

QUANTIFICAÇÃO DE IMUNOGLOBULINA ANTI-HBS EM ESTUDANTES DA SAÚDE PREVIAMENTE VACINADOS CONTRA HBV

QUANTIFICATION OF ANTI-HBS IMMUNOGLOBULIN IN HEALTH STUDENTS PREVIOUSLY VACCINATED AGAINST HBV

Gabriel Abrahão Trindade de Lima¹
Anelise Cristina Osorio Cesar Doria²
Antonio Carlos Victor Canettieri³

Resumo: Estima-se que 257 milhões de pessoas no mundo estejam infectadas com o vírus da hepatite B (HBV). Estudantes universitários da área da saúde, em virtude de suas atividades acadêmicas e futuras profissões, são população-chave. A vacinação contra o vírus é considerada o método profilático mais eficaz, e o estado de imunidade é caracterizado pela presença da imunoglobulina contra o antígeno de superfície do vírus (HBsAg). O objetivo deste estudo foi avaliar o estado de imunidade de 20 alunos de graduação da área da saúde, devidamente vacinados contra a hepatite B, por meio da comparação de metodologias qualitativas e quantitativas. Este estudo demonstrou que embora todos os alunos estivessem com calendário vacinal completo, 12 (60%) não apresentavam níveis protetivos de anticorpos, e resultados discrepantes entre as metodologias mostraram que testes rápidos não devem ser utilizados como única metodologia para estabelecimento de um diagnóstico.

Palavras-chave: Imunização; Vírus da Hepatite B; Anticorpo.

Abstract: It is estimated that 257 million people worldwide are infected with the hepatitis B virus (HBV). University students in the health field, due to their academic activities and future professions, are in a high-risk group. Vaccination against the virus is considered the most effective prophylactic method, and the state of immunity is characterized by the presence of immunoglobulin against the virus's surface antigen (HBsAg). This study aimed to assess the immunity status of 20 properly vaccinated undergraduate health students through the comparison of qualitative and quantitative methodologies. This study demonstrated that although all students had completed their vaccination schedules, 12 (60%) did not exhibit protective levels of antibodies, and discrepancies between methodologies indicated that rapid tests should not be used as the sole method for establishing a diagnosis.

Key words: Immunization; Hepatitis B virus; Antibody.

Data de submissão: 04.12.2023

Data de aprovação: 11.06.2024

¹ Graduado em Biomedicina pela Universidade do Vale do Paraíba (Univap). E-mail: gatl.abrahao@gmail.com.

² Docente com experiência na área de Microbiologia, atuando principalmente nos temas plasma atmosférico, *Candida spp*, biofilme, polímeros e deposição por camada atômica. E-mail: ane.doria@gmail.com.

³ Coordenador e professor em tempo parcial no curso de Odontologia da Universidade do Vale do Paraíba (Univap). E-mail: antoniocanettieri@gmail.com.

Identificação e disponibilidade:

(<https://revista.univap.br/index.php/revistaunivap/article/view/4550>,
<http://dx.doi.org/10.18066/revistaunivap.v30i68.4550>).

1 INTRODUÇÃO

Estima-se que, atualmente, cerca de 257 milhões de pessoas no mundo estejam infectadas pelo vírus da hepatite B (HBV) (Centers for Disease Control and Prevention [CDC], 2023). Dentre os grupos vulneráveis a essa infecção, os estudantes universitários da área da saúde estão particularmente em risco devido à natureza de suas atividades acadêmicas e práticas clínicas, o que os colocará em contato direto com possíveis fontes de contaminação (Abich et al., 2016).

A imunização é o principal método profilático contra a hepatite B. Ela previne a infecção e, desse modo, impede o desenvolvimento da doença nas fases aguda e crônica. A infecção crônica, por sua vez, tem o potencial de evoluir para cirrose hepática e hepatocarcinoma (Ferreira & Silveira, 2006). A estratégia, preconizada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e adotada pela maioria dos países para controlar a disseminação da hepatite até o ano de 2030, é a vacinação para todas as crianças ao nascerem, com doses extras ao final do primeiro mês e aos 6 meses de idade (Duarte et al., 2020).

A função principal da imunização contra o HBV é a indução da resposta imune, isto é, a produção de anticorpos (anti-HBsAg) contra o antígeno de superfície do HBV (HBsAg) no indivíduo. O anti-HBsAg é um anticorpo neutralizante, pois impede que o vírus se ligue ao hepatócito, célula do corpo pela qual o HBV apresenta tropismo; inibindo, assim, a replicação viral (Ramakrishnan et al., 2019). Estabeleceu-se na literatura que a quantidade mínima do anticorpo no organismo que determina a imunidade ao vírus é de 10 mUI/mL (Souza & Araújo, 2018).

Sabe-se, no entanto, que ao longo do tempo os níveis séricos da imunoglobulina em indivíduos vacinados diminuem (Sande et al., 2006) e alguns estudos chegaram a indicar que de 8% a 42% dos indivíduos que possuíam níveis protetivos do anticorpo os perderam em até 5 anos após a vacinação (Zannolli & Morgese, 1997).

Imunoensaios quantitativos são importantes na determinação precisa dos níveis séricos de anti-HBsAg. Entretanto, a detecção da presença do anticorpo em níveis adequados (acima de 10 mUI/mL), pode ser alcançada com a utilização de testes rápidos qualitativos.

2 OBJETIVOS

Avaliar, por meio da dosagem da imunoglobulina anti-HBsAg por metodologia de imunoensaio quimioluminescente por micropartículas (CMIA), o estado de imunidade de 20 alunos da área da saúde de uma universidade, previamente vacinados contra o HBV, e comparar os resultados obtidos com a metodologia qualitativa de testes imunocromatográficos de fluxo lateral (testes rápidos).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi devidamente submetido e aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa sob protocolo 5.926.939 e tratou-se de uma pesquisa com 20 participantes, alunos de graduação de cursos de Biomedicina, Enfermagem e Odontologia da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), que ocorreu durante os

meses de junho e novembro de 2023. Foram convidados estudantes dos quintos e sétimos períodos para participarem da pesquisa totalizando, aproximadamente, 150 alunos convidados. Essas turmas executam atividades (aulas práticas e/ou estágios curriculares) com maior risco de entrarem em contato com amostras biológicas. Os critérios de inclusão requeriam voluntários maiores de 18 anos de idade, devidamente matriculados em seus cursos e com esquema vacinal completo contra hepatite B. Caso algum dos requisitos nos critérios de inclusão não fossem satisfeitos, o voluntário não poderia participar do estudo.

O convite para participação no estudo foi realizado através de visitas nas salas de aula dos cursos citados acima, sendo que os interessados em participar disponibilizaram seus contatos aos pesquisadores. Os participantes, após esclarecimentos e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), apresentaram suas carteiras de vacinação que foram analisadas de modo a garantir que a vacinação ocorreu do modo preconizado pelo calendário vacinal do Ministério da Saúde: 3 doses, com intervalo de 30 dias entre a primeira e segunda dose e de 180 dias entre a primeira e a última dose.

Foi padronizado o uso de soro nas duas metodologias utilizadas nesse estudo, sendo que, na primeira fase do estudo ocorrida em junho de 2023, realizou-se a coleta de sangue por meio de punção venosa, em tubos a vácuo, com ativador de coágulo e gel separador (Vacurette®). As amostras foram centrifugadas a 3200 rotações por minutos (rpm), durante oito minutos, para obtenção do soro.

Esleveu-se, para essa fase, a execução dos testes rápidos (Wama, Imuno-Rápido anti-HBsAg®), que foram realizados conforme instruções do fabricante, com amostras recém-coletadas, com não mais que 4 horas de armazenamento a 2°C, em ambiente com temperaturas entre 21°C e 25°C. Os resultados são interpretados como reagentes (positivos) ou não reagentes (negativos).

Na segunda fase do estudo, realizada nos meses de outubro e novembro de 2023, foram realizadas novas coletas de sangue por punção venosa. Após centrifugação, do mesmo modo descrito acima, as amostras foram armazenadas a 2°C por não mais que 48 horas, e foram enviadas ao laboratório Alvaro, do grupo Dasa, para realização de CMIA, que utilizou 150µL de soro. Os resultados foram enviados por meio eletrônico e os laudos enviados como devolutiva aos participantes. O CMIA é considerado padrão ouro para a titulação de anticorpos e, portanto, foi a metodologia escolhida para realizar comparação com os resultados do teste rápido (teste qualitativo). Nessa metodologia, conforme indicado pelo laboratório e em conformidade com a literatura, valores maiores ou iguais a 10 mUI/mL indicam níveis séricos protetores de anticorpos anti-Hbs.

4 RESULTADOS

Esse estudo contou com a participação de 20 alunos (n=20), sendo 16 (80%) do sexo feminino e 4 (20%) do sexo masculino. Desses, 16 (80%) estavam matriculados no curso de Biomedicina, 2 (10%) no curso de Odontologia e 2 (10%) no curso de enfermagem. A faixa etária dos participantes variou entre 19 e 27 anos de idade, com a idade média em 22 anos.

Os testes rápidos somaram 9 resultados (45%) reagentes, indicando a presença da imunoglobulina em concentrações de no mínimo 10 mUI/mL, e 11 resultados (55%) não reagentes, isto é, níveis indetectáveis de anti-Hbs, sendo que, dos resultados reagentes, a média de idade dos participantes foi de 20 anos, e de 21 anos a média de idade dos não reagentes. Em relação aos resultados obtidos pelo CMIA, 8

participantes (40%) apresentaram titulação acima dos níveis protetores e 12 (60%), com níveis abaixo dos estabelecidos como protetores. Os resultados obtidos demonstram que três (15%) dos 20 testes realizados, apresentaram discrepância entre as duas metodologias. Dois resultados considerados reagentes no teste rápido foram avaliados como inferiores ao valor mínimo protetivo, ambos indicados como <2,0 mUI/mL (na CMIA), e um resultado não reagente na primeira metodologia teve uma titulação de 22,1 mUI/mL (Tabela 1).

Tabela 1 - Comparação entre a metodologia qualitativa (testes rápidos) e quantitativa (CMIA), em relação à interpretação do resultado para a presença ou não do anti-HBs

Teste Rápido	CMIA (mUI/mL)	Concordância entre testes	Nº participantes	% dos casos
não reagente	<10	Sim	10	50%
	>10	Não	1	5%
reagente	>10	Sim	7	35%
	<10	Não	2	10%

Fonte: autores.

A média de idade para os resultados superiores a 10 mUI/mL foi de 22 anos e de 21 anos para os inferiores. Valores de detecção de anticorpos anti-HBs em indivíduos protegidos variaram de 13,6 até 444,6 mUI/mL e, em indivíduos não protegidos, obtiveram-se resultados menores que 2,0 e de 8,8 mUI/mL. Vale ressaltar que valores indicados como menores que 2 mUI/mL ocorreram devido ao limite mínimo de detecção da metodologia CMIA utilizada pelo laboratório.

5 DISCUSSÃO

Esse estudo teve por objetivo analisar o estado imunológico de estudantes, futuros profissionais da saúde, em relação ao vírus causador da hepatite B, utilizando metodologias distintas de caráter qualitativo e quantitativo. Foram convidados alunos dos últimos períodos dos cursos de Biomedicina, Enfermagem e Odontologia da Universidade do Vale do Paraíba, uma vez que nessas profissões existe a possibilidade da manipulação de instrumental perfurocortante contendo material biológico com risco de infecção pelo VHB. De aproximadamente 150 estudantes convidados, foi obtida a participação de vinte, ou seja, uma adesão de 13.33 % dos alunos dos cursos convidados. Todos os participantes comprovaram que tomaram as 3 doses da vacina, logo após o nascimento e nenhum dos participantes declarou vacinação posterior com doses de reforço e, também, não declararam histórico de infecção prévia pelo HBV. Mas existe a possibilidade de infecção assintomática por HBV, ou seja, o participante dessa pesquisa poderia estar imunizado não pela vacinação, mas pelo contato direto com o HBV. Isso não pode ser comprovado nesse estudo, pois não testamos outros tipos de anticorpos gerados pelo indivíduo que teve a infecção, como o anticorpo contra o antígeno do core do vírus (anti-HBc) (Ministério da Saúde, 2023).

A natureza laboral dos futuros profissionais da área da saúde como, por exemplo, o ambiente hospitalar, laboratorial ou consultórios odontológicos, colocam essa população em risco de contaminação por doenças virais, em especial a hepatite B (Pinheiro & Zeitoune, 2008), o que torna imprescindível a avaliação não apenas de seus estados vacinais, através das carteiras de vacinação, mas também do estado de imunidade efetivo, por meio de testes sorológicos (Pinto et al., 2011).

A OMS recomendou, em 1992, a introdução da vacina nos sistemas de saúde, e atualmente o mercado conta com uma gama diversa de vacinas altamente eficazes contra o HBV (Ferreira & Silveira, 2006). Estudos como o de Moraes et al. (2010) e Martins et al. (2003) demonstraram taxas de soroconversão de mais de 90% em indivíduos adultos. Um estudo por Ribeiro e Azevedo (2006) também demonstrou níveis de soroconversão acima de 90%, porém em recém-nascidos, justamente o período da vida na qual todos os participantes desse estudo foram vacinados.

Estudos como o de McMahon et al. (2005), Lu et al. (2004) e He et al. (2016) evidenciam que os níveis séricos de anti-HBs decrescem com o passar dos anos, podendo chegar a valores considerados não protetivos em parcelas consideráveis da população, em aproximadamente 15 anos, o que corrobora com os achados deste estudo. Outros fatores, além do tempo após a última dose da vacina, influenciam na diminuição dos níveis de anti-HBs, como tabagismo, sedentarismo, obesidade e genética (Damiot et al., 2020; Montecino-Rodriguez et al., 2013), embora estes esses dados não tenham sido avaliados nesse estudo.

Em relação aos resultados considerados discrepantes entre os testes rápidos e o CMIA, foram relatados valores de sensibilidade e especificidade para o teste rápido anti-HBs® ligeiramente abaixo dos descritos pelo fabricante (Cruz, 2014). A bula do material declara que existe a possibilidade de resultados falsos reagentes devido à interação do antígeno de superfície do HBV (HBsAg) presente no teste com glicoproteínas naturais, como a concanavalina A que, sob certas condições, pode ser encontrada na parede celular de leucócitos (Powell & Leon, 1970). As possíveis causas de resultados não-reagentes não foram estabelecidas pelo fabricante, mas não se descarta a possibilidade de erro de execução. Testes rápidos são uma alternativa barata, rápida e de fácil acesso (Poiteau, 2017), mas com possibilidade de resultados não fidedignos e, portanto, não devem ser utilizados como única metodologia para que se estabeleça um diagnóstico do paciente, tendo uma importância como teste de triagem (OMS, 2017).

Nota-se, por esse estudo, a existência de um estado de vulnerabilidade de futuros profissionais da saúde para a infecção por hepatite B. Nestes casos, nos quais a titulação de imunoglobulina se encontrava abaixo do valor de 10 mUI/mL, recomendou-se ao participante a revacinação e nova titulação de imunoglobulina após 6 meses e, se o resultado continuar indicando o estado de não proteção, uma nova bateria de vacinações seguindo os intervalos de 30 dias e 180 dias entre as doses (Ministério da Saúde, 2023).

O Sistema Único de Saúde indica a dosagem de anti-HBsAg aos profissionais da saúde. Caso os níveis da imunoglobulina estejam abaixo dos considerados protetores é possível requerer, de maneira gratuita, uma nova série de vacinações, mediante a apresentação do laudo e de um pedido médico.

6 CONCLUSÃO

Esse estudo contribuiu para uma melhor compreensão da variabilidade das respostas imunológicas após, em média, 20 anos desde a última dose da vacina contra a hepatite B. Além disso, demonstrou a importância da quantificação dos níveis sorológicos de imunoglobulina anti-HBs, pois existe a possibilidade de resultados incorretos em relação aos testes rápidos.

A imunidade às doenças infectocontagiosas representa um elemento fundamental de salvaguarda para os futuros profissionais que estarão em grupos de risco. Os achados desse estudo destacam a necessidade de avaliar e abordar

proativamente as lacunas na eficácia da vacinação. O número de indivíduos comprovadamente não protegidos contra a hepatite B é preocupante e pode indicar uma vulnerabilidade individual. Espera-se que, no futuro, novos estudos como esse possam ser realizados com populações maiores, para que novas políticas públicas de vacinação possam ser baseadas em evidências atualizadas sobre a eficácia da vacina a longo prazo.

REFERÊNCIAS

- Abich, D. R., De Lima, G. C. S., Lissarassa, Y. P. S., Mallet, E. K. V., & Comparsi, B. (2016). Imunização contra o vírus da Hepatite B em estudantes da área da saúde. *Revista contexto & saúde*, 16(30), 77-84. <http://dx.doi.org/10.21527/2176-7114.2016.30.77-84>
- Cruz, H. M. (2014). *Avaliação do desempenho de testes rápidos na detecção de marcadores do vírus da hepatite B.* (Dissertação de Mestrado em Medicina Tropical) - Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz). <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/12119>
- Damiot, A., Pinto, A. J., Turner, J. E., & Gualano, B. (2020). Immunological implications of physical inactivity among older adults during the COVID-19 pandemic. *Gerontology*, 66(5), 431-438. <https://doi.org/10.1159/000509216>
- Das, S., Ramakrishnan, K., Behera, S. K., Ganesapandian, M., Xavier, A. S., & Selvarajan, S. (2019). Hepatitis B vaccine and immunoglobulin: key concepts. *Journal of clinical and translational hepatology*, 7(2), 165. <https://doi.org/10.14218/jcth.2018.00037>
- Duarte, G., Pezzuto, P., Barros, T. D., Mosimann Junior, G., & Martínez-Espinosa, F. E. (2021). Protocolo Brasileiro para Infecções Sexualmente Transmissíveis 2020: hepatites virais. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 30, e2020834. <https://doi.org/10.1590/s1679-4974202100016.esp1>
- Ferreira, C. T., & Silveira, T. R. D. (2006). Prevenção das hepatites virais através de imunização. *Jornal de Pediatria*, 82, s55-s66. <https://doi.org/10.1590/s0021-75572006000400007>
- Harris, A. (2024). *Hepatitis B. CDC Yellow Book 2024.* <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2024/infections-diseases/hepatitis-b>
- He, F., Ma, Y. J., Zhou, T. Y., Duan, J. C., Wang, J. F., Ji, Y. L., Li, H., Zhang, J., & Tang, H. (2016). The serum anti-HBs level among children who received routine hepatitis B vaccination during infancy in Mianyang City, China: a cross-sectional study. *Viral immunology*, 29(1), 40-48. <https://doi.org/10.1089/vim.2015.0073>
- Lu, C. Y., Chiang, B. L., Chi, W. K., Chang, M. H., Ni, Y. H., Hsu, H. M., Twu, S-J., Su, I-J., Huang, L-M., & Lee, C. Y. (2004). Waning Immunity To Plasma-Derived Hepatitis B Vaccine and the Need for Boosters 15 Years After Neonatal Vaccination. *Hepatology*, 40(6), 1415-1420.

- Martins, R. M., Bensabath, G., Arraes, L. C., Barbosa, G. G., Aguiar Oliveira, M. D. L., & Bastos Camacho, L. A. (2003). Estudo multicêntrico de imunogenicidade e reatogenicidade de vacinas contra hepatite B: informe preliminar. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 12(3), 165-166.
- McMahon, B. J., Bruden, D. L., Petersen, K. M., Bulkow, L. R., Parkinson, A. J., Nainan, O., Khristova, M. L., Zanis, C., Peters, H., & Margolis, H. S. (2005). Antibody levels and protection after hepatitis B vaccination: results of a 15-year follow-up. *Annals of internal medicine*, 142(5), 333-341.
- Ministério da Saúde. (2023). *Portaria SECTICS/MS Nº 25, de 18 de maio de 2023*. Torna pública a decisão de atualizar, no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS, o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas de Hepatite B e Coinfecções.
- Montecino-Rodriguez, E., Berent-Maoz, B., & Dorshkind, K. (2013). Causes, consequences, and reversal of immune system aging. *The Journal of clinical investigation*, 123(3), 958-965.
- Moraes, J. C. D., Luna, E. J. D. A., & Grimaldi, R. A. (2010). Imunogenicidade da vacina brasileira contra hepatite B em adultos. *Revista de Saúde Pública*, 44, 353-359.
- Pinheiro, J., & Zeitouni, R. C. G. (2008). Hepatite B: conhecimento e medidas de biossegurança e a saúde do trabalhador de enfermagem. *Escola Anna Nery*, 12, 258-264.
- Pinto, A. C. S., de Almeida, M. I., & da Costa Pinheiro, P. N. (2011). Análise da susceptibilidade às doenças imunopreveníveis em profissionais de saúde a partir do status vacinal. *Rev Rene*, 12(1), 11.
- Poiteau, L., Soulier, A., Roudot-Thoraval, F., Hézode, C., Challine, D., Pawlotsky, J. M., & Chevaliez, S. (2017). Performance of rapid diagnostic tests for the detection of anti-HBs in various patient populations. *Journal of Clinical Virology*, 96, 64-66.
- Powell, A. E., & Leon, M. A. (1970). Reversible interaction of human lymphocytes with the mitogen concanavalin A. *Experimental cell research*, 62(2-3), 315-325.
- Souza, F. D. O., & Araújo, T. M. D. (2018). Exposição ocupacional e vacinação para hepatite B entre trabalhadores da atenção primária e média complexidade. *Revista Brasileira de Medicina do Trabalho*, 16(1), 36-43.
- Sande, M. V. D., Waight, P., Mendy, M., Rayco-Solon, P., Hutt, P., Fulford, T., Doherty, C., McConkey, S., Jeffries, D., Hall, A. J., & Whittle, H. C. (2006). Long-term protection against carriage of hepatitis B virus after infant vaccination. *The Journal of Infectious Diseases*, 193(11), 1528-1535.
- World Health Organization. (2017). *WHO guidelines on hepatitis B and C testing*. World Health Organization.
- Zannolli, R., & Morgese, G. (1997). Hepatitis B vaccine: current issues. *Annals of Pharmacotherapy*, 31(9), 1059-1067.