

## PREVALÊNCIA DOS MARCADORES SOROLÓGICOS DA HEPATITE B EM SOROS DE BANCO DE SANGUE NA CIDADE DE SÃO PAULO \*

Sandra Maria da ROCHA \*\*  
Regina Tomie KIMURA \*\*  
Carlos TATUTA \*\*  
Augusta Kiyomi TAKEDA \*\*  
Araripe Pacheco DUTRA \*\*  
Edson Augusto de Sousa e SILVA \*\*  
Waldemar EBNER FILHO \*\*  
William Carlos ISHIY \*\*\*

RIALA6/593

ROCHA, S.M.; KIMURA, R.T.; TATUTA, C.; TAKEDA, A.K.; DUTRA, A.P.; SILVA, E.A.S.; EBNER FILHO, W. & ISHIY, W.C. — Prevalência dos marcadores sorológicos da hepatite B em soros de banco de sangue na cidade de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 45(1/2):31-36, 1985.

**RESUMO:** Foi realizado um estudo de prevalência do antígeno de superfície da hepatite B entre 17.401 doadores de sangue, através das reações de radioimunoensaio e hemaglutinação passiva reversa. Os resultados obtidos foram, respectivamente, de 1,27% e 1,13% com uma concordância de 89,14% entre as duas técnicas empregadas.

Em 139 amostras positivas para o antígeno de superfície da hepatite B, foi feita a pesquisa do antígeno "e" da hepatite B e do anticorpo correspondente, através da técnica de imunodifusão em gel de agarose, com uma positividade de 7,2% para o antígeno e 28% para o anticorpo. Não se observou nenhum caso positivo para ambos os marcadores numa mesma amostra.

Entre os soros negativos para o antígeno de superfície da hepatite B, foram selecionadas quatrocentas amostras a fim de se determinar a freqüência dos anticorpos contra o antígeno de superfície da hepatite B e o antígeno "core" da hepatite B, através da reação de radioimunoensaio. Verificou-se nessa amostragem que 7,25% possuíam somente anticorpos contra o antígeno de superfície da hepatite B, 4,5% apenas anticorpos contra o antígeno "core" da hepatite B e 10,5% apresentavam ambos os marcadores.

Um estudo mais cuidadoso deveria ser realizado com os soros positivos, apenas para o anticorpo contra o antígeno "core" da hepatite B, já que ainda se questiona sobre os riscos que eles representam na transmissão da hepatite B pós-transfusional.

**DESCRITORES:** hepatite B, antígeno; hepatite B, anticorpo.

### INTRODUÇÃO

A transfusão de sangue constitui uma das maneiras pela qual a hepatite B é transmitida.

A utilização de testes de terceira geração, como a hemaglutinação passiva reversa

(HAPR) e o radioimunoensaio (RIE), para a pesquisa do antígeno de superfície da hepatite B (AgHBs) no sangue de doadores, diminuiu acentuadamente o risco de transmissão, porém não o eliminou totalmente. Tal fato ocorre devido à baixa concentração do AgHBs (<2ng/ml) existente em alguns soros ou à presença deste antígeno sob a forma de imu-

\* Realizado na Seção de Imunologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

\*\*\* Da Hemoterapia Modelo — Serviços Médicos S/C Ltda., São Paulo, SP.

nocomplexos não detectáveis pelos testes usuais. LANDER et alii<sup>11</sup> e HOOFNAGLE et alii<sup>12</sup>, verificaram que alguns soros que apresentavam o anticorpo contra o antígeno "core" da hepatite B (anti-HBc), na ausência de AgHBs, eram capazes de transmitir a infecção a seus receptores. Por outro lado, a presença do anticorpo contra o AgHBs (anti-HBs) seria indicativo de baixo risco para a ocorrência da hepatite B pós-transfusional (GOLDFIELD et alii<sup>4</sup>).

Em relação aos soros positivos para o AgHBs, tem se observado que estes apresentam uma maior infeciosidade quando apresentam o antígeno HBe, ao contrário dos soros com anti-HBe. Diferentes trabalhos<sup>14, 18</sup> têm demonstrado a importância deste sistema antígeno-anticorpo como indicador de risco de transmissão do vírus da hepatite B. Sendo assim, os indivíduos portadores assintomáticos do AgHBs, quando apresentam o antígeno HBe, têm grandes probabilidades de transmitir o vírus a seus contactantes.

Diante disso, foi realizado um estudo para se determinar a prevalência do AgHBs, bem como dos demais marcadores sorológicos da hepatite B, entre os doadores de um Banco de Sangue da cidade de São Paulo.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Amostragem

a) 17.401 soros provenientes de um Banco de Sangue da cidade de São Paulo, colhidos no período de abril de 1980 a dezembro de 1981, nos quais foi pesquisada a presença do AgHBs por radioimunoensaio (RIE) e hemaglutinação passiva reversa (HAPR).

b) 400 soros, selecionados ao acaso, entre os soros AgHBs negativos, para avaliação da frequência de anti-HBs, utilizando as técnicas de hemaglutinação passiva (HAP) e radioimunoensaio\*; e de anti-HBc por radioimunoensaio\*\*.

c) 139 soros AgHBs positivos, para a pesquisa do antígeno "e" da hepatite B (AgHBe) e seu respectivo anticorpo (anti-HBe), por imunodifusão em gel de agarose (IDGA) segundo técnica descrita por TAKAHASHI et alii<sup>18</sup>.

### Antígeno

AgHBs proveniente de soros de portadores assintomáticos, purificado por cromatografia de afinidade em Sepharose 4B, ativada com brometo de cianogênio<sup>2, 7</sup>.

### Anti-soros

Anti-HBs proveniente de:

a) Soro hiperimune de cavalo e purificado por cromatografia de afinidade em Sepharose 4B<sup>2, 7</sup>.

b) Soro hiperimune de bode, parcialmente purificado por precipitação com sulfato de amônio.

### Radioimunoensaio para detecção de AgHBs \*\*\*

Foram utilizadas, como fase sólida, pérolas de poliestireno adsorvidas com anti-HBs de bode. O reagente radioativo foi obtido através da marcação de anti-HBs de cavalo com <sup>125</sup>I pelo método da Cloramina T (GREENWOOD et alii<sup>5</sup>), sendo o ensaio realizado de acordo com a técnica descrita por PURCELL & BARKER<sup>15</sup>.

### Hemaglutinação passiva reversa \*\*\*

Para detecção do AgHBs: hemácias de carneiro, fixadas com glutaraldeído e sensibilizadas com anti-HBs purificado, de acordo com a técnica descrita por KIMURA et alii<sup>10</sup>.

### Hemaglutinação passiva para detecção de anti-HBs \*\*\*

Os soros foram diluídos em placa de microtitulação na razão log 2, paralelamente em tampão diluente e tampão inibidor, contendo o antígeno específico. Posteriormente foram adicionados nos alvéolos hemácias de carneiro fixadas com glutaraldeído e sensibilizadas conforme a técnica de IMAI et alii<sup>6</sup>, com AgHBs purificado.

Após duas horas de incubação precedeu-se à leitura, onde os soros foram considerados positivos, quando havia uma diferença de, no mínimo, duas casas entre os títulos da reação propriamente dita e da inibição específica.

## RESULTADOS

Em 17.401 soros testados para o antígeno de superfície da hepatite B, encontrou-se uma positividade de 1,27% (211 soros) através da técnica do RIE e 1,13% (197 soros) pela HAPR, conforme demonstra a tabela 1. Já a tabela 2 revela uma correlação entre a HAPR e o RIE de 89,14%. O AgHBs não foi detectado em 24 amostras, quando empregada a técnica HAPR, confirmando a sua menor sen-

\* Conjunto de reagentes AUSAB, Abbott Laboratories, North Chicago, Ill., EUA.

\*\* Conjunto de reagentes CORAB, Abbott Laboratories, North Chicago, Ill., EUA.

\*\*\* Todos os reagentes foram produzidos na Seção de Imunologia, do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

sibilidade em relação ao RIE, entretanto demonstrou ser uma técnica com alta especificidade, já que não detectou nenhum caso falso positivo.

Na amostragem citada no item b, a pesquisa de anti-HBs, por RIE e por HAP, apresentou 21 (5,25%) soros positivos através das duas técnicas e 50 (12,5%) positivos somente pela técnica RIE, com uma concordância de 29,6% (tabela 3). A alta especificidade também foi demonstrada pela HAP, sem a ocorrência de casos falso-positivos.

Na tabela 4, verificou-se a ocorrência de anti-HBs e anti-HBc, pesquisados por RIE, onde se observou que 7,25% (29 soros) foram positivos somente para anti-HBs, 4,5% (18 soros) positivos somente para anti-HBc e 10,5% (42 soros) positivos para ambos os marcadores.

Na pesquisa do AgHBe e anti-HBe, em 139 soros positivos para AgHBs, pela técnica de IDGA, 7,2% dos soros foram positivos para o antígeno e 28% positivos para o anticorpo, não sendo observado nenhum caso positivo para os dois marcadores simultaneamente (ver tabela 5).

TABELA 1

*Pesquisa de AgHBs, em 17.401 soros de doadores de um banco de sangue, pelas técnicas de RIE e HAPR*

Técnicas	Soros positivos n.º (%)	Soros negativos n.º (%)
RIE	221 (1,27)	17.180 (98,73)
HAPR	197 (1,13)	17.204 (98,87)

TABELA 2

*Comparação dos métodos de RIE e HAPR em 221 soros para pesquisa de AgHBs*

Amostras	HAPR (+) e RIE (+)	HAPR (-) e RIE (+)	Total
Número	197	24	221
Porcentagem	89,14	10,86	100

(+) = positiva    (-) = negativa

TABELA 3

*Comparação das técnicas de RIE e HAP para pesquisa de anti-HBs em 400 soros de um banco de sangue*

		H A P		Total
		Soros positivos N.º (%)	Soros negativos N.º (%)	
RIE	Soros positivos N.º (%)	21 (5,25)	50 (12,50)	71 (17,75)
	Soros negativos N.º (%)	0 (0%)	329 (82,25)	329 (82,25)
	Total	21 (5,25)	379 (94,75)	400 (100)

ROCHA, S.M.; KIMURA, R.T.; TATUTA, C.; TAKEDA, A.K.; DUTRA, A.P.; SILVA, E.A.S.; EBNER FILHO, W. & ISHIY, W.C. — Prevalência dos marcadores sorológicos da hepatite B em soros de sangue na cidade de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 45(1/2):31-36, 1985.

TABELA 4

Ocorrência de anti-HBs e anti-HBc em 400 soros de doadores de banco de sangue através da técnica de radioimunoensaio

ANTI-HBs ANTI-HBc	Soros positivos n.º (%)	Soros negativos n.º (%)	Total n.º (%)
Positivo n.º (%)	42 (10,5)	18 (4,5)	60 (15,0)
Negativo n.º (%)	29 (7,25)	311 (77,75)	340 (85,0)
Total n.º (%)	71 (17,75)	329 (82,25)	400 (100)

TABELA 5

Pesquisa do AgHBe e anti-HBe em 139 soros AgHBs positivos de doadores de banco de sangue por imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA)

IDGA	Soros positivos n.º (%)	Soros negativos n.º (%)
Ag HBe	10 (7,2)	129 (92,8)
Anti-HBe	39 (28,0)	100 (72,0)

#### DISCUSSÃO

A presente pesquisa reveste-se de grande importância devido, principalmente, a escassez de dados correlatos publicados em nosso meio. ANTONACIO<sup>1</sup>, em 1971, utilizando as reações de imunoeletroforese cruzada (IEC) e IDGA, encontrou uma prevalência de 0,85% de antígeno Au e 0,05% de anti-Au entre 17.748 doadores de sangue não remunerados e 1,13% e 0,0% respectivamente, em 1.146 doadores profissionais. PEREIRA & CALLADO<sup>14</sup>, em 1972, estudando 2.081 doadores de sangue da cidade do Rio de Janeiro, encon-

traram uma positividade de 0,75% para o antígeno Au através da IEC e 0,38% por IDGA. Em 1975, ROSEMBLIT et alii<sup>16</sup> detectaram o AgHBs em 0,21% de 22.473 doadores do serviço de hemoterapia do Hospital Servidor Público Estadual da cidade de São Paulo, utilizando a técnica de IEC. YOSHIDA et alii<sup>19</sup>, em 1979, encontraram uma prevalência de 2,05% de AgHBs e 7,69% de anti-HBs através da técnica de hemaglutinação passiva reversa e hemaglutinação passiva, em 195 soros de indivíduos de raça branca, na cidade de Londrina (PR). Em um estudo sobre a distribuição de marcadores sorológicos da hepatite B entre doadores de sangue

da América Latina<sup>13</sup>, encontrou-se uma prevalência de 2,1% para o AgHBs e 27,6 para o anti-HBc, empregando-se a técnica de RIE e 26,7% para o anti-HBs utilizando a reação de hemaglutinação passiva, em 1.022 amostras provenientes do Brasil. Entretanto, torna-se difícil a comparação desses dados devido à variação da origem da amostragem e da diferença na sensibilidade das técnicas empregadas.

A prevalência do AgHBs e do anti-HBs encontrada em nossa amostragem foi de 1,27% e 17,75%, respectivamente. De acordo com DEINHARDT & GUST<sup>3</sup>, estes resultados colocam-nos num padrão de prevalência intermediária comparável à que ocorre em regiões como Japão, Rússia, Sudoeste Asiático, Mediterrâneo e Europa Oriental.

A discordância observada entre a reação de HAPR e o RIE está de acordo com o esperado, já que os portadores assintomáticos apresentam antigenemia por longos períodos, e de modo geral não em níveis baixos. Já a alta discordância observada entre as reações de HAPR e RIE (29,8%) em favor desta última, na pesquisa do anti-HBs, pode ser explicada pelo fato de o anticorpo não permanecer indefinidamente nos mesmos níveis no sangue circulante, tornando-se indetectável com o decorrer do tempo. Desta maneira, a HAPR não seria capaz de detectar o anti-HBs no início e na fase final de seu aparecimento.

Nos soros AgHBs positivos, foi realizada a pesquisa do AgHBe e anti-HBe que detectou 7,2% e 28%, respectivamente. O índice

de soros positivos encontra-se provavelmente subestimado devido à baixa sensibilidade do método empregado. Seria conveniente a utilização de reações mais sensíveis, como o RIE, que detecta esses marcadores em mais de 90% das amostras.

O AgHBe é tido como um importante indicador do grau de infecciosidade do sangue<sup>14, 18</sup>, o que torna recomendável uma maior atenção aos portadores deste marcador, devido a maior probabilidade que apresentam de estender a infecção aos seus contactantes.

Recentemente, alguns autores<sup>6, 12</sup> observaram a transmissão da Hepatite B por indivíduos portadores de anti-HBc na ausência de AgHBs e anti-HBs, o que os levou a preconizar a triagem dos doadores para anti-HBc, como forma de reduzir a incidência da hepatite B pós-transfusional. Nesse caso, seriam eliminados os soros que apresentassem apenas anti-HBc, sem o anti-HBs, uma vez que a presença deste último indica índices reduzidos de transmissão do patógeno.

Em nosso estudo observamos uma prevalência de somente 4,5% de soros nesta situação. Porém, torna-se difícil avaliar a fase da infecção em que esses indivíduos se encontram: início da convalescência e infecção crônica (com possibilidade de transmissão).

Contrastando com os dados normalmente registrados na literatura pertinente, encontramos uma maior percentagem de anti-HBs (17,75%) em relação ao anti-HBc (15%). Tal fato será motivo de estudos posteriores.

RIALA6/593

ROCHA, S.M.; KIMURA, R.T.; TATUTA, C.; TAKEDA, A.K.; DUTRA, A.P.; SILVA, E.A.S.; EBNER FILHO, W. & ISHIY, W.C. — Prevalence of serological markers of hepatitis B in blood-bank donors from the city of São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 45(1/2):31-36, 1985.

**ABSTRACT:** A study of the hepatitis B surface antigen (HBsAg) prevalence was carried out in 17,401 blood-bank donors from the city of São Paulo using radioimmunoassay (RIA) and reverse passive hemagglutination (R-PHA) tests. The results were 1.27% and 1.13%, respectively, with a correlation of 89.14% between the two techniques. Detection of hepatitis Be antigen (HBeAg) and the respective antibody (anti-HBe) was made in 139 HBsAg positive sera by means of agarose gel immunodiffusion test (AGID). A positivity of 7.2% for the antigen and 28% for the antibody was obtained. The presence of both markers in the same serum specimen was not observed. Four hundred specimens were selected among the HBsAg negative sera to study the prevalence of the antibody against HBsAg (anti-HBs) and hepatitis B core antigen (anti-HBc) by radioimmunoassay. The results showed that 7.25% were positive for anti-HBs only, 4.5% for anti-HBc, and 10.5% showed both markers. A more careful study of sera positive for anti-HBc only, would be necessary since it is still questionable whether these specimens may represent a transmission risk for the post-transfusion Hepatitis B.

**DESCRIPTORS:** hepatitis B, antigen; hepatitis B, antibody.

ROCHA, S.M.; KIMURA, R.T.; TATUTA, C.; TAKEDA, A.K.; DUTRA, A.P.; SILVA, E.A.S.; EBNER FILHO, W. & ISHIY, W.C. — Prevalência dos marcadores sorológicos da hepatite B em soros de sangue na cidade de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 45(1/2):31-36, 1985.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANTONASCIO, F. — Antígeno Australia em doadores de Sangue. São Paulo, 1971. 77 p. [Tese — Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo]
2. AXEN, R. & ERNBACK, S. — Chemical fixation of enzymes to cyanogen halide activated polysaccharide carriers. *Eur. J. Biochem.*, 18:351-360, 1971.
3. DEINHARDT, F. & GUST, I.D. — Viral hepatitis. *Bull WHO*, 60:661-91, 1982.
4. GOLDFIELD, M.; BLACK, H.C.; BILL, J.; SRIHONGSE, S. & PIZZUTI, W. — The consequence of administering blood pre-test for HBsAg by third generation techniques: a progress report. *Am. J. med. Sci.*, 270:335-42, 1975.
5. GREENWOOD, F.C.; HUNTER, W.M. & GLOVER, J.S. — The preparation of <sup>131</sup>I-labelled human growth hormone of high specific radioactivity. *Bioch. J.*, 89: 114-23, 1963.
6. HOOFNAGLE, J.H. et alii — Type B hepatitis after transfusion with blood containing antibody to hepatitis B core antigen. *New Eng. J. Med.*, 298:1379-83, 1978.
7. HOUVEN, B.; GOUDEAU, A. & DANKERT, J. — Isolation of hepatitis B surface antigen (HBsAg) by affinity chromatography on antibody coated immunoadsorbents. *J. immunol. Methods*, 8:185-94, 1975.
8. IMAI, M.; YAMASHITA, Y.; MIYAKAWA, Y. & MAYUMI, M. — Hemmagglutination inhibition assay of the common determinants and subspecificities of australia antigen. *Immunology*, 27:871-8, 1974.
9. KATCHKI, J.N.; SIEM, T.H.; BROUWER, R.; BRANDT, K.H. & VAN DER WAART, M. — Detection and significance of anti-HBc in the blood bank. Preliminary results of a controlled prospective study. *J. virol. Methods*, 2:119-25, 1980.
10. KIMURA, R.T.; TACHIBANA, C.F.; CURY, V.L. & TAKEDA, A.K. — Reações imunológicas para detecção do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg). *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38:83-6, 1978.
11. LANDER, J.J.; GITNICK, G.L.; GELB, L.H. & ASCH, R.D. — Anticore antibody screening of transfused blood. *Vox sang.*, 34 (2):77-80, 1978.
12. MAZZUR, S.; NATH, N.; FANG, C.; BASTIANS, M.J.; MOLINARIS, J.L.; FAY, O.H.; LABRADOR GONZALES, G.; GONZALES, G.; GUTIERREZ, A.; JARAMILLO, C.; KATZ, R.; DEME LOPEZ, M.B.; LEVY, E.; MORALES AYALA, F.; RODRIGUES AMAYA, J.; RODRIGUES MOYADO, H.; TORRES R.A. & VELASCO, M. — Distribution of hepatitis B virus (HBV) markers in blood donors of 18 western hemisphere countries. Proceedings of the red cross latin american hepatitis B workshop. *Bull. Pan. Amer. Health Organ.*, 14:44-51, 1980.
13. OKADA, K.; KAMIYAMA, I.; INOMATA, M.; IMAI, M.; MIYAKAWA, Y. & MAYUMI, M. — "e" antigen and anti-e in the serum of asymptomatic carrier mothers as indicators of positive and negative transmission of hepatitis B virus to their infants. *New Engl. J. Med.*, 294:746-9, 1976.
14. PEREIRA, J.M. & CALLADO, A.N.A. — Pesquisa do antígeno Australia nos doadores de sangue do Estado da Guanabara. *Bol. Inst. Est. Hematol. "Artur Siqueira Cavalcanti"*, Rio de J., 2:5-11, 1972.
15. PURCELL, R.H. & BARKER, L.F. — Hepatitis B virus. In: ROSE, N.R. & FRIEDMAN, H., ed. — *Manual of clinical immunology*. Washington, DC, American Society of Microbiology, 1976.
16. ROSEMBLIT, J.; TAKEI, K.; AMATO NETO, V.; MENDONÇA, J.S. & MELO, E. — Pesquisa do antígeno de hepatite B no soro de doadores de sangue em serviço de hemoterapia da cidade de São Paulo. *Rev. bras. Clin. terap.*, 4:121-2, 1975.
17. SHIKATA, R.; KARASANA, T.; ABE, K.; UZAWA, T.; SUZUKI, H.; ODA, T.; IMAI, M.; MAYUMI, M. & MORITSUGU, Y. — Hepatitis B, e antigen and infectivity of hepatitis B virus. *J. infect. Dis.*, 136:571-6, 1977.
18. TAKAHASHI, K.; IMAI, M.; TSUDA, F.; TAKAHASHI, T.; MIYAKAWA, Y. & MAYUMI, M. — Association of Dane particles with "e" antigen in the serum of asymptomatic carriers of hepatitis B surface antigen. *J. Immunol.*, 117:102-5, 1976.
19. YOSHIDA, C.F.T.; GASPARELLO, A.M.C.; MARZOCCH, K.B.F. & SCHATZMAYR, H.G. — HBsAg, subtypes and HBsAb in the white and asiatic populations from urban and rural communities in the South of Brazil. *Rev. Microbiol.*, São Paulo, 10:106-9, 1979.

Recebido para publicação em 6 de junho de 1984.