ORF da proteína de capsídeo codifica o antígeno do core (HBcAg) e o antígeno “e” (HBeAg) que é associado à replicação viral e à infectividade induzindo a formação do anticorpo (anti-HBe), normalmente relacionado com a parada da replicação viral. Este antígeno que é secretado pode ser facilmente detectado no sangue de indivíduos infectados. A ORF P codifica a Polimerase viral que possui atividade de transcriptase reversa e a ORF X produz o antígeno x (HBxAg). ^(8,12,31,32) A proteína da região de X é necessária para a replicação e

transcrição dos genes virais e tem um papel fundamental no desenvolvimento do carcinoma hepatocelular (CHC).^(12,20)

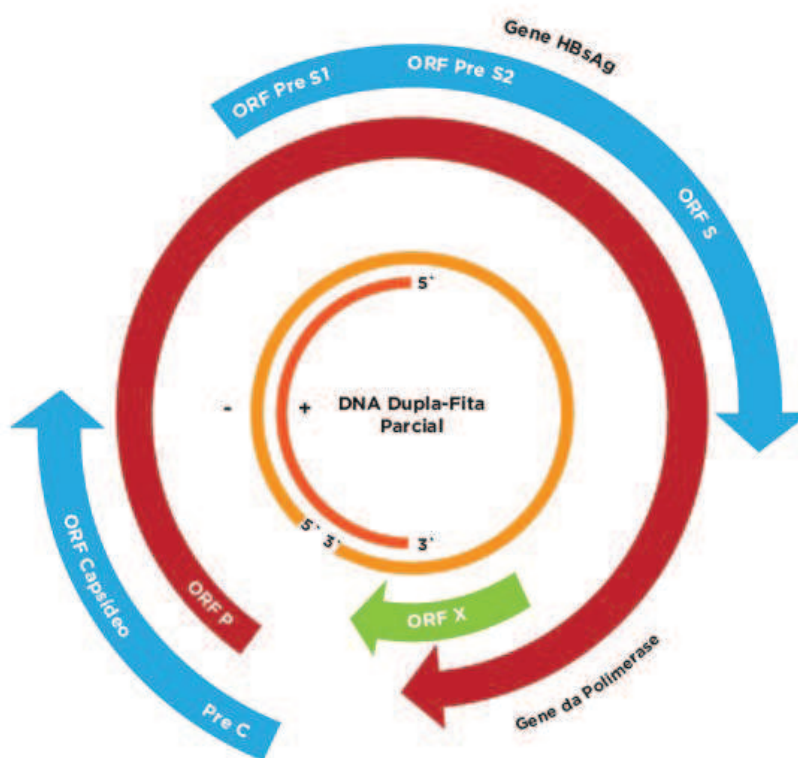


Figura 2. Representação esquemática da organização genômica do vírus da hepatite B (HBV) mostrando as fases abertas de leitura (ORF) existentes. DNA: ácido desoxirribonucléico; ORF: fase de leitura aberta (do inglês open reading frame); HBsAg: antígeno de superfície do vírus B.

Fonte: Manual Técnico, Ministério da Saúde, 2015.⁽¹²⁾

Embora seja um vírus DNA ele codifica uma transcriptase reversa e replica-se através de um RNA intermediário. O HBV inicia sua replicação dentro do hepatócito três dias após sua introdução no organismo. Sua ligação aos hepatócitos é feita provavelmente pelos antígenos correspondentes a

regiões do genoma viral existentes no envelope que são o pré-S1, que se ligaria a um receptor IgA na superfície do hepatócito e o pré-S2, que faria ponte com a albumina sérica. Com a penetração no hepatócito e após perder o envelope, o genoma viral é transportado ao núcleo, onde por ação da DNA polimerase, o filamento de DNA parcial é completado para formar um círculo completo, convertido assim em fita dupla completa covalentemente fechada circular (cccDNA). A RNA Polimerase II transcreve o genoma do HBV a partir da forma cccDNA, produzindo o RNA pré-genoma, o qual é usado como molde para a transcrição reversa, resultando na formação do DNA viral. Este capsídeo será envolvido pelo envelope externo e o virion é liberado a partir do hepatócito por exocitose e não por lise celular. ^(8,20,32)

O vírus da hepatite B não é um vírus diretamente citopático. A evolução da doença dependerá da resposta imune do hospedeiro, pois tanto o componente celular quanto o humoral são necessários para a eliminação do vírus, principalmente, a ação de linfócitos T citotóxicos (CD8+) dirigidos contra antígenos do core viral. ^(8,15,33,34)

6. Marcadores Virais

Os marcadores virais para a hepatite B estão relacionados à complexidade da estrutura viral. O vírus possui um antígeno de superfície e um componente central chamado de *core* que apresentam propriedades antigênicas induzindo, desta maneira, a produção de anticorpos específicos. São eles, respectivamente: o HBsAg e o anti-HBc. ⁽³⁵⁾

Os marcadores rotineiramente utilizados para o diagnóstico da hepatite B aguda e crônica através das técnicas sorológicas estão descritos a seguir:

- **HBsAg (Antígeno de superfície do vírus B):** sua presença indica infecção em curso, sendo encontrado tanto na forma aguda quanto na crônica. É o primeiro marcador a aparecer, podendo ser detectado 1 a 2 semanas após a exposição ao vírus. Na infecção aguda autolimitada, desaparece na fase de convalescença, 2 a 4 meses após seu surgimento. A persistência do HBsAg por mais de 24 semanas é indicativa de hepatite crônica. ^(10,11,16,36)
- **Anti-HBc total (Anticorpos totais contra o antígeno core do vírus B):** é o melhor marcador de exposição ao vírus B. Está presente na infecção aguda, na infecção crônica e em pacientes que se recuperaram totalmente da doença, indicando contato prévio com o vírus e é o único marcador presente na hepatite B oculta. É utilizado na triagem para a hepatite B por detectar a presença de anticorpos tanto da classe IgM quanto da classe IgG. Por isso, diante do Anti-HBc total reagente, é importante definir se esse resultado é devido aos altos títulos de IgG (imunidade por infecção passada) ou aos altos títulos de IgM (fase aguda). ^(10,11,16,36)
- **Anti-HBcIgM (Anticorpo IgM contra o antígeno core do vírus B):** sua presença indica infecção aguda, sendo o primeiro anticorpo detectável. É encontrado no soro até 32 semanas após a infecção. O anti-HBcIgM e o anti-HBc total podem ser os únicos marcadores detectados em pacientes com hepatite aguda fulminante e no período entre o desaparecimento do HBsAg e o aparecimento do anti-HBs. Podendo estar presente na fase crônica quando ocorrer reagudização da infecção. ^(10,11,16,36)

- **Anti-HBcIgG (Anticorpo IgG contra o antígeno core do vírus B):** é o marcador de infecção passada que caracteriza o contato prévio com o vírus, permanecendo por toda a vida nos indivíduos que tiveram infecção pelo vírus da hepatite B. ^(10,11,16,36)
- **HBeAg (Antígeno “e” do vírus B):** é um marcador de replicação viral, sendo sua positividade indicativa de alta infecciosidade. Na infecção aguda autolimitada, desaparece em cerca de 2 a 6 semanas. Sua persistência após 8 a 10 semanas sugere fortemente a possibilidade de evolução para a forma crônica. Na infecção crônica, está presente enquanto houver alta replicação viral, a não ser em casos em que uma mutação impede a produção do HBeAg. ^(10,11,16,36)
- **Anti-HBe (Anticorpo contra o antígeno “e” do vírus B):** geralmente, é detectado após o desaparecimento do HBeAg, sugerindo redução ou ausência de replicação viral, exceto nas cepas com mutação pré *core* (não produtoras da proteína “e”). Persiste detectável por 1 a 2 anos. Alguns indivíduos não desenvolvem níveis detectáveis de anti-HBe. ^(10,11,16,36)
- **Anti-HBs (Anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus B):** é um anticorpo protetor, neutralizante. Está presente, geralmente, após o desaparecimento do HBsAg, indicando resolução da infecção e imunidade. É encontrado isoladamente em pessoas vacinadas. Cerca de 5 a 15% dos pacientes que se recuperaram clínica e laboratorialmente da doença não apresentam anti-HBs detectável. ^(10,11,16,36)

7. Diagnóstico da Hepatite B

Durante as últimas décadas, estudos clínicos e experimentais desenvolvidos em todo mundo expandiram os conhecimentos sobre a hepatite B em seus diferentes aspectos e, hoje, dispõem-se de sofisticadas técnicas para o seu diagnóstico e de drogas sabidamente eficazes para o seu tratamento. ^(27,37,38)

O diagnóstico de qualquer das formas clínicas da hepatite B se dá pela detecção de níveis circulantes de antígenos e anticorpos do vírus B através de técnicas sorológicas. Tais técnicas revelam-se fundamentais não apenas para o diagnóstico, mas mostram-se também muito úteis no seguimento da infecção viral, na avaliação do estado clínico do paciente e na monitorização da terapêutica específica. ⁽²⁷⁾

Ocorrendo a infecção, a presença dos diversos antígenos e, posteriormente, dos seus anticorpos será detectada no soro, plasma ou sangue de pacientes infectados por meio de imunoenaios, ao longo do tempo, numa sucessão de curvas de positividade. A análise dessas curvas permitirá estabelecer a tendência à cura ou a progressão para a cronicidade. ^(12,35)

A sorologia da hepatite B consiste de um grande número de testes, tornando o diagnóstico desafiador. Testes sorológicos para HBV incluem o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e seu anticorpo (anti-HBs), antígeno relacionado com o núcleo e seu anticorpo (Anti-HBc), antígeno do envelope (HBeAg) e seu anticorpo (anti-HBe). ^(39,40) O HBsAg também pode ser

detectado por meio de testes rápidos (TR), que usam a tecnologia de imunocromatografia de fluxo lateral. ⁽¹²⁾

Além dos imunoenaios laboratoriais e dos TR, os testes moleculares oferecem uma alternativa para a detecção cada vez mais precoce da infecção pelo HBV. Esses ensaios também servem para a confirmação de casos de hepatite B em que o HBsAg não é detectado, como, por exemplo, nos casos de infecção oculta pelo HBV, onde o ácido nucleico viral pode ser detectado por meio de ensaios de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real. ⁽¹²⁾

O curso natural da infecção por HBV envolve várias etapas, cada qual com seu próprio padrão característico de marcadores sorológicos (Quadro 1). Se uma pessoa nunca foi infectada, todos os marcadores são negativos. Se uma pessoa tiver sido vacinada, anti-HBs (sem anti-HBc) estará presente, indicando a imunidade. HBsAg positivo normalmente indica uma infecção aguda (embora HBsAg pode ser transitoriamente positivo após a vacinação). Em uma infecção típica, HBsAg permanece positivo assim como o anti-HBc torna-se positivo. À medida que a resposta imune progride, HBsAg geralmente torna-se negativo, enquanto anti-HBc permanece positivo. Finalmente, anti-HBs torna-se positivo o qual, juntamente com um anti-HBc positivo, indica recuperação e imunidade. Quando um paciente desenvolve uma infecção crônica, HBsAg permanece positivo e anti-HBc também está presente. Porém, mesmo quando os testes são solicitados corretamente, incluindo HBsAg (com ou sem anti-HBc), corre-se o risco de não se identificar a Infecção oculta pelo vírus da hepatite B (IOB) mais amplamente definida como a presença de DNA de HBV na ausência de HBsAg. ⁽³⁹⁻⁴⁴⁾

Quadro 1. Interpretação dos resultados dos testes sorológicos da hepatite B.

HBsAg	Anti-HBc	Anti-HBs	HBV DNA	Interpretação
Negativo	Negativo	Negativo	Não considerado	Nunca Infectado
Negativo	Negativo	Positivo	Não considerado	Imunidade Vacinal
Positivo	Positivo	Negativo	Não considerado	Infecção Ativa
Negativo	Positivo	Positivo	Não considerado	Imunidade Infecção Natural
Positivo	Positivo	Negativo	Não considerado	Infecção Crônica
Negativo	Positivo	Negativo	Não considerado	1. Infecção Resolvida (mais comum)
			Não considerado	2. Anti-HBc falso-positivo
			Não considerado	3. Infecção Crônica (baixos níveis)
			Não considerado	4. Resolução Infecção Aguda
Negativo	Positivo/Negativo	Positivo/Negativo	Positivo	Infecção Oculta

Anti-HBc: Anticorpo contra o antígeno core do vírus B; Anti-HBs: anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus B; DNA: Ácido desoxirribonucléico; HBsAg: antígeno de superfície do vírus B; HBV-DNA: DNA do vírus da hepatite B.

Fonte: Adaptada de Mortensen et al.,2016. ⁽³⁹⁾

O período de desaparecimento de HBsAg e aparecimento de anti-HBs é de difícil interpretação. HBsAg negativo com anti-HBc positivo e anti-HBs negativo geralmente indica infecção passada. No entanto, dependendo da prevalência na população pode ser também um anti-HBc falso-positivo. Quando o HBsAg é negativo com anti-HBc e anti-HBs positivos geralmente indicam compensação viral com imunidade subsequente, porém também pode ser um anti-HBs falso-positivo. ^(39,41)

Nestas situações que aparentemente indicam uma ausência de infecção ativa por HBV, o HBV-DNA foi detectado em aproximadamente 10% dos casos. ^(39,41) Assim, um pequeno, mas significativo número de pacientes infectados com HBV não é identificado pela rotina da triagem sorológica, o que pode levar a sérias conseqüências. ⁽³⁹⁾

As importantes descobertas realizadas nas áreas da virologia e da biologia molecular, nos últimos anos, foram progressivamente sendo incorporados à rotina diária dos laboratórios de patologia clínica, permitindo aos médicos acesso às modernas técnicas capazes de avaliar a carga viral, o índice de replicação do agente infeccioso e a eficácia de novas medicações. ⁽²⁷⁾

Considerando os diferentes prognósticos, as estratégias de tratamento e prevenção da gestão de saúde pública o diagnóstico correto é extremamente importante. No entanto, muitas vezes esse diagnóstico preciso e correto torna-se difícil devido às características clínicas semelhantes dos perfis sorológicos da hepatite B. E embora com todas as descobertas pouco se sabe sobre um ensaio simples para distinguir entre estas condições. ^(21,43,44)

A busca por protocolos que atendam a real necessidade da hepatite B não cessa e o Ministério da Saúde lançou recentemente (dezembro de 2015) a nova edição do Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais, manual este que ao contrário dos anteriores traz um fluxograma para casos suspeitos de infecção oculta pelo vírus da hepatite B (IOB) o que sem dúvida é um avanço. ⁽¹²⁾

8. Anti-HBc Isolado e Hepatite B Oculta

O desenvolvimento da biologia molecular e um melhor conhecimento da variabilidade genética do HBV conduziram a uma revisão dos padrões sorológicos da infecção. O HBsAg era considerado o marcador de infecção ativa, e o anti-HBc só indicaria infecção prévia. Porém, foi demonstrado que

pacientes que receberam transfusão sanguínea positivas para o anti-HBc, sendo negativos para o HBsAg e anti-HBs, resultaram em infecção pelo HBV. Inclusive com experimentos em chimpanzés, após a inoculação de soro HBsAg negativo, porém com DNA do HBV positivo, induziram hepatite aguda. Este fato foi observado também em pacientes com a presença do anti-HBs, sendo negativo o HBsAg. ^(8,15, 27)

Atualmente, classificam-se os estados de persistência viral baseando-se em achados sorológicos: hepatite B crônica, portador inativo e hepatite B oculta. A infecção oculta pelo vírus da hepatite B (IOB) é definida como a detecção do DNA do HBV no soro ou no tecido hepático de pacientes negativos para o HBsAg, geralmente com carga viral em torno de 10^{2-3} cópias/ml no soro. Algumas pesquisas ainda questionam a existência da hepatite B oculta e suas implicações clínicas. Porém, existem evidências científicas que comprovam que a hepatite B oculta é uma entidade clínica genuína. Sua prevalência ainda não é totalmente conhecida, assim como sua fisiopatogenia, porém, é notória sua relação com a hepatite C, CHC e mais recentemente com o HIV. ^(8,15,19,25,27,44,45)

É importante lembrar que a presença do anti-HBc total isolado pode ocorrer em outras situações e não representar hepatite B oculta: falso positivo, possível presença de mutantes de HBsAg e períodos de janela imunológica. A janela precoce é o período que compreende o espaço entre a infecção pelo vírus e o aparecimento do HBsAg no soro do paciente, com a presença simultânea ou não do anti-HBc. Nesse período permanece a replicação viral com detecção do DNA do HBV. A janela tardia, período compreendido entre o

início de soroconversão do HBsAg para anti-HBs, ou seja, após quadro de hepatite aguda, onde desaparece o HBsAg, porém o anti-HBs permanece ainda indetectável. Uma terceira janela imunológica é quando o anti-HBs cai a um nível indetectável, visto em infecções que clarearam o HBsAg a muitos anos atrás. A diferenciação destas apresentações deve ser feita após história clínica completa, seguimento do anti-HBc, anti-HBs e aplicação de testes para detecção do DNA do HBV. ^(8,44,46)

O padrão ouro para o diagnóstico de IOB é a análise de DNA de HBV extraído a partir das amostras de sangue e de fígado. Contudo, são raros os casos em que amostras de fígado estão disponíveis e na maioria das vezes o diagnóstico é feito com base na análise de soro. ⁽¹⁹⁾ Desta forma, o diagnóstico da hepatite B oculta é eminentemente sorológico e a observação unânime e constante em todos os estudos é o baixo nível de DNA do HBV, em torno de 10^{2-3} cópias/ml no soro, comparado com níveis de 10^4 e 10^8 cópias /ml em indivíduos HBsAg positivos/HBeAg negativos (portador assintomático) e HBsAg positivos/HBeAg positivos (hepatite crônica), respectivamente. A frequência de DNA do HBV intrahepática é mais alta do que no soro de pacientes com hepatite B oculta. Este fato pode levar a dificuldade na detecção de DNA do HBV no soro o que pode influenciar na interpretação dos resultados. ^(8,19)

Além disso, destaca as dificuldades encontradas quando comparados os resultados de diferentes técnicas de quantificação do DNA do HBV, dependendo da especificidade, sensibilidade e da tecnologia para a detecção do DNA viral. Recomenda que o diagnóstico de hepatite B oculta seja dado somente quando usado pelo menos dois jogos distintos de *primers* de

diferentes áreas do HBV e testar cada um deles em pelo menos duas experiências ou ensaios independentes. ⁽⁸⁾

A hepatite B oculta, frequentemente é mais observada em pacientes com o anti-HBc total como o único marcador sorológico. Porém, pode ser vista em pacientes só com o anti-HBs ou até mesmo sem que haja nenhum marcador sorológico. Aproximadamente 20% dos pacientes IOB são sorologicamente negativos, enquanto 80% são sorologicamente positivos para um ou mais marcadores de infecção. ^(8,19,47,48)

Há uma ampla gama de implicações clínicas para hepatite B oculta por constituir uma possível fonte de transmissão viral do HBV por transfusões de sangue, transplantes de órgãos e hemodiálise, por estar associada com o risco de reativação da doença durante a imunossupressão, com progressão para a cirrose e/ou CHC e pela baixa resposta a terapia antiviral com interferon. ^(48,49) É descrita em toda a população bem como em grupos distintos, tais como doadores de sangue, transplantados, hemodialisados, usuários de drogas injetáveis e infectados pelo HIV e/ou HCV. ^(19,42,47,49)

Apesar de sua importância clínica potencial, a prevalência da infecção oculta pelo HBV ainda é desconhecida. Estudos demonstram que ela está diretamente associada com a prevalência global da infecção pelo HBV (Isto é, indivíduos de áreas altamente endêmicas para HBV são mais propensos a desenvolver IOB). ^(8,19)

9. Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais

O Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais do Ministério da Saúde elaborou um manual técnico, com o intuito de ampliar as possibilidades de diagnóstico e, em especial, orientar os profissionais de saúde nos passos necessários à realização do diagnóstico das hepatites virais. Visa orientar os profissionais que realizam testes diagnósticos das hepatites virais, sejam laboratoriais ou testes rápidos, quanto à escolha do marcador a ser utilizado ao receber solicitações genéricas, como “sorologia para hepatite” ou afins. ⁽¹²⁾

A publicação restringe-se à indicação de algoritmos (fluxogramas) a ser seguidos para o diagnóstico das infecções causadas pelos vírus das hepatites; assim, não se abordam os aspectos clínicos dessas infecções. São apresentados oito algoritmos que viabilizam a realização do diagnóstico das hepatites virais em diferentes situações e localidades em que a infraestrutura laboratorial está ou não presente, permitindo o atendimento ideal a todos os cidadãos que buscam esse serviço. ⁽¹²⁾

O manual traz 4 fluxogramas para diagnóstico de hepatite B. O fluxograma 2 (Figura 3) emprega um teste rápido capaz de detectar o HBsAg. Pode ser utilizado em gestantes e menores de 18 meses e é indicado para detectar infecção ativa pelo HBV, porém não é capaz de detectar infecções pelo HBV no caso de hepatite B oculta e cepas virais com mutações para HBsAg. ⁽¹²⁾

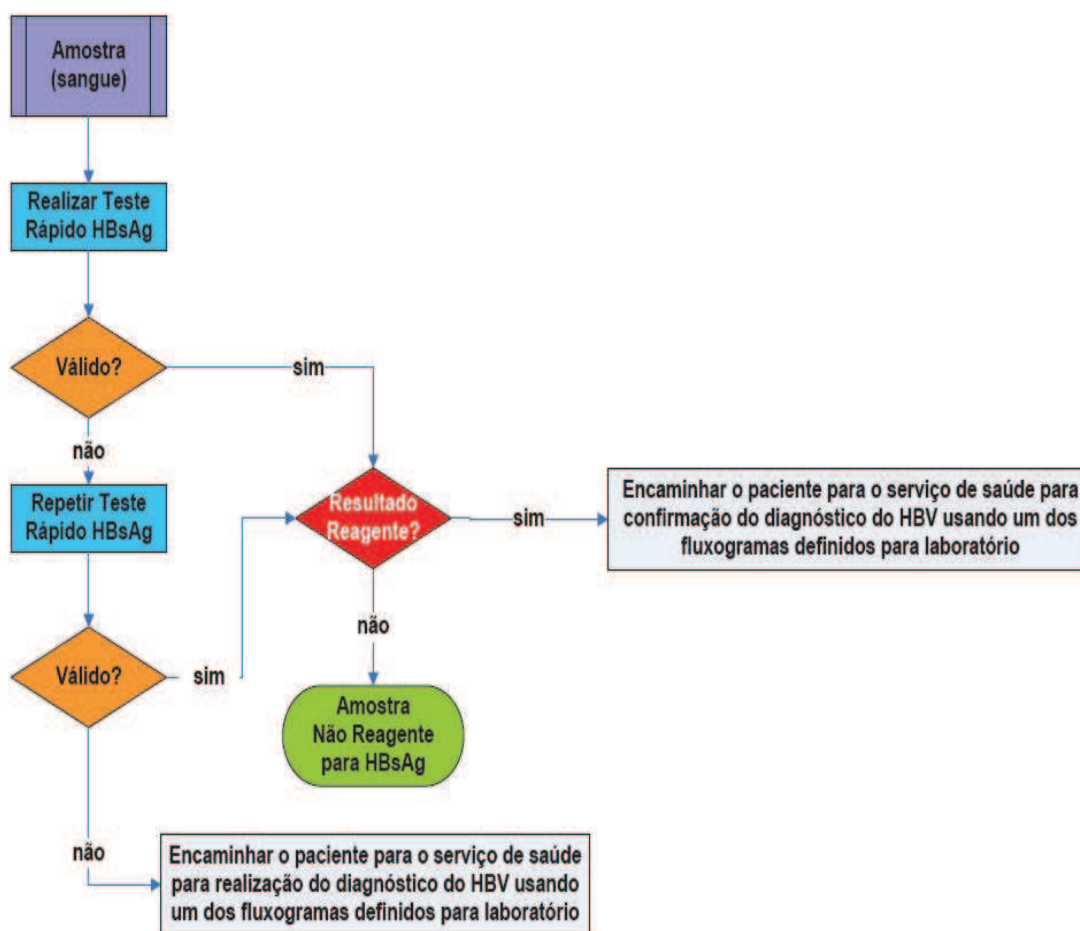


Figura 3. Fluxograma 2 de triagem da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) utilizando testes rápidos (TR). HBsAg: antígeno de superfície do vírus B; HBV: vírus da hepatite B.

Fonte: Manual Técnico, Ministério da Saúde, 2015. ⁽¹²⁾

O fluxograma 3 (Figura 4) se inicia com um imunoenensaio capaz de detectar o HBsAg, como teste de triagem, e um imunoenensaio capaz de detectar anti-HBc total do HBV, como confirmatório, usados sequencialmente. Caso haja discordância entre os resultados, este deve ser confirmado com a realização de um teste de quantificação viral. É capaz de detectar infecção pelo HBV em indivíduos na fase aguda ou crônica da doença, porém não é capaz

de detectar infecções pelo HBV no caso de hepatite B oculta e cepas virais com mutações para HBsAg. ⁽¹²⁾

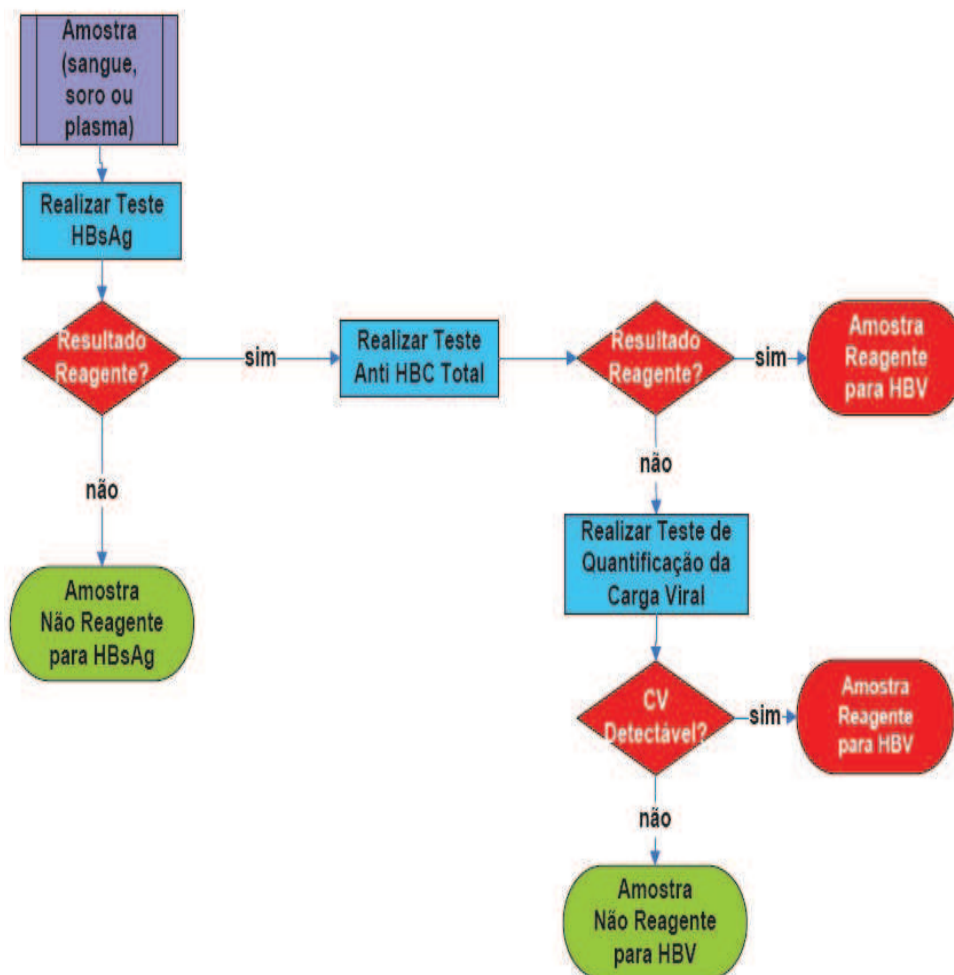


Figura 4. Fluxograma 3 de diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV). Anti-HBc total: anticorpos totais contra o antígeno *core* do vírus B; CV: carga viral; HBsAg: antígeno de superfície do vírus B; HBV: vírus da hepatite B. Fonte: Manual Técnico, Ministério da Saúde, 2015. ⁽¹²⁾

Este Manual contempla diagnóstico para amostra suspeita de hepatite oculta pelo vírus da hepatite B. Segue abaixo fluxograma e indicação de uso.

O Fluxograma 4 (Figura 5) emprega o uso de um teste molecular de alta sensibilidade (com capacidade de detectar pelo menos 100 UI/mL) para a confirmação diagnóstica da infecção oculta pelo HBV (IOB). Deve ser utilizado quando houver uma solicitação para “sorologia da hepatite B oculta”, “diagnóstico de HBV oculto”, “pesquisa para hepatite B oculta” ou termos afins. É indicado para indivíduos com suspeita de infecção pelo HBV, e que não possuem reatividade para testes que detectam o HBsAg. ⁽¹²⁾

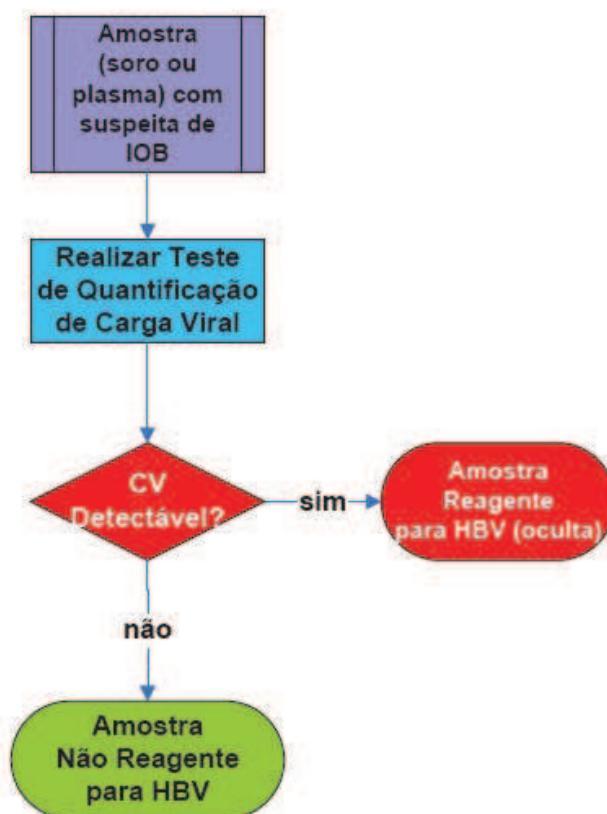


Figura 5. Fluxograma 4 para o diagnóstico da infecção oculta pelo vírus da hepatite B (IOB). CV: carga viral; IOB: Infecção oculta pelo vírus da hepatite B; HBV: Vírus da hepatite B.

Fonte: Manual Técnico, Ministério da Saúde, 2015. ⁽¹²⁾

O fluxograma 5 (Figura 6) emprega um imunoensaio para o HBsAg, cujo resultado positivo é confirmado com uso de um teste de quantificação viral para o diagnóstico da infecção pelo HBV em menores de 18 meses. Indivíduos menores de 18 meses podem ter anticorpos maternos e, por isso, é indicada a detecção direta do DNA do vírus através do diagnóstico molecular. ⁽¹²⁾

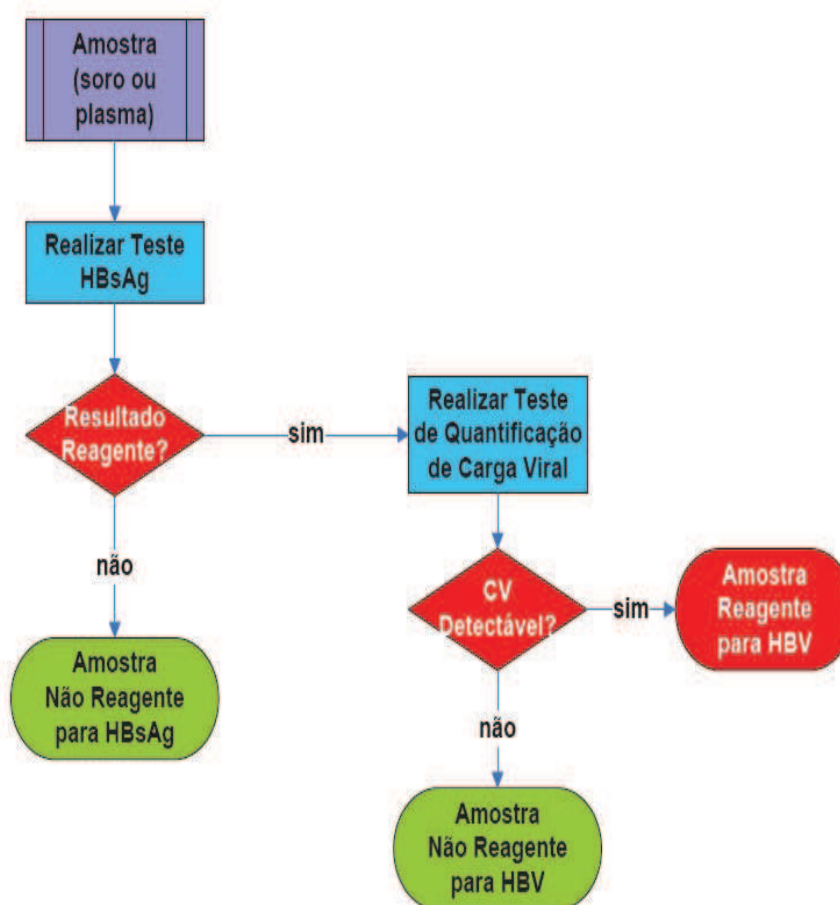


Figura 6. Fluxograma 5 para o diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) em indivíduos menores de 18 meses. CV: carga viral; HBsAg: antígeno de superfície do vírus B; HBV: vírus da hepatite B.

Fonte: Manual Técnico, Ministério da Saúde, 2015. ⁽¹²⁾

10. Imunização

A prevenção da infecção por vacinação é uma estratégia importante para reduzir o risco de infecção crônica por HBV e suas complicações. A primeira geração de vacina contra a hepatite B, uma vacina derivada de plasma humano inativo, foi produzida em 1981 e tornou-se disponível em 1982. Porém, foi somente a partir de 1986, com a produção de uma vacina recombinante, que a vacinação contra a hepatite B foi utilizada em larga escala. ^(26,50-52)

As vacinas recombinantes são desenvolvidas a partir de tecnologia de DNA recombinante, produzida com a inserção do plasmídeo contendo o gene para o HBsAg dentro de uma levedura (*Sacharomices cerevisiae*). As células do levedo produzem o HBsAg que será posteriormente purificado e utilizado na produção de vacinas. ⁽⁵²⁾

A imunização contra a hepatite B é realizada em três doses, com intervalo de um mês entre a primeira e a segunda dose e de seis meses entre a primeira e a terceira dose (0,1 e 6 meses). A vacina para hepatite B deve ser aplicada em deltoide. Deve-se evitar a aplicação na região glútea, por resultar em menor imunogenicidade. A dose da vacina, em micrograma ou mililitros, varia de acordo com o fabricante, devendo-se seguir as orientações da bula e as normas do Programa Nacional de Imunizações (PNI). ⁽¹⁰⁾

Algumas populações como imunocomprometidos, portadores de insuficiência renal em programas de hemodiálise e alguns bebês prematuros, devem fazer uso de esquemas especiais, conforme Manual do CRIE (Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais), 3ª edição, MS, 2006. ^(10,53)

É indicada para pessoas não vacinadas, após exposição ao vírus da hepatite B, nas seguintes situações: prevenção da infecção perinatal pelo vírus da hepatite B; vítimas de acidentes com material biológico positivo ou fortemente suspeito de infecção por HBV, sem vacinação para hepatite B; comunicantes sexuais de casos agudos de hepatite B; vítimas de abuso sexual; imunodeprimido após exposição de risco, mesmo que previamente vacinados. (10,53,54)

Diversos estudos mostram que as vacinas contra hepatite B têm boa imunogenicidade e são eficazes, com proteção em mais de 90% dos adultos jovens saudáveis e em mais de 95% em lactentes, crianças e adolescentes. A eficácia diminui gradativamente após os 40 anos de idade. A obesidade, o estresse, o tabagismo e o etilismo também são fatores associados a uma menor eficácia vacinal. ⁽⁵²⁾

Foi observado que após a implementação de programas de vacinação contra o HBV em crianças e adolescentes a prevalência da infecção e, conseqüentemente, os casos crônicos da doença diminuíram. ^(8,55,56) E estudos sugerem ainda que a imunização contra o HBV mesmo na idade adulta, embora com eficácia diminuída, poderia reduzir o risco de câncer de fígado. (26,55)

Desta forma pode-se concluir que a imunização ativa utilizando as modernas vacinas recombinantes constitui, na atualidade, a arma mais importante no combate a essa virose. ⁽²⁷⁾

Diante do exposto o objetivo do estudo foi utilizar duas populações, Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio

Preto (IAL - CLR X - SJRP) e Ambulatório Municipal de Hepatites Virais (AMHV), com o intuito de determinar a prevalência de anti-HBc isolado e hepatite B oculta, respectivamente, no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014.

OBJETIVOS

1. Primários

- 1.1 Verificar a prevalência de anti-HBc isolado em amostras do Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto (IAL - CLR X - SJRP).
- 1.2 Determinar a prevalência de hepatite B oculta no Ambulatório Municipal de Hepatites Virais (AMHV) nos pacientes sem resposta vacinal.

2. Secundários

- 2.1 Estimar a presença de anticorpos contra HIV e HCV nos pacientes e nas amostras com anti-HBc isolado do AMHV e do IAL - CLR X - SJRP, respectivamente.
- 2.2 Descrever e analisar a resposta vacinal dos pacientes com anti-HBc isolado do AMHV.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

1. Local e População do Estudo

O estudo foi realizado no Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto e no Ambulatório Municipal de Hepatites Virais ambos localizados em São José do Rio Preto.

1.1 Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto

O Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - de São José do Rio Preto é referência para o município e região para agravos da rede de saúde pública, desempenhando importante papel no diagnóstico e acompanhamento desses agravos, atende a 102 municípios pertencentes à Departamento Regional de Saúde XV (DRS XV), além de ser referência para outros estados como: Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul.

Foram avaliadas as amostras encaminhadas pelas instituições de saúde da região para o IAL - CLR X - SJRP, para rotina de hepatite B, no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014 e selecionadas as amostras com sorologia positiva para anti-HBc total e negativas para HBsAg e anti-HBs (anti-HBc isolado). As amostras foram separadas por pacientes.

1.2 Ambulatório Municipal de Hepatites Virais

O Ambulatório Municipal de Hepatites Virais é referência municipal no atendimento de portadores de hepatite virais B e C, possuindo equipe multiprofissional especializada para o diagnóstico e tratamento destas doenças. O serviço também realiza ações de prevenção destes agravos, incluindo a investigação de comunicantes, vacinação de pessoas com maior vulnerabilidade para adquirir o vírus da hepatite B, além de ações de vigilância epidemiológica no controle das hepatites virais.

Foram analisados os prontuários de pacientes encaminhados para o Ambulatório Municipal de Hepatites Virais no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014 com sorologia positiva para anti-HBc total e negativas para HBsAg e anti-HBs (anti-HBc isolado).

Sendo a população do estudo oriunda da demanda espontânea o número de indivíduos avaliados foi dependente do número de pacientes atendidos nas instituições durante o período definido pelo estudo.

2. Tipo de Estudo

Trata-se de estudo retrospectivo descritivo de amostras de pacientes com anti-HBc isolado e pacientes com hepatite B oculta.

3. Definições

3.1 Anti-HBc isolado

Anti-HBc isolado é definido quando este é o único marcador presente e os outros (HBsAg e anti-HBs) são negativos.

3.2 Hepatite B oculta

A hepatite B oculta é definida como a detecção do DNA do HBV no soro ou no tecido hepático de pacientes negativos para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg).

3.3 Soroconversão

Soroconversão é definida como o aparecimento de anti-HBs em indivíduos que foram sabidamente imunizados para hepatite B com anti-HBc isolado.

4. Critérios de Inclusão

4.1 Foi considerado para avaliar a prevalência do anti-HBc isolado e coinfeção no IAL - CLR X - SJRP apenas uma amostra por paciente.

4.2 Para avaliar a prevalência de hepatite B oculta no AMHV foram selecionados pacientes que não soroconverteram após a imunização e avaliado o último resultado dos pacientes que fizeram PCR.

5. Critérios de Exclusão

5.1 No IAL - CLR X - SJRP foram desconsideradas todas as amostras positivas para anti-HBc sem resultado de HBsAg e/ou anti-HBs ou com resultados inconclusivos.

5.2 No AMHV para análise da resposta vacinal foram desconsiderados os pacientes vacinados que não tiveram o anti-HBs avaliado após a vacinação.

5.3 No AMHV foram desconsiderados os PCR dos pacientes que apresentaram posteriormente, soroconversão (anti-HBs positivo) ou HBsAg detectado.

6. Coleta de Dados e Período de Estudo

6.1 População do Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto

O Instituto Adolfo Lutz de São José do Rio Preto recebe amostras de pacientes encaminhadas pelas instituições de saúde de 102 municípios da região pertencentes à DRS XV, além de ser referência para outros estados

como: Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. O protocolo do Instituto para hepatite B requer a realização inicial de exames de HBsAg e anti-HBc total. Quando uma amostra apresenta HBsAg negativo e anti-HBc total positivo realiza-se o exame de anti-HBs (sua presença indica imunidade ou curso para cura) (Figura 7).

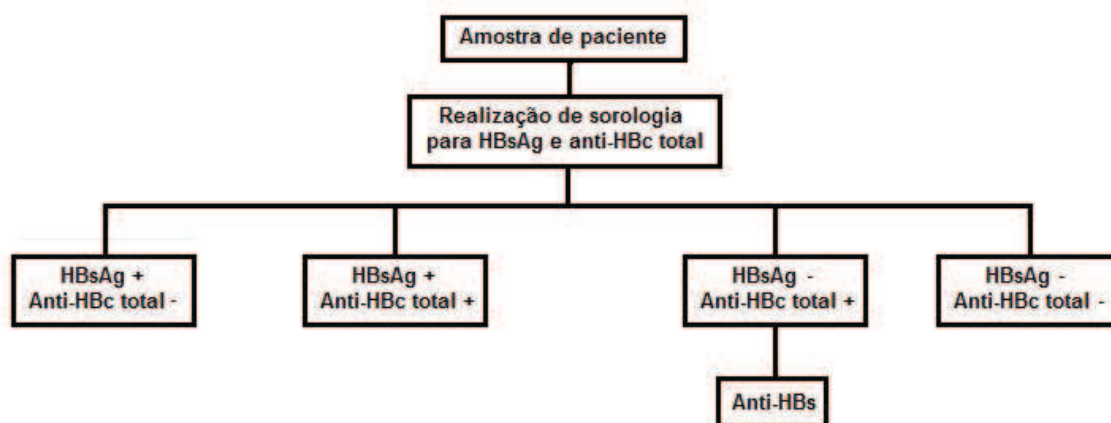


Figura 7. Protocolo do Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto para o diagnóstico sorológico de hepatite B no período de 01 de janeiro a 31 de dezembro de 2014. Anti-HBc total: anticorpos totais contra o antígeno *core* do vírus B; Anti-HBs: anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus B; HBsAg: antígeno de superfície do vírus B.

Foi realizada uma busca no Sistema Integrado de Gestão Hospitalar - SIGH. É um sistema de informação integrado em rede com base centralizada, que permite ao profissional de saúde o acesso ao cadastro do usuário, às informações clínicas e aos procedimentos anteriormente realizados em qualquer unidade da fundação. A busca instantânea das informações agiliza o atendimento aos usuários e, ainda, propicia a racionalização dos custos.

Neste sistema foi pesquisado o resultado de três marcadores virais HBsAg, anti-HBc total e anti-HBs, no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014, essa pesquisa gerou três planilhas de dados no Excel. Esses dados foram cruzados e as amostras positivas apenas para anti-HBc total foram selecionados (anti-HBc isolado). Essas amostras foram separadas por pacientes, o que gerou uma planilha chamada anti-HBc isolado IAL. No mesmo sistema foram pesquisados marcadores e/ou carga viral de hepatite C e HIV e esses dados foram incluídos na planilha (Figura 8).

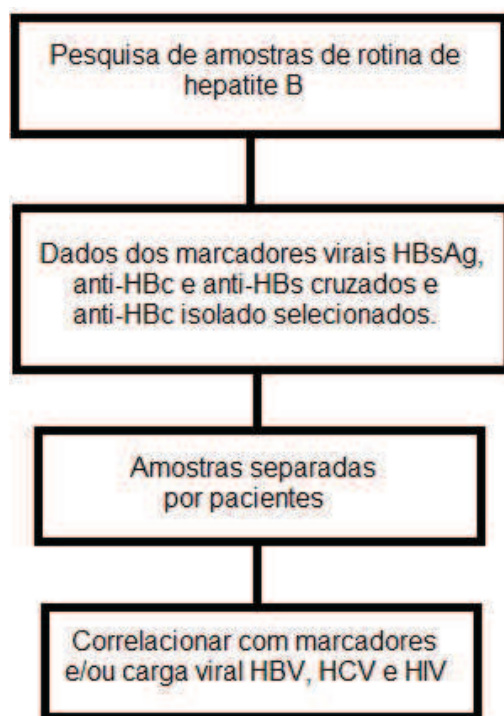


Figura 8. Fluxograma de procedimento de pesquisa de anti-HBc isolado realizada no Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto no período de 01 de janeiro a 31 de dezembro de 2014. Anti-HBc total: anticorpos totais contra o antígeno *core* do vírus B; Anti-HBs: anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus B; HBsAg: antígeno de superfície do vírus B; HBV: vírus da hepatite B; HCV: vírus da hepatite C; HIV: vírus da imunodeficiência humana.

6.2 População do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais

O AMHV recebe pacientes oriundos das Unidades Básica de Saúde (UBSs), Unidades de Pronto Atendimento (UPAs) e hospitais de São José do Rio Preto além de pacientes que buscam o ambulatório para primeiro atendimento. O ambulatório tem como protocolo quando um paciente apresenta resultado anti-HBc isolado a vacinação e acompanhamento do mesmo e de seus comunicantes. Caso não haja soroconversão após a vacinação outros exames podem ser solicitados como anti-HBe, HBeAg, PCR bem como um novo esquema vacinal.

O esquema de vacinação ocorre em 3 doses (0,1 e 6 meses) com a segunda dose um mês e a terceira 6 meses após a primeira. Um mês após cada dose o anti-HBs pode ser solicitado para averiguar a soroconversão. Exames de HIV, HCV e sífilis são rotineiramente solicitados.

Os prontuários dos pacientes com anti-HBc isolado do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais de São José do Rio Preto assistidos no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014 foram avaliados e os seguintes itens pesquisados (Figura 9):

- Vacinação (cópia da carteira de vacinação do paciente presente no prontuário foi avaliada e/ou descrição no prontuário);
- Soroconversão (através da análise de exames de anti-HBs realizados após a vacinação completa ou incompleta e/ou descrição no prontuário);

- Marcadores e/ou carga viral para hepatite B, C e HIV (através de análise de exames e/ou descrição no prontuário).
- Foi verificado se o paciente recebeu alta, abandonou o tratamento ou se continua em acompanhamento.

Todos esses dados foram inseridos em uma planilha do Excel chamada anti-HBc isolado AMHV.

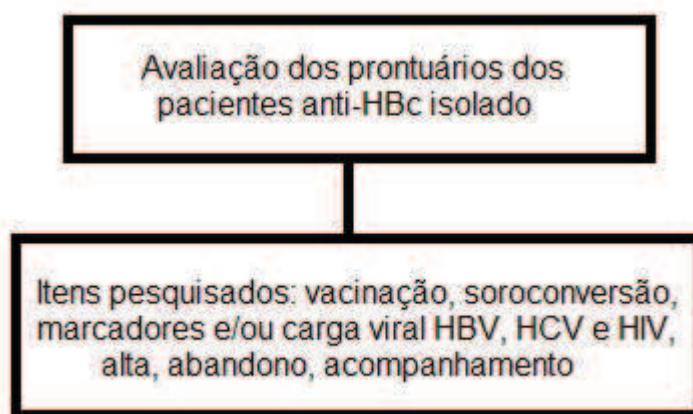


Figura 9. Fluxograma de procedimento de pesquisa de anti-HBc isolado realizada no Ambulatório Municipal de Hepatites Virais no período de 01 de janeiro a 31 de dezembro de 2014. Anti-HBc: anticorpo contra o antígeno *core* do vírus B; HBV: vírus da hepatite B; HCV: vírus da hepatite C; HIV: vírus da imunodeficiência humana.

7. Análise Laboratorial

7.1 Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto

Sorologia

De 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014 foram utilizados no IAL - CLR X - SJRP para análise dos marcadores sorológicos HBsAg, anti-HBc total e anti-HBs o kit semi-automatizado da SIEMENS, ADVIA Centaur CP, e os kits manuais da Biokit e Diasorin.

A interpretação dos resultados das amostras está representada no Quadro 2.

Quadro 2. Interpretação dos resultados dos kits sorológicos ADVIA Centaur CP, Biokit e Diasorin para diagnóstico da hepatite B.

Resultado do Título	Interpretação
Reagente/Positivo	Anticorpo/antígeno pesquisado detectado
Não Reagente/Negativo	Anticorpo/antígeno pesquisado não detectado
Inconclusivo/Equívoco	Não foi possível estabelecer pelo método presença ou ausência do anticorpo/antígeno pesquisado.

Fonte: Adaptada de bulas ADVIA Centaur CP, Biokit, Diasorin e laudos SIGH.

(57-63)

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Quando o AMHV solicita quantificação viral por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para seus pacientes essas amostras são encaminhadas para o IAL - CLR X - SJRP por ser este o centro de referência para o agravo de hepatites e exames de biologia molecular.

As técnicas utilizadas de janeiro de 2009 a dezembro de 2014 estão descritas a seguir:

- **PCR em Tempo Real - COBAS AmpliPrep/TaqMan HBV Roche**

Valores de referência: Linearidade: 54,5 a 110.000.000 UI/mL.

Realizado no Instituto Adolfo Lutz - Central - São Paulo.

A interpretação dos resultados das amostras está representada no Quadro 3.

Quadro 3. Interpretação dos resultados para Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em Tempo Real - COBAS AmpliPrep/ TaqMan HBV Roche.

Resultado do Título	Interpretação
Não Detectado	DNA do HBV não detectado
< 54,5 UI/mL	DNA do HBV detectado, menor de 54,5 UI/mL de DNA do HBV
≥ 54,5 UI/mL e ≤ 110.000.000 UI/mL	DNA do HBV detectado
> 110.000.000 IU/mL	DNA do HBV detectado, superior a 110.000.000 UI/mL de DNA do HBV
DNA: Ácido desoxirribonucléico; HBV: vírus da hepatite B; UI/mL: Unidades Internacionais por mililitro.	

Fonte: Adaptada de laudo SIGH.

- **PCR - COBAS Amplicor HBV Monitor - Roche**

Valores de referência: Linearidade: 60 UI/mL a 38.000 UI/mL.

Realizado no IAL São José do Rio Preto.

A interpretação dos resultados das amostras está representada no Quadro 4.

Quadro 4. Interpretação dos resultados para Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) - COBAS Amplicor HBV Roche.

Resultado do Título	Interpretação
Não Detectado	DNA do HBV não detectado
< 60,0 UI/mL	DNA do HBV detectado, menor de 60,0 UI/mL de DNA do HBV
≥ 60,0 UI/mL e ≤ 38.000 UI/mL	DNA do HBV detectado
> 38.000 IU/mL	DNA do HBV detectado, superior a 38.000 UI/mL de DNA do HBV
DNA: Ácido desoxirribonucléico; HBV: vírus da hepatite B; UI/mL: Unidades Internacionais por mililitro.	

Fonte: Adaptada de Manual COBAS Amplicor HBV Monitor Test - Roche. ⁽⁶⁴⁾

- **PCR em Tempo Real (Real Time PCR)**

Valores de referência: Linearidade: 15 UI/mL a 6.000.000 UI/mL.

Realizado no laboratório do hospital Israelita Albert Eistein.

A interpretação dos resultados das amostras está representada no Quadro 5.

Quadro 5. Interpretação dos resultados para Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (Real Time PCR).

Resultado do Título	Interpretação
Não Detectado	DNA do HBV não detectado
< 15,0 UI/mL	DNA do HBV detectado, menor de 60,0 UI/mL de DNA do HBV
≥ 15,0 UI/mL e ≤ 6.000.000 UI/mL	DNA do HBV detectado
> 6.000.000 IU/mL	DNA do HBV detectado, superior a 38.000 UI/mL de DNA do HBV
DNA: Ácido desoxirribonucléico; HBV: vírus da hepatite B; UI/mL: Unidades Internacionais por mililitro.	

Fonte: Adaptada do laudo SIGH.

- **PCR em Tempo Real - COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HBV Test, v2.0**

Valores de referência: Linearidade: 20 UI/mL a 170.000.000 UI/mL.

Realizado em IAL São José do Rio Preto.

A interpretação dos resultados das amostras está representada no Quadro 6.

Quadro 6. Interpretação dos resultados para Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em Tempo Real - COBAS AmpliPrep/ COBAS TaqMan HBV Test, v2.0.

Resultado do Título	Interpretação
Não Detectado	DNA do HBV não detectado
< 20,0 UI/mL	DNA do HBV detectado, menor de 60,0 UI/mL de DNA do HBV
≥ 20,0 UI/mL e ≤ 170.000.000 UI/mL	DNA do HBV detectado
> 170.000.000 IU/mL	DNA do HBV detectado, superior a 38.000 UI/mL de DNA do HBV
DNA: Ácido desoxirribonucléico; HBV: vírus da hepatite B; UI/mL: Unidades Internacionais por mililitro.	

Fonte: Adaptada do Manual COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HBV Test, version 2.0. ⁽⁶⁵⁾

- **PCR em Tempo Real**

Valores de referência: Linearidade: 10 UI/mL a 1.000.000.000 UI/mL.

Realizado em IAL São José do Rio Preto.

A interpretação dos resultados das amostras está representada no Quadro 7.

Quadro 7. Interpretação dos resultados para Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em Tempo Real - Abbott.

Resultado do Título	Interpretação
Não Detectado	DNA do HBV não detectado
< 10,0 UI/mL	DNA do HBV detectado, menor de 10,0 UI/mL de DNA do HBV
≥ 10,0 UI/mL e ≤ 1.000.000.000 UI/mL	DNA do HBV detectado
> 1.000.000.000 IU/mL	DNA do HBV detectado, superior a 1.000.000.000 UI/mL de DNA do HBV
DNA: Ácido desoxirribonucléico; HBV: vírus da hepatite B; UI/mL: Unidades Internacionais por mililitro.	

Fonte: Adaptada do Manual Abbott RealTime. ⁽⁶⁶⁾

7.2 Ambulatório Municipal de Hepatites Virais

Sorologia

Os exames sorológicos solicitados pelas UBSs, UPAs e pelo AMHV de São José do Rio Preto são realizados pelo Laboratório Municipal de Sorologia de São José do Rio Preto.

No período do estudo, 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014, foram utilizados pelo Laboratório Municipal de São José do Rio Preto para análise dos marcadores sorológicos HBsAg e anti-HBc total os kits manuais da Diasorin e Biomerieux e para o anti-HBs o kit manual da Diasorin.

A interpretação dos resultados das amostras está representada no Quadro 8.

Quadro 8. Interpretação dos resultados dos kits sorológicos Diasorin e Biomerieux para diagnóstico da hepatite B.

Resultado do Título	Interpretação
Reagente	Anticorpo/antígeno pesquisado detectado
Não Reagente	Anticorpo/antígeno pesquisado não detectado
Inconclusivo	Não foi possível estabelecer pelo método presença ou ausência do anticorpo/antígeno pesquisado

Fonte: Adaptada de bulas Diasorin e Biomerieux. ^(61,62,63,67,68)

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Quando solicitado pelo AMHV à quantificação viral do HBV é realizada no IAL - CLR X - SJRP como descrito acima.

8. Análise de Dados

Os dados foram registrados no programa windows excel 2003 e realizadas as frequências e porcentagens das variáveis.

RESULTADOS

1. Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto

1.1 Prevalência de Anti-HBc isolado

No período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014 foram analisadas 8331 amostras, da rotina de hepatite B, no banco de dados SIGH do IAL - CLR X - SJRP. Depois de aplicado o critério de incluir apenas uma amostra por paciente permaneceram 6805 amostras. Destas, 6175 (90,74%) amostras foram negativas para os dois marcadores inicialmente avaliados na rotina, HBsAg e anti-HBc total. Um total de 630 (9,26%) amostras foi positiva para pelo menos um dos marcadores, sendo que 624 foram positivas para anti-HBc e 6 positivas apenas para HBsAg. Das 624 amostras positivas para anti-HBc, e depois de realizados os exames de HBsAg e anti-HBs segundo o protocolo, 110 amostras tinham o anti-HBc como único marcador (anti-HBc total positivo, HBsAg e anti-HBs negativos), ou seja, entre o grupo de amostras positivas para anti-HBc, a frequência isolada deste marcador foi de 17,63% (Figura 10).

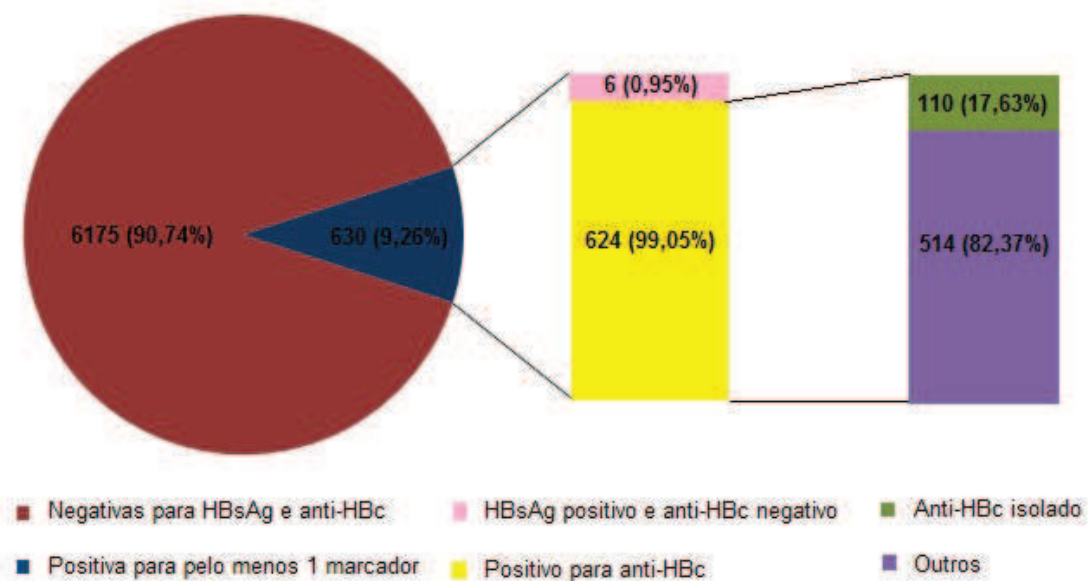


Figura 10. Distribuição dos marcadores de hepatite B nas amostras do Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014. Anti-HBc: anticorpo contra o antígeno *core* do vírus B; HBsAg: Antígeno de superfície do vírus B.

1.2 Presença de anticorpos contra HIV e HCV

Das 110 amostras com anti-HBc isolado, 63 (57,27%) foram testadas para HIV e 83 (75,45%) para HCV. Das 63 amostras testadas para HIV, 16 (25,40%) foram positivas e das testadas para HCV, 11 (13,25%) foram positivas (Figura 11).

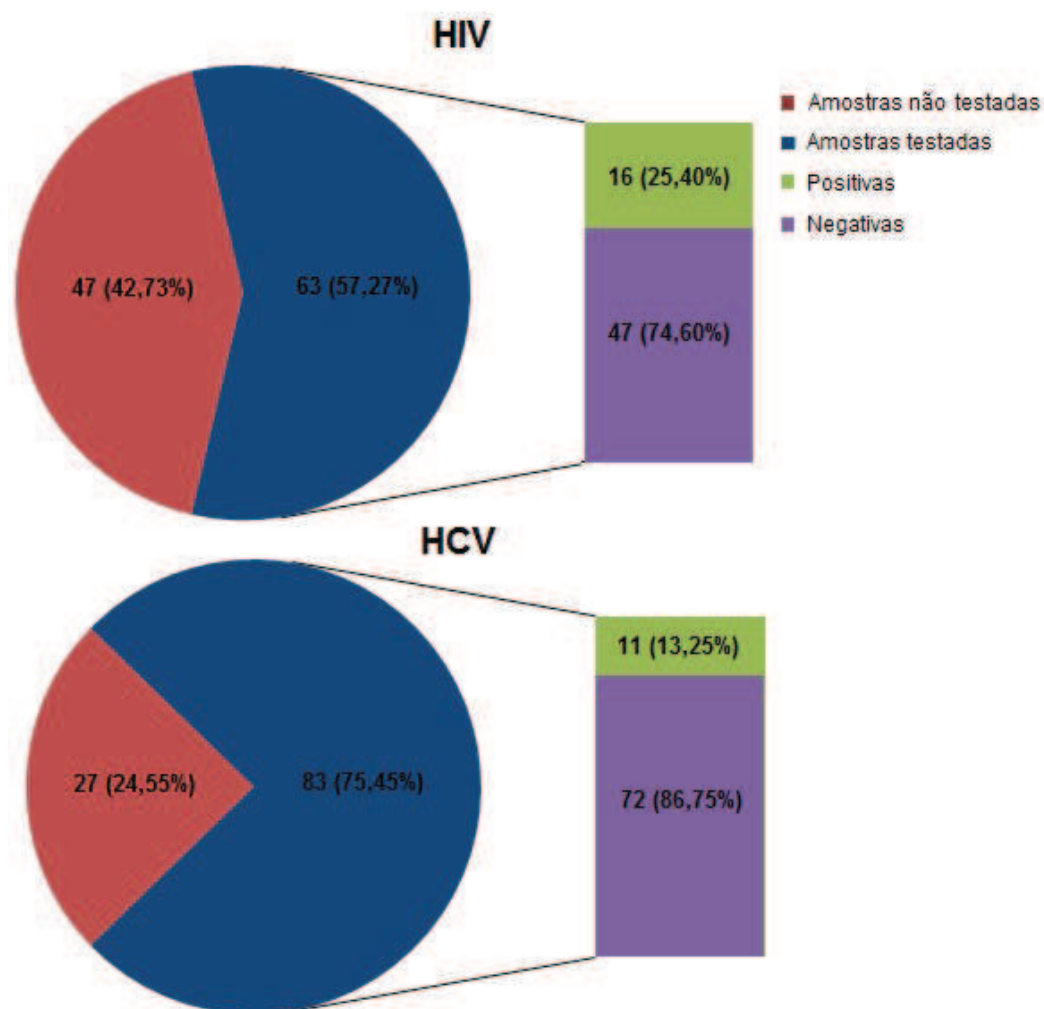


Figura 11. Distribuição de anti-HBc isolado quanto à coinfeção com HIV e HCV nas amostras do Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014. HCV: vírus da hepatite C; HIV: vírus da imunodeficiência humana.

2. Ambulatório Municipal de Hepatites Virais

2.1 Resposta vacinal em pacientes anti-HBc isolado

No período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014 foram analisados 940 pacientes com anti-HBc total isolado atendidos no Ambulatório

Municipal de Hepatites Virais. Do total, 816 (86,81%) pacientes foram vacinados e depois de aplicado o critério de desconsiderar os pacientes vacinados que não tiveram o anti-HBs avaliado após a vacinação (85 - 10,42%), 731 (89,58%) pacientes foram considerados para análise da resposta vacinal, sendo que 568 (77,70%) apresentaram soroconversão com anti-HBs positivo e 163 (22,30%) pacientes não soroconverteram. Observou-se que 54 (43,55%) pacientes soroconverteram sem constatação ou comprovação de vacina (Figura 12).

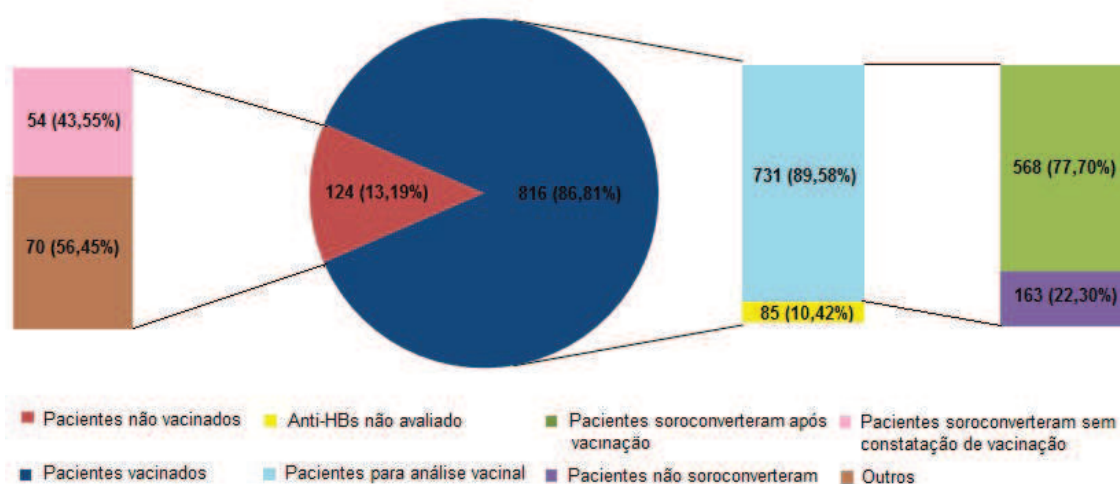


Figura 12. Distribuição da soroconversão em pacientes anti-HBc isolado do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014. Anti-HBs: anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus B.

Dos 568 pacientes que soroconverteram após a vacinação foi observada a seguinte distribuição: 317 (55,81%) soroconverteram após a primeira dose

vacinal, 29 (5,10%) após a segunda dose, 196 (34,51%) após a terceira e 26 (4,58%) após o segundo esquema vacinal (Figura 13).

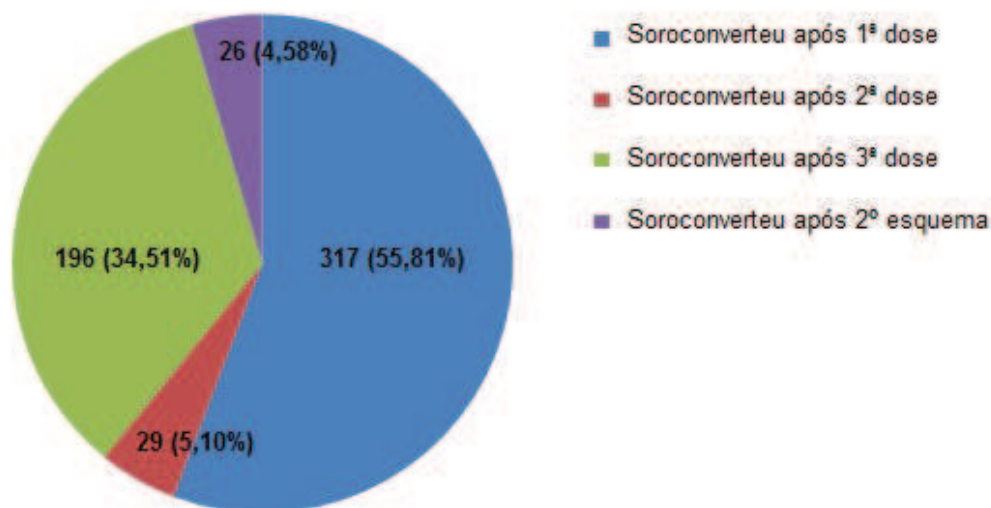


Figura 13. Distribuição da soroconversão quanto ao número de doses recebidas em pacientes anti-HBc isolado do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014.

2.2 Prevalência de hepatite B oculta

Dos 163 pacientes que não soroconverteram após a vacinação, o PCR para detecção de carga viral do vírus do HBV foi realizado em 52 (31,90%). Desses, 9 pacientes foram excluídos por apresentarem soroconversão, e 1 pela detecção de HBsAg, após a análise de PCR. Portanto, depois de aplicados os critérios de exclusão restaram 42 (25,77%) pacientes para análise da prevalência de hepatite B oculta.

Destes pacientes, em 22 (52,38%) a carga viral não foi detectada, e em 20, o vírus foi detectado, revelando uma prevalência em pacientes sem resposta vacinal de 47,62% de hepatite B oculta (Figura 14). Os resultados estão expressos no Quadro 9.

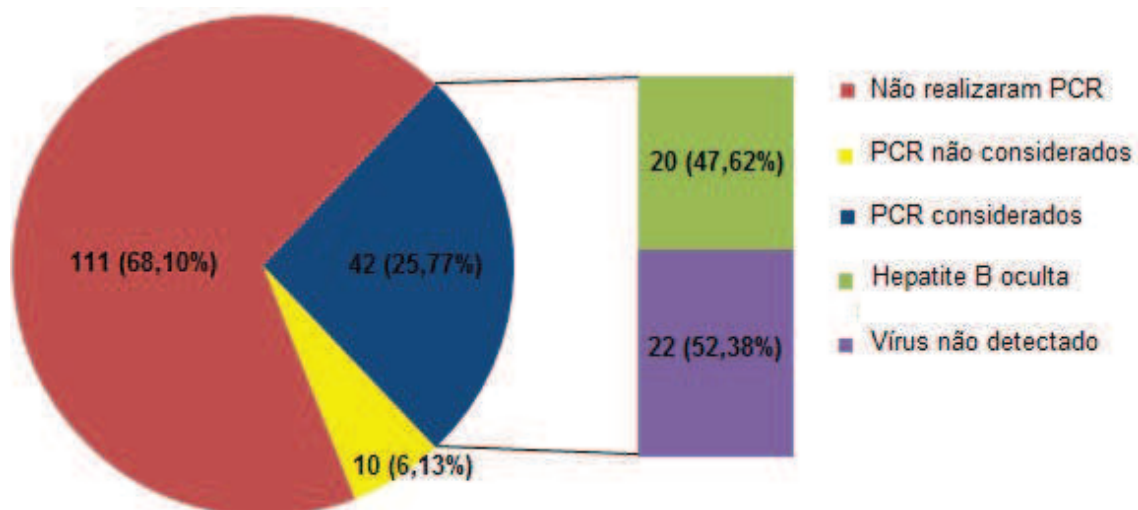


Figura 14. Ocorrência de hepatite B oculta em pacientes anti-HBc isolado sem resposta vacinal do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014. PCR: Reação em Cadeia da Polimerase.

Quadro 9. Resultado da análise de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em pacientes anti-HBc isolado do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais, no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014.

PCR	Detectado Inferior a 10 UI/mL	Detectado Inferior a 15 UI/mL	Detectado Inferior a 20 UI/mL	Detectado Inferior a 54,5 UI/mL	Detectado Inferior a 60 UI/mL	Detectado	Não detectado Inferior a 10 UI/mL
Nº de pacientes	6	2	7	1	2	2	22

PCR: Reação em Cadeia da Polimerase; UI/mL: Unidades Internacionais por mililitro.

2.3 Presença de anticorpos contra HIV e HCV

Dos 940 pacientes com anti-HBc total analisados, 665 (70,74%) foram testados para HIV e 921 (97,98%) para HCV. Entre os testados foi observado que 12 pacientes estavam infectados por HIV (1,80%) e 3 por HCV (0,33%) (Figura 15). O PCR para identificação de hepatite B oculta foi realizado em dois pacientes com sorologia positiva para hepatite C, e em apenas um deles, a carga viral foi detectada, 0,11% de coinfeção de HCV e HBV.

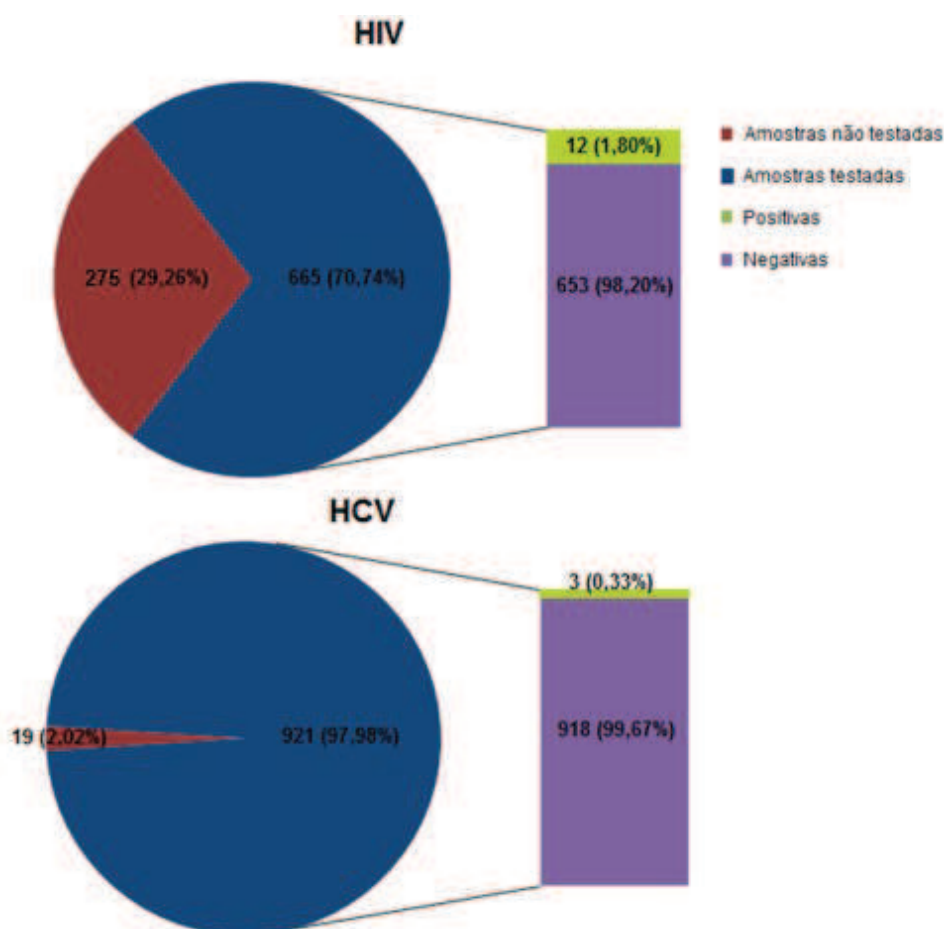


Figura 15. Distribuição de anti-HBc isolado quanto à coinfeção com HIV, HCV nos pacientes do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014. HCV: vírus da hepatite C; HIV: vírus da imunodeficiência humana.

Dos 940 pacientes avaliados, 8 pacientes apresentaram anti-HBe reagente, 2 foram positivos para anti-HBcIgM, em 26 pacientes o anti-HBc Total negativou, em 2 o HBsAg positivou, em 12 o anti-HBs desapareceu, 622 tiveram alta por imunização, 52 alta por PCR, 6 tiveram alta sem conclusão do perfil sorológico, 89 pacientes abandonaram o serviço e 244 estão em acompanhamento (Figura 16).

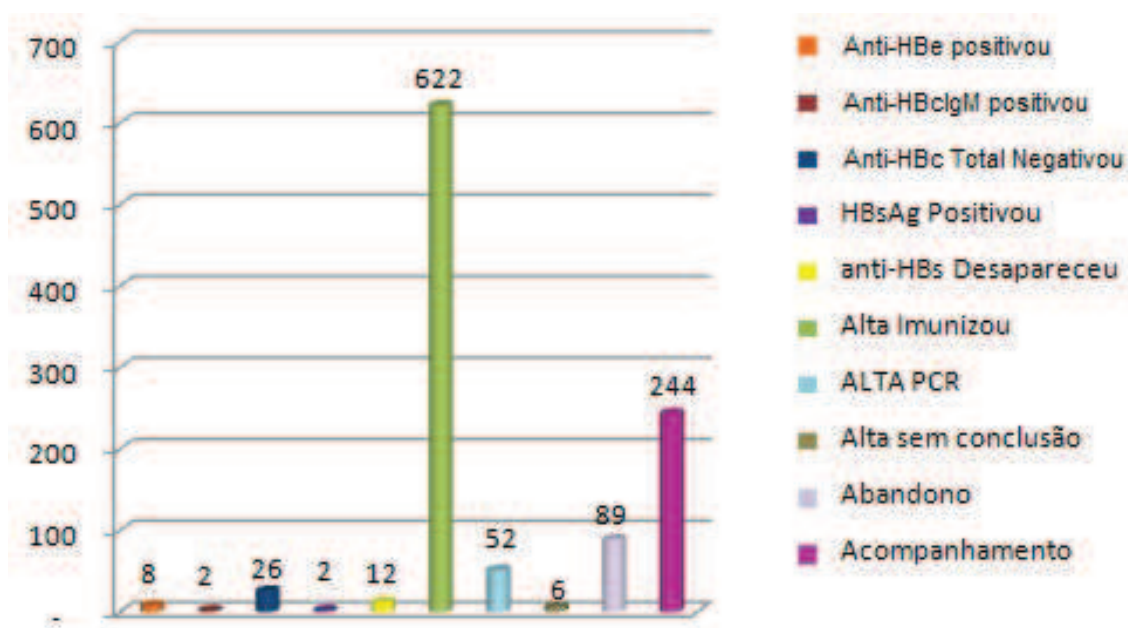


Figura 16. Distribuição da evolução dos pacientes anti-HBc isolado do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais no período de 01 de janeiro de 2009 a 31 de dezembro de 2014. Anti-HBc : anticorpo contra o antígeno *core* do vírus B; Anti-HBe: anticorpo contra o antígeno “e” do vírus B; Anti-HBs: anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus B; HBsAg: antígeno de superfície do vírus B; PCR: Reação em Cadeia da Polimerase.

DISCUSSÃO

Neste trabalho duas populações foram utilizadas para que os objetivos fossem atingidos. Uma população geral com sorologia desconhecida encaminhada ao IAL - CLR X - SJRP para análise laboratorial de hepatite B e uma população específica com sorologia de anti-HBc isolado encaminhada para atendimento no AMHV. Com a população do IAL - CLR X - SJRP foi possível determinar a prevalência de anti-HBc isolado, visto que, essa reflete a população geral e com a do AMHV evidenciar a evolução dos pacientes com anti-HBc isolado e desta forma a frequência de hepatite B oculta.

Os resultados obtidos demonstram a ocorrência de anti-HBc isolado nas amostras do IAL - CLR X - SJRP e a necessidade de acompanhamento dessa população. A presença do anti-HBc total isolado no soro do paciente pode indicar várias situações como: falso positivo, janela imunológica de cura, imunidade tardia com baixos níveis de anti-HBs e infecção crônica sem expressão de HBsAg com carga viral baixa representando esta a IOB. O período de desaparecimento de HBsAg e aparecimento de anti-HBs é de difícil interpretação e depende da evolução de cada paciente. HBsAg negativo com anti-HBc positivo e anti-HBs negativo geralmente indica infecção passada. No entanto, dependendo da prevalência na população pode ser também um anti-HBc falso-positivo. Quando o HBsAg é negativo com anti-HBc e anti-HBs positivos geralmente indicam soroconversão com imunidade subsequente, porém também pode ser um anti-HBs falso-positivo. ^(8,9,39,41,44,46)

A ocorrência de anti-HBc isolado (HBsAg negativo, anti-HBc positivo, anti-HBs negativo) tem sido registrada em frequência variável na população. Estudo recente da Universidade Federal de Santa Maria identificou entre os doadores com marcador anti-HBc reagente, 14,50% de indivíduos com perfil sorológico de anti-HBc isolado, sugestivo de IOB. ⁽⁹⁾ Entre o grupo de indivíduos reagentes para anti-HBc, a frequência isolada deste marcador chegou a 42,70%, em regiões de baixa prevalência para a infecção pelo HBV. ^(9,71) Apesar de ser uma zona de moderada endemicidade (região sudeste) no banco de dados do IAL - CLR X - SJRP verificou-se uma prevalência de 17,63% das amostras com perfil sorológico anti-HBc isolado entre o grupo de anti-HBc positivos.

A dúvida levantada é se estes pacientes estão sendo acompanhados, tratados ou se estão sendo apenas esquecidos pela falta de alternativas que classifiquem seus casos. Por que embora seja um perfil de difícil interpretação, o não esclarecimento desses pacientes pode acarretar implicações clínicas que devem ser consideradas como: potencial risco de transmissão através de doação de sangue, hemodiálise e transplante de órgãos (risco reduzido após a introdução da triagem de anti-HBc); transmissão perinatal; associação ao desenvolvimento de CHC; afetar a progressão e resposta ao tratamento da hepatite C entre outras implicações.

A presença do anti-HBc no soro, com HBsAg negativo, pode indicar infecção prévia resolvida ou estado de portador do HBV, e existem evidências crescentes que pacientes com esse perfil sorológico podem também desenvolver doença hepática crônica ou transmitir a doença para outros

indivíduos. ^(15,27) Destarte, a hepatite B oculta é definida pela presença de HBV-DNA no soro ou fígado do paciente na ausência do antígeno de superfície do HBV (HBsAg). A ocorrência de anti-HBc isolado quando conjuntamente analisado com a pesquisa de carga viral de HBV, em diferentes regiões do Brasil, apresentou a frequência de infecção oculta por hepatite B de 3,3% na região Sul, de 6% no Sudeste e de 2,7% no Nordeste. ^(9,74)

A taxa de infecção oculta pelo HBV encontrada no AMHV foi de 47,62% nos pacientes sem resposta vacinal. Uma taxa que pode estar superestimada visto que o PCR não foi realizado em todos os pacientes não respondedores (apenas em 25,77% dos pacientes sem resposta vacinal). A não realização se deve a perdas por evasão, falta de avaliação do anti-HBs de pacientes vacinados e inexistência de um protocolo que justificasse a realização da quantificação viral em pacientes anti-HBc isolado (protocolo do período indicava quantificação da carga viral apenas para pacientes crônicos). A realização do PCR foi então direcionada a não respondedores o que pode ter elevado a taxa de hepatite B oculta encontrada.

Frente a estes dados, verificamos que os pacientes anti-HBc isolado do município de São José do Rio Preto são atendidos no Ambulatório Municipal de Hepatites Virais. O ambulatório recebeu, no período estudado, pacientes em diversas fases evolutivas da hepatite B, estes foram acompanhados, vacinados e apresentaram uma taxa de soroconversão de 77,70%. Convém ressaltar que a vacinação dessa população é protocolo do Ambulatório Municipal de Hepatites Virais e não do ministério. Esse protocolo de vacinação e acompanhamento esclareceu cerca de 80% dos casos de anti-HBc isolado

(falso positivo, pacientes na janela de cura, desaparecimento de anti-HBs e aparecimento de HBsAg), diminuindo o risco potencial de transmissão, reduzindo gastos desnecessários com exames caros como o PCR e selecionando os pacientes para realização do teste de biologia molecular.

A imunização ativa torna-se mais relevante frente à constatação que 55,81% dos pacientes soroconverteram após a primeira dose vacinal. Dado este que vai de encontro à literatura que destaca uma soroconversão de 59% entre doadores de sangue anti-HBc isolado após a primeira dose vacinal. Relata ainda que todos os pacientes positivos para o DNA do vírus da hepatite B (HBV-DNA) tornaram-se negativos após a vacinação. Assim, estimular o aparecimento ou o reaparecimento de anti-HBs através da vacinação é um modo de aumentar a imunidade contra o HBV e possivelmente controlar o agente infeccioso. ⁽⁷²⁾ Outro estudo afirma que a resposta imunitária em adultos anti-HBc positivos, após a imunização primária, embora mais fraca do que em adultos comuns seja suficiente para impedir a infecção pelo HBV. ⁽⁷³⁾ Desta forma a imunização de indivíduos anti-HBc isolado é, sem dúvida uma importante arma contra a hepatite B. ⁽²⁷⁾

Se considerarmos ainda a taxa de anti-HBc isolado do IAL - CLR X - SJRP, 17,63%, a vacinação certamente resolveria a situação sorológica de aproximadamente 80% (88 pacientes) dessa população. Esses dados realçam a necessidade e importância de um centro especializado e de seus profissionais que desenharam o fluxo e condutas para os pacientes anti-HBc isolado antes mesmo das diretrizes do ministério, e conclui-se que o

acompanhamento e a vacinação são fundamentais, seja para descartar a hepatite B oculta seja para confirmá-la.

Nas duas populações estudadas foram pesquisados anticorpos para hepatite C e HIV, pois a literatura destaca uma notória relação de hepatite B oculta com a hepatite C, hepatocarcinoma e com o HIV. ^(25,27,44) A presença de anticorpos encontrada foi de 25,40% para HIV e 13,25% para HCV no banco de dados do IAL - CLR X - SJRP. Já no banco de dados do AMHV a presença de anticorpos contra HIV e HCV foi de 1,80%, 0,33%, respectivamente.

As baixas frequências de anticorpos para HIV e HCV na população anti-HBc isolado do AMHV quando comparada com as do IAL - CLR X - SJRP podem estar associadas com o fato dos pacientes HIV positivo das unidades de saúde do município serem encaminhados para tratamento no Serviço de Atendimento Especializado de São José do Rio Preto (SAE - SJRP) e os pacientes positivos para hepatite C fazerem parte de um outro grupo de prontuários que não foi analisado neste trabalho por não fazer parte dos objetivos. Estes fatores podem ter alterado a positividade desses anticorpos entre os pacientes anti-HBc isolado atendidos no AMHV justificando as baixas frequências.

Contudo, com os dados analisados não foi possível determinar a taxa de coinfeção com HIV e HCV visto que não foram realizados exames moleculares que comprovassem a infecção por HBV e HCV na população anti-HBc isolado infectada por HIV e HCV. A literatura demonstra que a prevalência de hepatite B oculta em indivíduos HIV positivo permanece controversa, variando entre 0% e 90% e entre pacientes com HCV mostra prevalência

variável a partir de 0% a 52%, bem como não deixa claro o verdadeiro impacto clínico da hepatite B oculta em pacientes com hepatite C e HIV. ^(69,70) Além do que a variabilidade desses dados depende do tipo da população selecionada para o estudo.

Em dezembro de 2015 foi publicado o Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais que traz diretrizes para o diagnóstico da infecção oculta pelo vírus da hepatite B, incluindo a realização do teste de quantificação viral na busca de elucidar os casos anti-HBc isolado. Sem dúvida um passo interessante, mas nem sempre eficaz na busca do diagnóstico. O Manual não deixa claro como chegar a um paciente suspeito de hepatite B oculta, não menciona os casos de anti-HBc isolado e não define protocolo de vacinação para estes pacientes, uma falha visto o evidente papel da vacinação na estimulação do sistema imune esclarecendo a grande maioria dos casos de anti-HBc isolado.

Embora o PCR seja o padrão ouro para o diagnóstico de IOB, na maioria das vezes o exame é feito a partir de amostras de sangue, raros são os casos em que amostras do fígado estão disponíveis, este fato pode levar a dificuldade na detecção de DNA do HBV visto que a sua frequência no soro é mais baixa do que no tecido hepático o que pode influenciar na interpretação dos resultados. ^(8,19,24) Destacam-se ainda as dificuldades encontradas quando comparados os resultados de diferentes técnicas de quantificação do DNA do HBV, dependendo da especificidade, sensibilidade e da tecnologia para a detecção do DNA viral que também podem levar a um diagnóstico equivocado.

⁽⁸⁾ Assim, muitas vezes o diagnóstico preciso e correto torna-se difícil devido às

características clínicas semelhantes dos perfis sorológicos da hepatite B e a falta de um ensaio rotineiro para distinguir estas condições. ^(21,43,44)

Mesmo quando ocorre a realização da carga viral, os testes podem ser mal interpretados e os pacientes liberados como se não houvesse infecção. Pacientes podem eventualmente receber alta com PCR inferior ao limite de detecção do aparelho como se não houvesse infecção quando na verdade a carga viral era detectada só não foi quantificada. Isto pode ocorrer se o médico não tiver clareza entre detecção abaixo do nível e não detecção.

Durante a aplicação dos critérios de exclusão e inclusão foi observado também que para 10 pacientes a realização do PCR não foi esclarecedora, 9 pacientes que apresentaram resultados: não detectado, inferior a 10 UI/mL e inferior a 15 UI/mL soroconverteram para anti-HBs e em 1 paciente com carga viral não detectada o HBsAg tornou-se positivo. O que reforça a tese de que quando recebemos um paciente com anti-HBc isolado não sabemos a fase evolutiva da doença que este paciente se encontra, por isso muitas vezes, o PCR não é esclarecedor e a vacinação torna-se a melhor opção.

A resposta sorológica à vacina pode ajudar a distinguir entre as várias possibilidades de diagnóstico associadas com um padrão de anti-HBc isolado. Indivíduos com imunidade tardia com baixos índices de anti-HBs se tornarão positivos para o anti-HBs rapidamente, enquanto os portadores ocultos deverão continuar negativos. Aqueles que têm anti-HBc falso-positivo e, portanto, não tem memória imunológica contra o HBV terão elevação gradual dos títulos de anti-HBs e necessitam completar o esquema vacinal de 3 doses. ^(9,72)

Exatamente como encontrado entre os resultados do AMHV: (317/568) 55,81% de soroconversão após a 1ª dose, (163/816) 19,97% que não soroconverteram após a vacinação e (196/568) 34,51% de soroconversão após a 3ª dose. Somados os pacientes vacinados que soroconverteram (568) aos que soroconverteram espontaneamente (54), totalizou 622 (66,17%) pacientes anti-HBc isolado que foram solucionados com acompanhamento e vacinação. Resultados estes que estão de acordo com estudo recente, em doadores de sangue brasileiros com anti-HBc isolado, que avaliou a resposta vacinal contra a hepatite B em relação à soroconversão para anti-HBs e a presença do DNA do HBV, e permitem considerar que o estímulo imunológico desencadeado pela imunização contra o HBV poderia curar tanto com a resolução da Infecção oculta pelo vírus da hepatite B, quanto a soroconversão do anti-HBs em indivíduos anti-HBc isolado. ^(9,72)

Estas evidências sugerem que exames moleculares e acompanhamento mais atento sejam destinados à parcela de indivíduos que continuam com anti-HBc isolado após três ou quatro doses da vacina. ⁽⁹⁾ A resposta vacinal por dose foi evidenciada, porém não analisada por não estar entre os objetivos do trabalho, mas sua importância merece sem dúvida um trabalho específico.

Diante da falta de um protocolo esclarecedor, muitos pacientes anti-HBc isolado deixam de receber acompanhamento e tratamento adequados. Desta forma, o objetivo principal do trabalho foi descrever a ocorrência de anti-HBc isolado e hepatite B oculta em pacientes atendidos no Instituto Adolfo Lutz - Centro de Laboratório Regional X - São José do Rio Preto e no Ambulatório Municipal de Hepatites Virais com o intuito de melhorar o diagnóstico e

tratamento desses pacientes. A análise dos bancos de dados do Instituto Adolfo Lutz e do Ambulatório de Hepatites Virais foi esclarecedora no sentido da real necessidade de acompanhamento desses pacientes.

CONCLUSÕES

1. A prevalência anti-HBc isolado nas amostras do IAL - CLR X - SJRP foi de 17,63%.
2. A presença de anticorpos contra HIV e HCV foi de 25,40%, 13,25% nas amostras do IAL - CLR X - SJRP, respectivamente.
3. A resposta vacinal global nos pacientes com anti-HBc isolado no AMHV foi de 77,70%.
4. A prevalência de IOB nos pacientes com anti-HBc isolado vacinados que não soroconverteram foi de 47,62%.
5. A presença de anticorpos contra HIV e HCV foi de 1,80%, 0,33% nas amostras do AMHV, respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Almeida D, Paraná R. História das Hepatites Virais. Disponível em: <http://sbhepatologia.org.br/pdf/historia.pdf> Acesso em 26 abr. 2016.
2. Fonseca JCF. Histórico das Hepatites Virais. Rev Soc Bras Med Trop 2010;43(3):322-30
3. Seef LB. Diagnosis, therapy and prognosis of virus hepatitis. In: Zakin D, Boyer T. (eds): Hepatology: A Textbook of Liver Disease. Philadelphia, WB Saunders 1990;958.
4. Beeson PB. Jaundice occurring one to four months after transfusion of blood or plasma. Report of 7 cases. JAMA 1943;121:1332-34.
5. Schmid R. History of viral hepatitis: a tale of dogmas and misinterpretations. Journal Gastroenterol Hepatology 2001;16:718-22.
6. Bigger JW. Jaundice in syphilitics under treatment. Lancet 1943;I:457.
7. Editorial. Jaundice following yellow fever vaccination. JAMA 1942;119:1110.
8. Barros Júnior GM. Hepatite crônica B oculta: estudo clínico, epidemiológico, histopatológico e molecular em doentes com diagnóstico de hepatite crônica da demanda da fundação de medicina tropical do Amazonas. Dissertação Mestrado, 2005.
9. Foletto AS, Dalmora CH, Beck ST. Hepatite B oculta entre doadores de sangue: importância do estudo do perfil sorológico da hepatite B em indivíduos anti-HBc positivos. Saúde 2008;34(2):39-43.
10. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Hepatites virais: o Brasil está atento / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. - 3. ed. - Brasília : Ministério da Saúde, 2008.
11. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. ABCDE do diagnóstico para as hepatites virais / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. - Brasília: Ministério da Saúde, 2009.
12. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. O Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais / Ministério da Saúde, Secretaria de

- Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. - Brasília: Ministério da Saúde, 2015.
13. Zuckerman JN. Hepatitis how far down the alphabet? *J Clin Pathol* 1997;50:1-2.
 14. Brasil. Ministério da Saúde. Material Instrucional para capacitação em Vigilância Epidemiológica das Hepatites Virais. Brasília - DF, 2008.
 15. Barros Júnior GM, Braga WSM, Oliveira CMC, Castilho MC, Araújo JR. Hepatite crônica B oculta: prevalência e aspectos clínicos em população de elevada endemicidade de infecção pelo vírus da hepatite B na Amazônia ocidental brasileira. *Rev Soc Bras Med Trop* 2008;41(6):596-601.
 16. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Hepatites Virais. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/07_0044_M2.pdf. Acesso em fev. 2016.
 17. Pereira LMB, Ximenes RAA, Moreira RC. Estudo de prevalência de base populacional das infecções pelos vírus das hepatites A, B e C nas capitais do Brasil. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2010.
 18. Sachan D, Varghese J, Joseph J, Srinivasan V, Jayanthi V, Rela M. HBsAg Positive Patient Characteristics in Hospital and Blood Donation Camps. *ISRN Hematology* 2013,artigo D675191,3p.
 19. Nishikawa H, Osaki Y. Clinical Significance of Occult Hepatitis B Infection in Progression of Liver Disease and Carcinogenesis. *Journal of Cancer* 2013;4(6):473-80.
 20. Khouri ME, Santos VA. Hepatitis B: epidemiological, immunological, and serological considerations emphasizing mutation. *Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. S. Paulo* 2004;59(4):216-24.
 21. Park JW et al. Differentiation of acute and chronic hepatitis B in IgM anti-HBc positive patients. *World J Gastroenterol* 2015 April 7; 21(13): 3953-59.
 22. Ferraz MLG, Yoradjian A, Barbieri A, Figueiredo V, Neto EL, Cruz CN et al. Epidemiology of acute hepatitis B in a university hospital in São Paulo, Brazil: retrospective of two five-year periods. *Rev Paul Med* 1998;116(3):1695-9.
 23. Jardim RNCM. Infecção oculta pelo vírus da hepatite B em pacientes hemodialisados e em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana. Dissertação de Mestrado, 2006.
 24. Peres AA. Hepatite B oculta em pacientes transplantados renais. Dissertação de mestrado, 2004.

25. Torbenson et al. High prevalence of occult hepatitis B in Baltimore injection drug users. *Hepatology* 2004;39(1):51-6.
26. Hou J, Liu Z, Gu F. Epidemiology and prevention of hepatitis B virus infection. *Int. J. Med. Sci.*2005; 2(1):50-7.
27. Ferreira MS. Diagnóstico e tratamento da hepatite B. *Rev Soc Bras Med Trop* 2000;33(4):389-400.
28. Fan R, et al. Baseline quantitative hepatitis B core antibody titre alone strongly predicts HBeAg seroconversion across chronic hepatitis B patients treated with peginterferon or nucleos(t)ide analogues. *Hepatology* 2016;65:313-20.
29. Tiollais P, Pourcel C, Dejean A. The hepatitis B virus. *Nature* 1985;317(6037):489-95.
30. Huang S, et al. Virus-Like Particles in Australia Antigen-Associated Hepatitis. *Am J Pathol.* 1972;67(3):453-70.
31. Kao JH. Molecular epidemiology of Hepatitis B Virus. *Korean J Intern Med* 2011;26:255-61.
32. Seeger C, Mason WS. Hepatitis B Virus Biology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2000; 64(1):51-68.
33. Chisari FV, Ferrari C. Hepatitis B virus immunopathogenesis. *Annu Rev Immunol.* 1995;13:29-60.
34. Lee WM. Hepatitis B virus infection. *N. Engl. J. Med.* 1997; 337(24):1733-45.
35. Brasil. Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais. Guia Estadual de Orientações Técnicas das Hepatites Virais. Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais/Superintendência de Epidemiologia, 2007.
36. Hormolab, Medicina Laboratorial. Marcadores Sorológicos da Hepatite B. Disponível em: http://www.hormolab.com.br/noticias/hepatite_b.pdf Acesso em Jan. 2016.
37. Lok ASF. Treatment of chronic hepatitis B. *Journal of Viral Hepatitis* 1994;1:105-24.
38. Hollinger FB, Sood G. Occult hepatitis B virus infection: a covert operation. *J Viral Hepat* 2010;17(1):1-15.

39. Mortensen E, et al. Are current screening protocols for chronic hepatitis B virus infection adequate? *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2016;85(2):159-67.
40. Mast EE, et al. A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) Part 1: Immunization of infants, children, and adolescents. *MMWR Recomm Rep* 2005;54(RR-16):1-31.
41. Grob P, et al. Serological pattern "anti-HBc alone": report on a workshop. *J Med Virol* 2000;62(4):450-5.
42. Mandour M et al. Occult HBV infection status among chronic hepatitis C and hemodialysis patients in Northeastern Egypt: regional and national overview. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2015;48(3):258-64.
43. Orenbuch-Harroch E, Levy L, Ben-Chetrit E. Acute hepatitis B or exacerbation of chronic hepatitis B - that is the question. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 7133-37.
44. Oliveira LCM, Abrahão PDS, Amorim SB. Detection of hepatitis B Virus DNA in sera from 18 alcoholic carriers of "anti-HBc alone" and response to a single dose of hepatitis B vaccine. *Arq Gastroenterol.* 2008;45(3):252-4.
45. Badrawy H, Bakry R. Anti-HBc and HBV-DNA detection in blood donors negative for hepatitis B virus surface antigen. *American Journal of Molecular Biology* 2013;3:62-6.
46. Moraes TC et al. Hepatitis B virus infection among institutionalized mentally ill patients in Brazil. *Braz J Infect Dis* 2015;19(6):643:7.
47. Aghakhani A et al. Occult hepatitis B virus infection in hemodialysis patients with isolated hepatitis B core antibody: a multicenter study. *Ther. Apher. Dial.* 2010; 14(3):349-53.
48. Mrani S, et al. Occult HBV infection may represent a major risk factor of non-response to antiviral therapy of chronic hepatitis C. *J Med Virol* 2007;79(8):1075-81.
49. Jindal A, Kumar M, Sarin SK. Management of acute hepatitis B and reactivation of hepatitis B. *Liver Int.* 2013;33(1):164-75.
50. Blumberg BS. The curiosities of hepatitis B virus. Prevention, sex ratio, and demography. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2006;3(1):14-20.

51. Ni YH, et al. Hepatitis B virus infection in children and adolescents in a hyperendemic area: 15 years after mass hepatitis B vaccination. *Ann Intern Med.* 2001;135(9):796-800.
52. Vacina contra hepatite B. Informe Técnico Institucional. *Rev Saúde Pública* 2006;40(6):1137-40.
53. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual dos centros de referência para imunobiológicos especiais / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. - Brasília: Ministério da Saúde, 2006.
54. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de Normas e Procedimentos para Vacinação / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. - Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
55. Goldstein ST, et al. Incidence and risk factors for acute hepatitis B in the United States, 1982-1998: implications for vaccination programs. *J Infect Dis.* 2002; 15;185(6):713-9.
56. Jiménez-Pérez M, González-Grande R, Torres JM, Arjona CG, Rando-Muñoz FJ. Management of hepatitis B virus infection after liver transplantation. *World J Gastroenterol.* 2015;21(42):12083-90.
57. Sistema de Imunoensaios ADVIA Centaur® CP Guia do Operador, Bayer HealthCare 086D0019-01 Rev. A, 2005-09.
58. Biokit. Bioelisa HBsAg 3.0. Disponível em: http://www.biokit.com/productos/reagents/bioelisa/hepatitis/bioelisa-hbsag-3_0.aspx Acesso Fev. 2016.
59. Biokit. Bioelisa anti-HBc. Disponível em: <http://www.biokit.com/productos/reagents/bioelisa/hepatitis/bioelisa-anti-hbc.aspx> Acesso Fev. 2016.
60. Biokit. Bioelisa anti-HBs. Disponível em: <http://www.biokit.com/productos/reagents/bioelisa/hepatitis/bioelisa-anti-hbs.aspx> Acesso Fev. 2016.
61. Diasorin. HBsAg Confirmatory Test. Disponível em: <http://www.annardx.com/productos/images/productos/diagnostica/infecciosas/hbsag-confirm-test-310110.pdf> Acesso Fev. 2016.
62. Diasorin. Kit para el ensayo inmunoenzimático de anticuerpos anti-HBc totales. Disponível em:

- http://www.annardx.com/productos/images/productos/diagnostica/infeciosas/IFUk_es_N0137_01.pdf Acesso Fev. 2016.
63. Diasorin. Kit para el ensayo inmunoenzimático de los anticuerpos anti-HBs. Disponível em:
http://www.annardx.com/productos/images/productos/diagnostica/infeciosas/IFUk_es_P001603_01.pdf Acesso Fev. 2016.
 64. Manual COBAS Amplicor HBV Monitor Test, Roche Revision 3.0, 2/2006.
 65. Manual COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HBV Test, version 2.0 Roche Doc Rev. 2.0, 3/2009.
 66. Manual Abbott Real Time HBV, Abbott 2010.
 67. BioMérieux. Hepanostika® HBsAg Ultra Confirmatory. Disponível em:
https://techlib.biomerieux.com/wcm/techlib/techlib/documents/docLink/Package_Insert/27831001-27832000/Package_Insert_-_9300923_-_E_-_280253.pdf Acesso Fev. 2016.
 68. BioMérieux. VIDAS® Anti-HBc Total II (HBCT). Disponível em:
https://techlib.biomerieux.com/wcm/techlib/techlib/documents/docLink/Package_Insert/25136001-25137000/Package_Insert_-_09577_-_F_-_pt_-_30314.pdf Acesso Fev. 2016.
 69. Tramuto F, Maida CM, Colomba GME, Di Carlo P, Vitale F. Prevalence of occult hepatitis B virus infection in a cohort of HIV-positive patients resident in Sicily, Italy. *BioMed Research International* 2013, Article ID 859583, 7p.
 70. Ghartavol ZV, et al. Prevalence of occult hepatitis B virus in plasma and peripheral blood mononuclear cell compartments of patients with chronic hepatitis C infection in Tehran-Iran. *Hepat Mon.* 2013;13(5): e10134.
 71. Silva CMD, et al. Low rate of occult hepatitis B virus infection among anti-HBc positive blood donors living in a low prevalence region in Brazil. *J Infect* 2005;51(1):24-9.
 72. Pereira JSF, Gonçalves NSL, Silva C, et al. HBV vaccination of HCV-infected patients with occult HBV infection and anti-HBc-positive blood donors. *Braz J Med Biol Res* 2006;39(4):525-31.
 73. Liu J, Lyu J, Yan B, Feng Y, Zhang L, Xu A. Matching study on immune response between single anti-HBc positivity and healthy adults after primary immunization and revaccination of hepatitis B vaccine. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 2014;35(10):1091-4.

74. Arraes LC, Ximenes R, Andrieu JR, et al. The biological meaning of anti-HBc positive result in blood donors: relation to HBV-DNA and other serological markers. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo* 2003;45:137-40.