

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Fábio Luiz Storer

**SOROPOSITIVIDADE, COBERTURA E RESPOSTA
VACINAL PARA HEPATITE VIRAL DO TIPO B EM
CIRURGIÕES DENTISTAS EM PORTO VELHO, RONDÔNIA,
BRASIL**

Taubaté - SP
2008

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Fábio Luiz Storer

**SOROPOSITIVIDADE, COBERTURA E RESPOSTA
VACINAL PARA HEPATITE VIRAL DO TIPO B EM
CIRURGIÕES DENTISTAS EM PORTO VELHO, RONDÔNIA,
BRASIL**

Dissertação apresentada para obtenção do Título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia do Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté.

Área de Concentração: Biologia Odontológica

Orientadora: Profa. Dra. Sheila Cavalca Cortelli

Co-Orientador: Prof. Dr. Gilson César Nobre Franco

Taubaté - SP
2008

Storer, Fábio Luiz

Soropositividade, cobertura e resposta vacinal para hepatite viral do tipo B em cirurgiões dentistas em Porto Velho, Rondônia, Brasil/ Fábio Luiz Storer - 2008.

64f.: il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de Taubaté,
Departamento de Odontologia, 2008.

Orientação: Profa. Dra. Sheila Cavalca Cortelli

1. Hepatite B. 2. HBsAg. 3. Anti-HBs. 4. Soroprevalência .
5. Vacinação. 6. Cirurgiões dentistas I. Título.

FABIO LUIZ STORER
SOROPOSITIVIDADE, COBERTURA E RESPOSTA VACINAL PARA HEPATITE
VIRAL DO TIPO B EM CIRURGIÕES DENTISTAS EM PORTO VELHO,
RONDÔNIA, BRASIL

Dissertação apresentada para obtenção
do Título de Mestre pelo Curso de Pós-
Graduação em Odontologia do
Departamento de Odontologia da
Universidade de Taubaté.

Área de Concentração: Biologia
Odontológica

Data: _____

Resultado: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____ Universidade de Taubaté

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Universidade _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Universidade _____

Assinatura: _____

Dedico este trabalho a Jaime Gazola e Maria Eliza Aguiar e Silva pelo apoio irrestrito nos momentos mais delicados e por acreditar no potencial do nosso trabalho.

Aos meus pais pelo incentivo, carinho e dedicação.

Aos meus filhos, André e Vinícius, pela compreensão, amor e paciência.

A minha esposa, Ivania, companheira de toda vida, que sempre esteve ao meu lado nas horas alegres e tristes, que sempre me apoiou quando não havia chão, que sempre me incentivou quando não haviam perspectivas e que sempre me amou e compreendeu incondicionalmente, sem ela não teria trilhado os caminhos percorridos e vencido as adversidades, até aqui conquistadas.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade São Lucas pela oportunidade e apoio nesta trajetória.

À Universidade de Taubaté pela acolhida nestes dois anos de muito estudo.

Ao Núcleo de Análises Clínicas São Lucas pelo processamento e realização dos testes imunológicos.

Ao Conselho Regional de Odontologia de Rondônia pelo apoio ao projeto.

A minha orientadora Profa. Dra. Sheila Cavalca Cortelli pela paciência, ajuda e incentivos dispensados ao longo desta jornada.

Ao Prof. Dr. Gilson César Nobre Franco pelos incentivos, estímulo e orientações imensuráveis a este trabalho.

Ao Prof. Ms. Davi Aquino pelo auxílio e incentivo nos momentos cruciais, sem os quais este trabalho não teria se realizado.

Aos professores do Programa de Mestrado da Universidade de Taubaté.

À Juliana Vieira Frezza Bernardes, Wander Pompermayer Carneiro e Larissa de Almeida Bonfim pela inestimável ajuda na realização deste trabalho.

Aos cirurgiões dentistas que gentilmente permitiram a coleta das amostras.

Se, a princípio, a idéia não é absurda,
então não há esperança para ela

Albert Einstein

RESUMO

Neste estudo, hipotetizou-se que existia alta incidência de cirurgiões dentistas com baixa cobertura vacinal para hepatite B e positividade para contato prévio ou corrente para a hepatite viral do tipo B. O presente estudo transversal avaliou a condição vacinal e perfil sorológico dos cirurgiões dentistas para hepatite viral do tipo B no município de Porto Velho/RO - Brasil. Foram analisadas pela técnica de ELISA oitenta amostras de sangue (soro) dos cirurgiões dentistas residentes no município de Porto Velho/RO, visando a detecção dos marcadores sorológicos do Vírus da hepatite B: HBsAg, anti HBc total, anti-HBc IgM e anti-HBs. As amostras anti HBc Total positivas foram testadas para o marcador anti HBc IgM. Foram analisados os achados laboratoriais com dados de formação profissional, uso de equipamento de proteção individual (EPI) e índice vacinal entre os profissionais. Os dados foram comparados utilizando-se o teste Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). Dos cirurgiões dentistas avaliados, 45% faziam clínica geral e 38% relataram atualizar-se profissionalmente uma vez ao ano. A maioria ($p < 0,05$) dos participantes (59%) recebeu as três doses da vacina contra hepatite B e 11% apenas duas doses. Dentre os que receberam três doses a maior ($p < 0,05$) frequência (47%) apresentou soroconversão decorrente da vacinação. Embora abaixo do número esperado de 100%, a maioria dos cirurgiões dentistas de Porto Velho recebeu as três doses da vacina o que em geral acarretou imunidade. Entretanto, o perfil sorológico nem sempre foi compatível com a cobertura vacinal. Nossos achados sugerem a necessidade de execução de provas laboratoriais para confirmação e/ou monitoramento do perfil sorológico decorrente da vacinação contra hepatite B.

Palavras-chave: Hepatite B. HBsAg. Anti-HBs. Soroprevalência. Vacinação. Cirurgiões dentistas.

ABSTRACT

This search supposed that it had a high incidence of dentists with low vaccine covering for hepatitis B and a positive for previous or current contact for the virus hepatitis of type B. The transversal study evaluated the vaccine's condition and serum profile of the dentists for viral hepatitis of type B in Porto Velho's city in Rondonia's state– Brazil. eighty samples of blood (serum) of the resident surgeons had been analyzed by the ELISA's technique of the dentists in Porto Velho's city, to only find out about the serum's detention markers of the Virus of hepatitis B: HBsAg, anti total HbC, anti-HbC IgM and anti-HBs. The positive samples anti Total HbC had been tested for the marker anti HbC IgM. And also it had been analyzed at the lab findings with data of professional formation, equipment used as an individual protection (EPI) and vaccine index between the professionals. The data had been compared using the test Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) from the people that had been participated. As a result we can say that from dentists analyzed, 45% were in a general clinical and 38% told that to bring up to date once a year. Most of them (59%) received three quantities against Hepatitis B and 11% only with two quantities. Between the people that received three quantities, showed another serum due to the vaccine. Although the number was not expected, most of the dentists from Porto Velho received three doses of the vaccine which it caused immunity. However, the serum profile nor always it was compatible the vaccine covering. Our findings suggest the necessity of execution of lab's tests for confirmation and/or a coordination of the serum profile of the vaccination against hepatitis B.

Key words: Hepatitis B. HBsAg. Anti-HBs. Serumprevalence. Vaccination coverage. surgeons dentists.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Hepatite B: Interpretação dos resultados sorológicos	27
Tabela 2- Caracterização da população estudada de acordo com a idade, gênero e tempo de moradia em Porto Velho	29
Tabela 3- Utilização de luva, máscara e óculos de proteção	32

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Protocolo de execução dos ensaios Imunoenzimáticos	25
Figura 2- Nacionalidade dos indivíduos	30
Figura 3- Naturalidade dos indivíduos incluídos de acordo com as macro-regiões brasileiras	30
Figura 4- Distribuição da população estudada de acordo com o hábito de fumar	31
Figura 5- Distribuição da população estudada de acordo com nível sócio-econômico	31
Figura 6- Distribuição da população estudada de acordo com a área de atuação profissional	32
Figura 7- Distribuição da população estudada de acordo com a execução da lavagem de instrumentais cirúrgicos	33
Figura 8- Distribuição da população estudada de acordo com a frequência de atualização profissional	33
Figura 9- Distribuição da população estudada de acordo com o histórico familiar de doenças correlacionadas com hepatite viral	34
Figura 10- Distribuição da população estudada de acordo com a característica de vacinação recebida	35
Figura 11- Distribuição dos cirurgiões dentistas vacinados com três doses de vacina em função da característica imunológica	35
Figura 12- Distribuição dos cirurgiões dentistas vacinados com duas doses de vacina em função da característica imunológica	36

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

HBV	Vírus da Hepatite B
HAV	Vírus da Hepatite A
HCV	Vírus da Hepatite C
HDV	Vírus da Hepatite D
HEV	Vírus da Hepatite E
HBsAg	Antígeno de superfície do vírus da hepatite B
Anti –HBs	Anticorpo contra o antígeno de superfície da hepatite B
Anti-HBc Total	Anticorpos totais contra o antígeno C da hepatite B
Anti-HBc IgM	Anticorpos da classe IgM contra o antígeno C da hepatite B
Anti- HDV Total	Anticorpos totais contra o Vírus da Hepatite Delta
Anti- HCV Total	Anticorpos totais contra o Vírus da Hepatite C
EPI	Equipamento de proteção individual

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 HISTÓRICO	15
2.2 CLASSIFICAÇÃO DAS HEPATITES VIRAIS	16
2.2.1 Hepatite A	17
2.2.2 Hepatite B	18
2.2.3 Hepatite C	19
2.2.4 Hepatite D	20
2.2.5 Hepatite E	21
3 PROPOSIÇÃO	22
4 METODOLOGIA	23
4.1 POPULAÇÃO DO ESTUDO	23
4.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	24
4.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	24
4.4 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL	24
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	27
5 RESULTADOS	29
6 DISCUSSÃO	37
7 CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS	42
APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO	46
APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO - CIRURGIÃO DENTISTA	48
ANEXO A - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	52
ANEXO B - TESTES DOS ENSAIOS IMUNOENZIMÁTICOS	53

1 INTRODUÇÃO

A Hepatite B, doença viral causada pelo Vírus da Hepatite B (HBV), é uma das infecções mais comuns no mundo, com estimativas entre trezentos e cinquenta milhões e quatrocentos milhões de portadores (COLSON et al., 2007; EL KHOURI et al., 2005; EL-ZAATARI et al., 2007; LAVANCHY, 2004; SILVA et al., 2005). Esta doença é considerada como a décima causa mundial de morte, sendo responsável por quinhentos mil a um milhão e meio de óbitos em todo o mundo (BLUMBERG, 1997; LAVANCHY, 2004). A América Latina é uma das principais fontes mundiais com ocorrência de quatrocentos mil casos novos a cada ano, devido, principalmente, ao aporte de imigrantes vindos de países de alto risco para hepatite B crônica (DEHESA-VIOLANTE; NUNEZ-NATERAS, 2007).

Entre 50% (LAVANCHY, 2004) e 90% (FERREIRA; SILVEIRA, 2006) da população mundial reside em áreas de alta prevalência para o HBV. Na África subsaariana, no pacífico e na Ásia a infecção pelo HBV é altamente endêmica, acometendo a maioria dos indivíduos ainda na infância (FERREIRA; SILVEIRA, 2006; LAVANCHY, 2004). Fora das áreas endêmicas, as regiões com taxas altas de infecção crônica de HBV incluem partes do sul e leste da Europa Central, Bacia Amazônica, Oriente Médio e o subcontinente asiático (BLUMBERG, 1997; LAVANCHY, 2004).

O HBV é altamente resistente a mudanças bruscas e pode sobreviver fora do hospedeiro e é facilmente transmitido por contato com fluidos corpóreos infectados (LEGGAT et al., 2007). Nas áreas de alta endemicidade, a via mais comum de transmissão é perinatal ou a infecção é adquirida durante os anos pré-escolares.

Nas áreas de endemicidade intermediária a transmissão é perinatal ou horizontal, enquanto que nas de baixa endemicidade a transmissão se dá em adultos através do abuso de drogas intravenosas e sexo desprotegido (ILGÜY et al., 2006; LAVANCHY, 2004).

Conseqüentemente os fatores de risco conhecidos para hepatite B incluem transfusão, agulha compartilhada por usuários de drogas intravenosas, reutilização de agulhas de acupuntura, piercing, tatuagem, transmissão sexual, transmissão perinatal, homens que fazem sexo com homens, promiscuidade heterossexual, imunossuprimidos, pacientes em terapia renal substitutiva, transplantes e transmissão nos cuidados de saúde (BLUMBERG, 1997; DEHESA-VIOLANTE; NUNEZ-NATERAS, 2007; LAVANCHY, 2004).

Dentre as medidas preventivas, além da vacina - no caso das hepatites B e D, o uso de Equipamento de proteção Individual – EPI, tais como jaleco, óculos de proteção luvas, toucas, dentre outros, é a principal barreira de contenção contra a transmissão das hepatites virais. (AMMON et al., 2000; CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2007; MARTINS; BARRETO; 2003; TOROGLU et al., 2003). As três principais hepatites virais, tipos B, C e D têm transmissibilidade relacionada às práticas odontológicas e a única com vacina disponível é a do tipo B, cujo efeito atua indiretamente contra a hepatite D (FARIBA; MURPHY; KOTELCHUCK, 2001; KOHN et al., 2003). A vacinação para os profissionais de saúde no Brasil é realizada gratuitamente nos postos de saúde. O esquema vacinal é realizado em três doses, primeiro dia, trigésimo dia e a última cento e oitenta dias após a primeira dose (MARTINS; BARRETO, 2003; WEINSTOCK et al., 1995).

Infecções cruzadas podem ocorrer com a transmissão de agentes infecciosos entre pacientes e a equipe odontológica dentro do ambiente da clínica ou

consultório odontológico e podem se espalhar nas clínicas por intermédio do contato pessoa a pessoa ou através de objetos contaminados. Inalação, inoculação e raramente contato direto são as formas do patógeno obter acesso aos tecidos do hospedeiro nesse tipo de ambiente (ILGÜY et al., 2006; MONARCA et al., 2008; TOROGLU et al., 2003).

A adoção de medidas preventivas na prática odontológica é primordial no controle de infecções cruzadas nos consultórios (ZHOU et al., 2006), especialmente as hepatites virais, com destaque para a hepatite B que apresenta maior risco de contaminação, sobretudo pelas características de transmissibilidade do Vírus HBV e principalmente pela formação de aerossol durante os procedimentos contendo partículas virais e pela ergonomia envolvida nas técnicas utilizadas pelo cirurgião dentista, muito próximo da boca do paciente (AMMON et al., 2000; TOROGLU et al., 2003).

Diante do risco eminente dos cirurgiões dentistas a este patógeno, este trabalho teve o objetivo de avaliar a condição vacinal e perfil sorológico dos cirurgiões dentistas para a hepatite viral do tipo B.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 HISTÓRICO

O avanço da medicina observado na primeira metade do século vinte estabeleceu a existência de diversas formas de hepatites infecciosas e com diferentes agentes etiológicos e vias de transmissão. Isso, por sua vez, levou à adoção de medidas preventivas, desenvolvimento de vacinas e imunização passiva e mais recentemente um promissor tratamento efetivo, porém as hepatites continuam sendo um sério problema de saúde pública e devem estar sempre na mente de todo clínico (PEREZ, 2002; WEINSTOCK et al., 1995).

A icterícia epidêmica foi a primeira manifestação reconhecida de hepatite e esteve fortemente associada a guerras, fome e outras catástrofes da antiguidade. De fato, no decorrer da história a epidemia de hepatite devastou exércitos, incluindo a guerra civil americana, onde mais de setenta mil soldados do exército da união adoeceram e nas duas grandes guerras incontáveis soldados foram afligidos (BLUMBERG, 1997; BLUMBERG, 2006).

Esta discussão, quanto à natureza viral das hepatites, foi mais enfática na ocorrência do maior surto da doença em 1942, em mais de trinta mil conscritos americanos, que haviam sido inoculados com a vacina da febre amarela, dos quais sessenta e dois morreram. A vacina era filtrada para eliminar bactérias, mas este e outros incidentes deram suporte para a afirmação de McDonald, em 1908, que a patogenia pelos vírus estava apenas emergindo e que as hepatites eram uma

infecção viral. MacCallum, em 1909, relatou estudos em voluntários que permitiram esclarecer a diferenciação de pelo menos dois tipos de hepatites: uma forma epidêmica, hepatite A (também denominada, icterícia epidêmica) que é transmitida por água e alimentos contaminados e uma forma esporádica, hepatite B (também denominada hepatite sérica) que é disseminada por transfusão sanguínea, seringas contaminadas e contato sexual íntimo (BLUMBERG, 1997; PEREZ, 2002).

Existe ainda a infecção oculta do vírus da hepatite B (HBV) que pode ser definida pela presença do HBV-DNA no sangue ou fígado na ausência de níveis detectáveis do Antígeno de Superfície da Hepatite B (HBsAg). Embora a infecção oculta pelo HBV seja mais comum em indivíduos com evidência sorológica (18%) de recuperação de exposição recente ao HBV (anti-Hbc e anti-HBs respectivamente, positivos), também foram descritos casos em soronegativos (8,1%) para o HBV-anti-Hbc e anti-HBs negativos (BRANCO et al., 2007; MINUK et al., 2005).

2.2 CLASSIFICAÇÃO DAS HEPATITES VIRAIS

As Hepatites virais são um grupo de doenças com aspectos clínicos semelhantes, as quais acometem o fígado causando inflamação. Os agentes infecciosos são pelo menos cinco diferentes tipos de vírus, sem conexão entre si; Vírus da Hepatite A (HAV), Vírus da Hepatite B (HBV), Vírus da Hepatite C (HCV), Vírus da hepatite Delta (HDV) e Vírus da Hepatite E (HEV) (BLUMBERG, 1997).

O diagnóstico é feito através de testes imunológicos para a detecção de marcadores sorológicos, característicos para cada tipo de hepatite.

2.2.1 Hepatite A

Doença viral aguda que apresenta manifestações clínicas variadas desde formas subclínicas até formas fulminantes, geralmente a doença apresenta manifestações benignas. Na maioria das vezes as infecções são anictéricas, os sintomas se assemelham a uma síndrome gripal, porém há elevação das transaminases. O HAV é um vírus RNA da família *Picornaviridae* (FERREIRA, 2004; PEREZ, 2002).

O período de incubação tem duração de 15 a 45 dias, média de trinta dias e a forma de transmissão é fecal-oral, veiculação hídrica, pessoa a pessoa (contato intra-familiar e institucional), alimentos e objetos contaminados. A transmissão percutânea (inoculação acidental) e parenteral (transfusão) raramente acontecem devido ao curto período da viremia (BRASIL, 2004; PEREZ, 2002). Por suas características eminentemente agudas e por não ter relação significativa com doença ocupacional entre cirurgiões dentistas esta hepatite não foi estudada neste trabalho (AMMON et al., 2000; LOPES et al., 2001; MARTINS; BARRETO, 2003; SCULLY; GREENSPAN, 2006).

2.2.2 Hepatite B

Doença viral que se apresenta de forma assintomática ou sintomática. Em sua forma sintomática é caracterizada por mal-estar, cefaléia, febre baixa, anorexia, astenia, fadiga, artralgia, náuseas, vômitos, desconforto no hipocôndrio direito e aversão a alguns alimentos e a tabaco. A icterícia geralmente inicia-se quando a febre desaparece e pode ser precedida por colúria e hipocolia fecal (BRASIL, 2005; DEPAOLA, 2003). Hepatomegalia ou hepatoesplenomegalia também podem estar presentes. Na forma aguda o tratamento é de suporte e os sintomas vão desaparecendo paulatinamente. Aproximadamente 5% a 10% dos adultos contaminados (BLUMBERG, 2006; EL KHOURI et al., 2005) e 40% a 90 % dos neonatos contaminados desenvolvem a forma crônica mantendo um processo inflamatório hepático de seis meses a vários anos (BRASIL, 2004; BRÉCHOT et al., 2001).

O HBV é um vírus DNA, família *Hepadnavirida* (BRASIL, 2005; EL KHOURI; SANTOS, 2004) e a transmissão pode ser por prática de sexo desprotegido, transfusões de sangue, procedimentos médicos e odontológicos e hemodiálises sem as adequadas normas de biossegurança; transmissão vertical (mãe-filho), contatos íntimos domiciliares (compartilhamento de escova dental e lâminas de barbear), através de acidentes com perfuro-cortantes, compartilhamento de seringas e de material para a realização de tatuagens e piercing (KOHN, 2003; LAVANCHY, 2004; PEREZ, 2002; VERONESI et al., 2004).

O período de incubação tem duração de trinta a 180 dias (BRASIL, 2004).

2.2.3 Hepatite C

Doença viral com infecções assintomáticas ou sintomáticas. Nas formas sintomáticas, muito similares à Hepatite B podem apresentar mal-estar, cefaléia, febre baixa, anorexia, astenia, fadiga, artralgia, náuseas, vômitos, desconforto no hipocôndrio direito e aversão a alguns alimentos e a tabaco. A icterícia é encontrada entre 18 a 26% dos casos de hepatite aguda e inicia-se quando a febre desaparece, podendo ser precedida por colúria e hipocolia fecal (BRASIL, 2004; DEPAOLA, 2003).

Pode haver também hepatomegalia ou hepatoesplenomegalia. Na forma aguda os sintomas vão desaparecendo paulatinamente. Dos indivíduos infectados, aproximadamente 70% a 85% desenvolvem hepatite crônica mantendo um processo inflamatório hepático por vários meses até anos. (DEHESA-VIOLANTE; NUNEZ-NATERAS, 2007). Destas pessoas, 20% a 30% evoluem para cirrose e dos cirróticos 1,0% a 5,0% desenvolvem hepatocarcinoma (FERREIRA, 2004).

O HCV é um vírus RNA, família *Flaviviridae*, com período de incubação de 15 a 150 dias cuja transmissão acontece principalmente por via percutânea, especialmente nas transfusões sanguíneas. Indivíduos que receberam transfusão de sangue e/ou hemoderivados antes de 1993, compartilhamento de seringas, tatuagem, piercing ou outras formas de exposição percutânea têm risco aumentado (SHAH; MERCHANT; DOSMAN, 2006). A transmissão por via sexual pode ocorrer principalmente em indivíduos promíscuos que pratiquem sexo desprotegido, embora seja mais baixa em comparação à hepatite B (BRASIL, 2005; DE PAOLA, 2003). A

transmissão vertical geralmente é muito baixa e ocorre, na maioria das vezes no momento do parto ou logo após quando a carga viral materna está aumentada (FERREIRA, 2004; PEREZ, 2002).

2.2.4 Hepatite D

Doença viral aguda que pode evoluir para forma crônica. Apresenta-se como infecção assintomática, sintomática ou como formas gravíssimas, resultando em óbito. O vírus HDV ou delta é altamente patogênico e infeccioso (BRASIL, 2005; PEREZ, 2002). A transmissão pode ocorrer junto com o HBV a indivíduos sem contato prévio com a Hepatite B, caracterizando a co-infecção e também pode ser transmitido a indivíduos já portadores de HBsAg, caracterizando a superinfecção (COLSON et al., 2007).

Excepcionalmente pode evoluir para formas crônicas e fulminantes de hepatite. Na superinfecção o prognóstico é pior, pois o HDV encontra condição ideal para intensa replicação, produzindo danos hepáticos de gravidade acentuada e evolução para cirrose hepática. A forma doença crônica cursa geralmente com períodos de febre, icterícia, epistaxe, astenia, artralgia e esplenomegalia (BRASIL, 2004).

O vírus da Hepatite Delta (HDV) é um vírus RNA, família *Deltaviridae*, considerado defeituoso por necessitar do antígeno protéico HBsAg para se tornar infectante, portanto infecta apenas portadores de hepatite B (KOHN et al., 2003; PEREZ, 2002).

A via de transmissão é a mesma da Hepatite B, ou seja, percutânea, sexual, vertical, fluidos orgânicos, dentre outras. O período de incubação varia de trinta a 180 dias (BRASIL, 2004; KOHN et al., 2003).

2.2.5 Hepatite E

A Hepatite E é um tipo de hepatite epidêmica, veiculada pela água e alimentos, semelhante à hepatite A, descrita inicialmente na Índia (PEREZ, 2002). Doença viral aguda e autolimitada que apresenta evolução benigna, embora a população de maior risco seja a das gestantes. Apresenta-se de forma assintomática (usualmente em crianças) ou com sintomas semelhantes à hepatite A com icterícia observada na maioria dos pacientes. A sintomatologia é caracterizada por mal-estar, cefaléia, febre baixa, anorexia, astenia, fadiga, intensa, artralgia, náuseas, vômitos, desconforto abdominal (BRASIL, 2005; PEREZ, 2002).

O modo de transmissão é fecal-oral, principalmente por veiculação hídrica e alimentar, além de objetos contaminados por dejetos (KOHN et al., 2003; PEREZ, 2002). Por suas características primordialmente de manifestações agudas e por não ter relação significativa com doença ocupacional entre cirurgiões dentistas esta hepatite não foi estudada neste trabalho (AMMON et al., 2000; LOPES et al., 2007; MARTINS; BARRETO, 2003; SCULLY; GREENSPAN, 2006).

3 PROPOSIÇÃO

O estudo teve como objetivo avaliar a cobertura vacinal e perfil sorológico dos cirurgiões dentistas para a hepatite do tipo B em Porto Velho - Rondônia, uma das regiões endêmicas do Brasil.

4 METODOLOGIA

Este estudo foi previamente submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade São Lucas (Anexo A). Os voluntários foram selecionados aleatoriamente nos consultórios do município de Porto Velho.

Após assinado o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A), foram coletados dados por meio de questionário auto-aplicável aos cirurgiões dentistas (Apêndice B) para delinear a situação sócio-econômica (Classes econômicas A1, A2, B1, B2, C, D e E), práticas de proteção individual (Uso de luvas, máscaras e óculos de proteção individual) e características profissionais (Área de atuação, frequência de atualizações e tempo de atuação). O questionário não incluiu informações que permitissem a identificação dos participantes. Logo após, foram realizadas as coletas das amostras sanguíneas por uma Biomédica.

4.1 POPULAÇÃO DO ESTUDO

Foram avaliados oitenta cirurgiões dentistas através de aplicação de questionário e realização dos marcadores sorológicos HBsAg, anti HBc total, anti Hbc IgM e anti-HBs pela da técnica de *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*-ELISA (DiaSorin®, Saluggia, Itália).

4.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos neste estudo cirurgiões dentistas das diversas especialidades de ambos os gêneros, de todas as idades, apresentando ou não carteira de vacinação, que atuassem em consultórios do município de Porto Velho/RO - Brasil.

4.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos do estudo, indivíduos que apresentaram previamente doença crônica hepática não relacionada a casos de hepatites virais; pacientes declaradamente portadores de hepatite viral tipo B em fase de tratamento e/ou convalescência e pacientes imunossuprimidos.

4.4 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Para o diagnóstico laboratorial foram coletadas, por uma Biomédica, amostras sanguíneas por punção venosa de todos os voluntários na posição sentada. O braço do paciente devia estar posicionado em uma linha reta do ombro ao punho, para que as veias ficassem mais acessíveis e o paciente confortável. O

cotovelo não devia estar dobrado e a palma da mão voltada para cima. Foi utilizado garrote durante a coleta para que as veias ficassem proeminentes.

O garrote foi posicionado a dez centímetros do local da punção e não permaneceu mais de um minuto no braço do paciente (BRASIL, 2001). Devido às características anatômicas de cada paciente elegemos uma dentre três para a punção: Veia mediana cefálica, Veia mediana cubital e veia longitudinal. Foi feita antisepsia com álcool a 70% aplicado com algodão hidrófilo. A coleta foi feita com a técnica à vácuo, em tubos sem anti-coagulante (tubo seco) da marca Vacuette®, com volume aproximado de cinco mililitros, o mesmo foi acondicionado em recipiente refrigerado com gelo artificial (Valdequímica®, São Paulo, Brasil) e lacrado de fábrica para não ter contato com as amostras.

As amostras foram enviadas imediatamente ao laboratório para processamento onde foi efetuada a separação do soro da parte sólida do sangue através de centrifugação a 3.000 rpm, o soro foi armazenado em tubetes de polietileno com capacidade para cinco mililitros da marca AXYGEN® conservados a -20 °C e o coágulo foi autoclavado e descartado conforme as normas de biossegurança do laboratório. Os testes foram feitos em duplicata pela técnica ELISA (DiaSorin®, Saluggia, Itália) utilizando os protocolos descritos a seguir:

Etapa	HBsAg	Anti-HBs
1	Distribuir 100 µL de controle negativo, controle positivo e amostras nos respectivos poços.	Distribuir 100 µL de tampão de incubação em todos os poços, exceto no branco. Distribuir 100 µL de calibrador, controle negativo, controle positivo e amostras nos respectivos poços.
2	Incubar durante uma hora ± 15 min a $37 \pm 1^\circ$ C, em câmara úmida.	Incubar durante duas horas ± 15 min a $37 \pm 1^\circ$ C, em câmara úmida.
3	Proceder cinco ciclos de lavagem.	Proceder cinco ciclos de lavagem.
4	Distribuir 100 µL de conjugado enzimático diluído em todos os poços, exceto no branco.	Distribuir 100 µL de conjugado enzimático diluído em todos os poços, exceto no branco.

5	Incubar durante uma hora ± 15 min a 37 ± 1 °C, em câmara úmida.	Incubar durante uma hora ± 15 min a 37 ± 1 °C, em câmara úmida.
6	Distribuir 100 μ L de cromógeno/substrato em todos os poços.	Distribuir 100 μ L de cromógeno/substrato em todos os poços.
7	Incubar durante 30 ± 2 min à temperatura ambiente, ao abrigo da luz intensa.	Incubar durante 30 ± 2 min à temperatura ambiente, ao abrigo da luz intensa.
8	Distribuir 100 μ L de solução de parada em todos os poços.	Distribuir 200 μ L de solução de parada em todos os poços.
9	Medir a absorbância da solução contida em cada poço em fotocolorímetro a 450/630 nm até uma hora após a adição da solução de parada.	Medir a absorbância da solução contida em cada poço em fotocolorímetro a 450/630 nm até uma hora após a adição da solução de parada.
10	Ponto de corte = CN + 0,030.	Ponto de corte = 10 UI/L(Cal 1)
11	Interpretação do resultado: Indeterminado: $\pm 10\%$ do valor de corte (zona duvidosa). Reagente: Valores acima da zona duvidosa. Não reagente: Valores abaixo da zona duvidosa	Interpretação do resultado: Indeterminado: $\pm 10\%$ do valor de corte (zona duvidosa). Reagente: Valores acima da zona duvidosa. Não reagente: Valores abaixo da zona duvidosa
Etapa	Anti-HBc Total	Anti-HBc IgM
1	Distribuir 50 μ L de tampão de incubação em todos os poços, exceto no branco, a seguir distribuir 50 μ L de calibrador, controle negativo, controle positivo e amostras nos respectivos poços. Distribuir 50 μ L de solução de neutralização em todos os poços, exceto no branco.	Distribuir 100 μ L de controle negativo, controle positivo e amostras nos respectivos poços.
2	Incubar durante duas horas ± 15 min a 37 ± 1 ° C, em câmara úmida.	Incubar durante duas horas ± 15 min a 37 ± 1 ° C, em câmara úmida.
3	Proceder cinco ciclos de lavagem.	Proceder cinco ciclos de lavagem.
4	Distribuir 100 μ L de conjugado enzimático diluído em todos os poços, exceto no branco.	Distribuir 100 μ L de conjugado enzimático diluído em todos os poços, exceto no branco.
5	Incubar durante uma hora ± 15 min a $37^{\circ}\text{C} \pm 1$, em câmara úmida.	Incubar durante uma hora ± 15 min a $37^{\circ}\text{C} \pm 1$, em câmara úmida.
6	Distribuir 100 μ L de cromógeno/substrato em todos os poços.	Distribuir 100 μ L de cromógeno/substrato em todos os poços.
7	Incubar durante 30 ± 2 min à temperatura ambiente, ao abrigo da luz intensa.	Incubar durante 30 ± 2 min à temperatura ambiente, ao abrigo da luz intensa.
8	Distribuir 100 μ L de solução de parada em todos os poços.	Distribuir 100 μ L de solução de parada em todos os poços.
9	Medir a absorbância da solução contida em cada poço em fotocolorímetro a 450/630 nm até uma hora após a adição da solução de parada.	Medir a absorbância da solução contida em cada poço em fotocolorímetro a 450/630 nm até uma hora após a adição da solução de parada.

10	Ponto de corte = 0,300 x Cal.	Ponto de corte = Cal + 0,200
11	<p>Interpretação do resultado: Indeterminado: ± 10% do valor de corte (zona duvidosa). Reagente: Valores abaixo da zona duvidosa. Não reagente: Valores acima da zona duvidosa.</p>	<p>Interpretação do resultado: Indeterminado: ± 10% do valor de corte (zona duvidosa). Reagente: Valores acima da zona duvidosa. Não reagente: Valores abaixo da zona duvidosa.</p>

Figura 1 - Protocolo de execução dos ensaios Imunoenzimáticos

A interpretação dos resultados se deu mediante comparação com a tabela de interpretação dos marcadores, apresentada abaixo:

Tabela 1- Hepatite B: Interpretação do resultados sorológicos

Interpretação	HBsAg	Anti-HBc IgM	Anti-HBC Total	Anti HBS
Susceptível	- ¹	-	-	-
Fase Crônica	+ ²	-	+	-
Imunidade, infecção passada.	-	-	+	+
Imunidade, vacina.	-	-	-	+

¹ Não reagente; ² Reagente
 Fonte: Brasil (2005)

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para obtenção do número de indivíduos a serem incluídos no presente estudo, foi realizado um teste estatístico para cálculo amostral. Para tanto, partindo do total possível/disponível de indivíduos a serem examinados (trezentos profissionais), segundo informações do Conselho Regional de Odontologia de Rondônia, foi realizado um cálculo amostral com o teste *t* para amostras independentes. Para tanto, utilizou-se o software *Bio Estat* 4.0, adotando significância estatística de 95% e Power de 0,90.

O resultado do teste sugeriu a avaliação de oitenta profissionais.

Foram considerados vacinados apenas os indivíduos que apresentaram a carteira de vacinação devidamente preenchida.

Para a análise das características demográficas e profissionais bem como cobertura vacinal e perfil sorológico foi utilizado o teste Kruskal Wallis, com significância ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS

Foram incluídos no presente estudo oitenta voluntários de 22 a 55 ($35,69 \pm 8,58$) anos de idade, sendo 28 homens e 52 mulheres. Os dados demográficos da população estudada estão descritos na Tabela 2.

A grande maioria ($p < 0,05$) dos voluntários apresentou nacionalidade brasileira (Figura 2). Em relação a naturalidade dos indivíduos brasileiros, a maior parte era proveniente das macro-regiões Sudeste e Norte (Figura 3). Além disso, a maior ($p < 0,05$) parte dos indivíduos se declarou não fumante (figura 4) e a avaliação do nível sócio-econômico mostrou que a maioria ($p < 0,05$) dos voluntários era das classes sociais A2, B1 e C (Figura 5).

Tabela 2 – Caracterização da população estudada de acordo com a idade, gênero e tempo de médio de moradia em Porto Velho

TEMPO MÉDIO DE MORADIA	MASCULINO	FEMININO	TOTAL
< 5 Anos	7	12	19
5 – 10 Anos	6	9	15
11 – 15 Anos	5	4	9
16 – 20 Anos	0	7	7
> 20 anos	10	20	30
Total	28 ($38,03 \pm 9,02$)	52 ($34,42 \pm 8,14$)	80 ($35,69 \pm 8,58$)

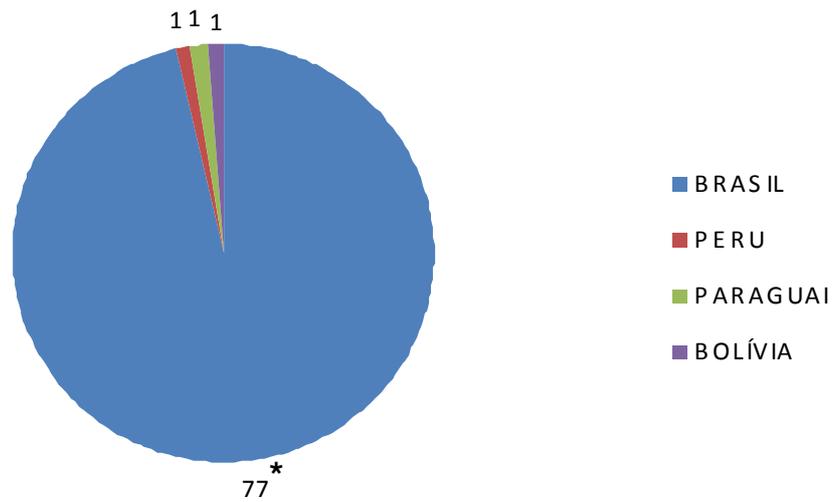


Figura 2 – Nacionalidade dos indivíduos
 * - Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Teste Kruskal Wallis

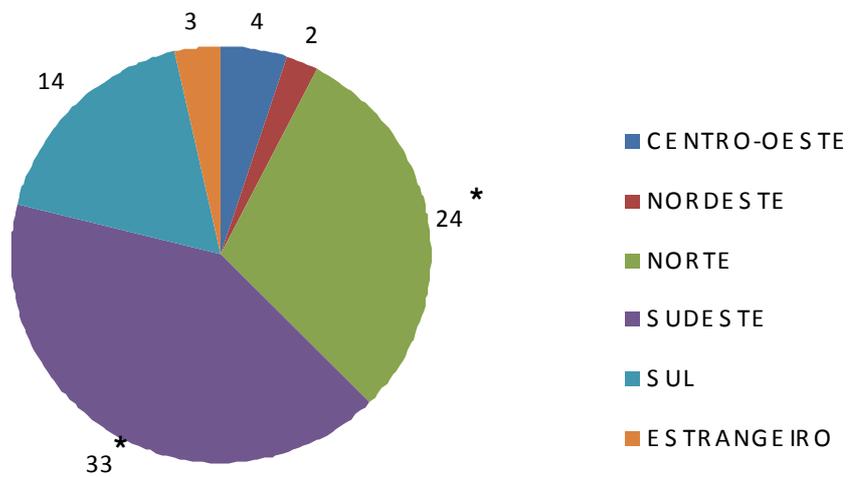


Figura 3 – Naturalidade dos indivíduos incluídos de acordo com as macro-regiões brasileiras
 * - Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Teste Kruskal Wallis

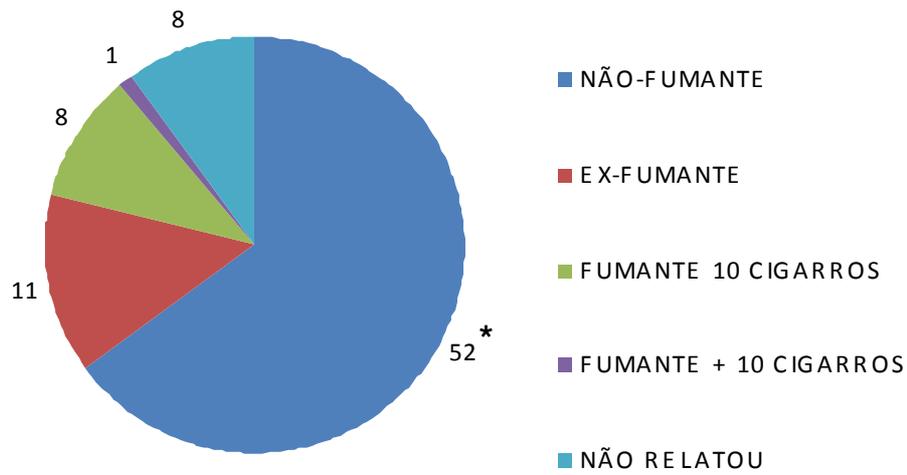


Figura 4 - Distribuição da população estudada de acordo com o hábito de fumar
* - Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Teste Kruskal Wallis

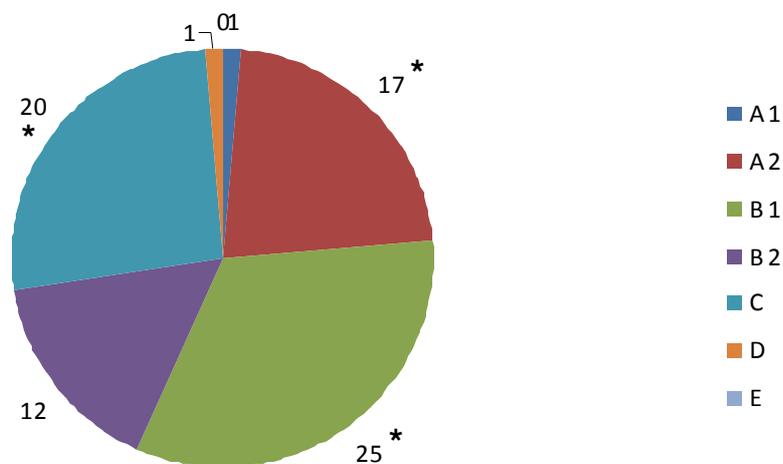


Figura 5 – Distribuição da população estudada de acordo com nível sócio-econômico
* - Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Teste Kruskal Wallis

Quanto a área de atuação, a maior ($p < 0,05$) parte dos profissionais declarou praticar atividades de clínica geral (Figura 6).

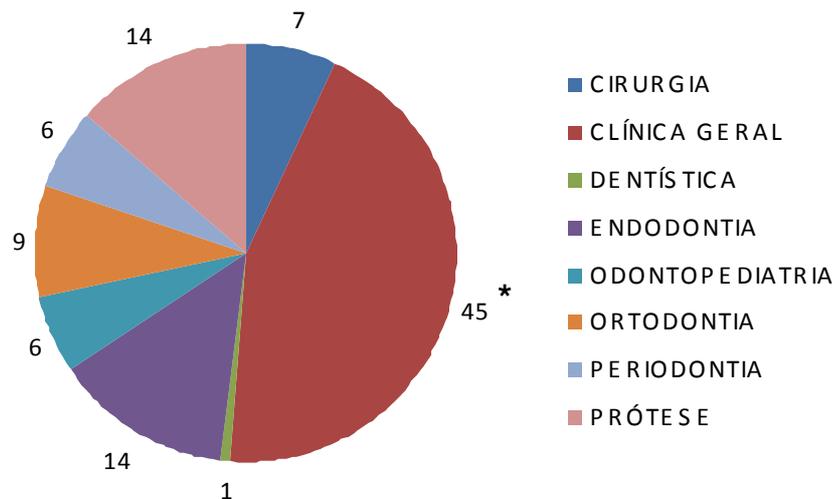


Figura 6 – Distribuição da população estudada de acordo com a área de atuação profissional

* - Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Teste Kruskal Wallis

Quando questionados quanto à utilização dos equipamentos de proteção individual, a maior ($p < 0,05$) parte dos entrevistados afirmou utilizar luva, máscara e óculos de proteção desde o curso de graduação em Odontologia (Tabela 3). Os participantes afirmaram ($p < 0,05$) ainda que a lavagem dos instrumentais clínicos é realizada frequentemente por seus auxiliares (Figura 7)

Em relação à freqüência de atualização profissional, a maioria dos cirurgiões dentistas declarou se atualizar anual ou semestralmente como mostra a Figura 8.

Tabela 3 – Utilização de Luva, máscara e óculos de proteção

	LUVA	MÁSCARA	ÓCULOS
Faculdade	69*	72*	59*
5 Anos	1	1	7
10 Anos	3	2	2
15 Anos	6	3	6
Eventualmente	0	0	4
Não resposta	1	2	2
Total	80	80	80

* - Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Teste Kruskal Wallis

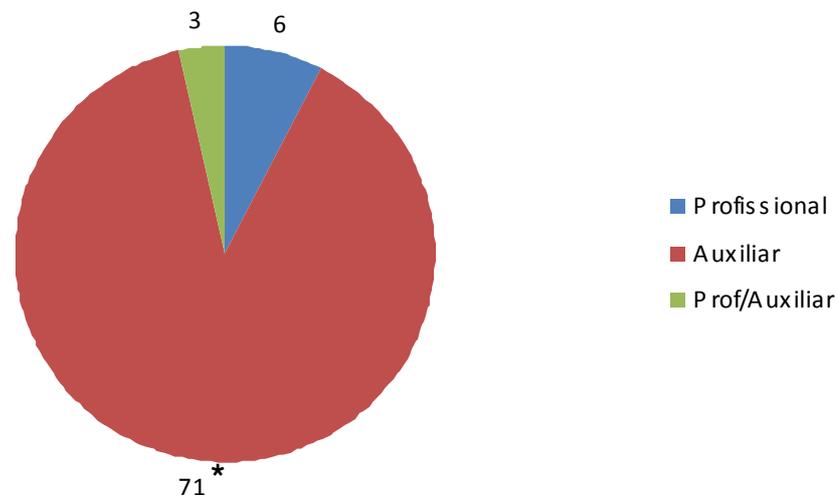


Figura 7 – Distribuição da população estudada de acordo com a execução da lavagem dos instrumentais clínicos

* - Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Teste Kruskal Wallis

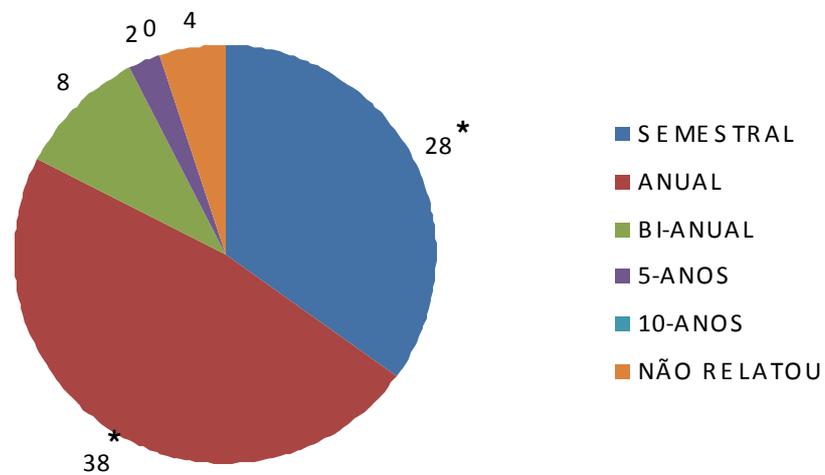


Figura 8 – Distribuição da população estudada de acordo com a freqüência de atualização profissional

- Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Teste Kruskal Wallis

A Figura 9 demonstra que a avaliação do histórico familiar não revelou ocorrência significativa de doenças correlatas com Hepatite ($p < 0,05$).

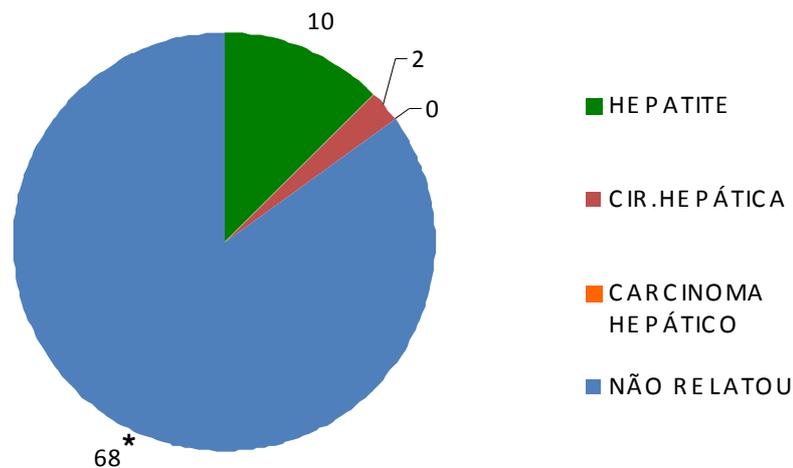


Figura 9 – Distribuição da população estudada de acordo com o histórico familiar de doenças correlacionadas com hepatite viral

* - Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Test Kruskal Wallis

Quando avaliado o sistema de vacinação, observou-se que a maior ($p < 0,05$) parte dos indivíduos foi submetido à vacinação com três doses (Figura 10). Nesses indivíduos, a maioria ($p < 0,05$) tornou-se imune a patologia pela ação da vacina, porém, alguns indivíduos não apresentaram soroconversão mesmo após a vacinação (Figura 11). Para os indivíduos vacinados com duas doses, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre estar imune ou susceptível a patologia (Figura 12).

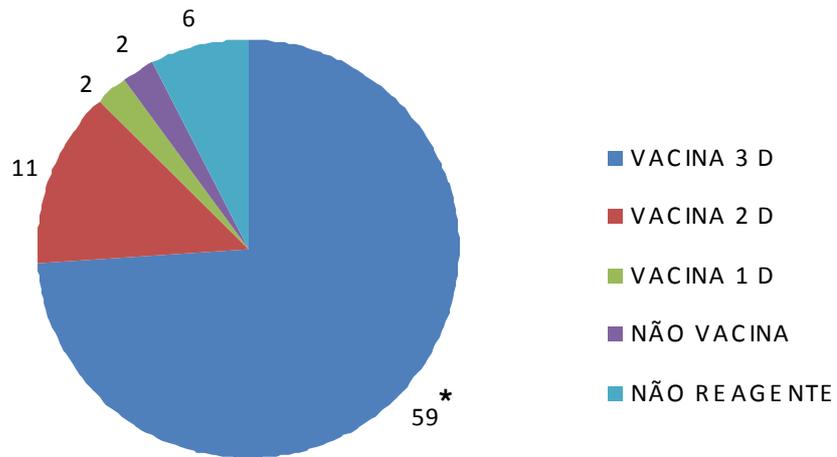


Figura 10 – Distribuição da população estudada de acordo com a característica das doses vacinais recebidas

* - Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Test Kruskal Wallis

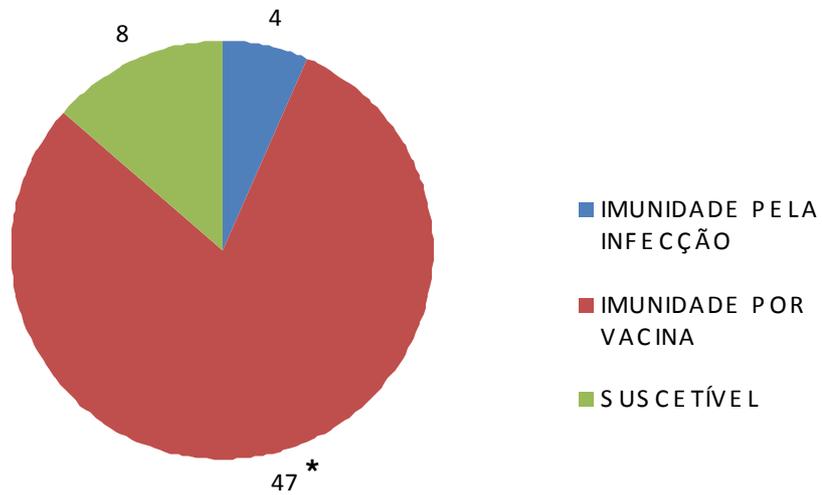


Figura 11 – Distribuição dos cirurgiões dentistas vacinados com três doses de vacina em função da característica imunológica

*- Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Test Kruskal Wallis

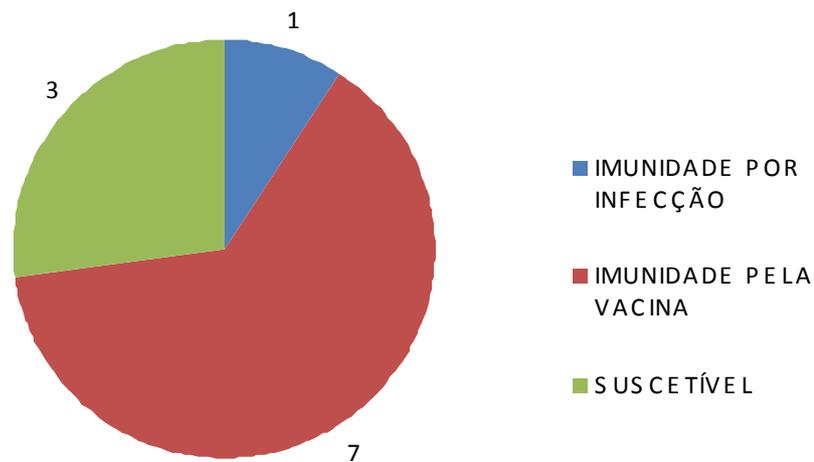


Figura 12 – Distribuição dos cirurgiões dentistas vacinados com duas doses de vacina em função da característica imunológica

*- Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Test Kruskal Wallis

Deve-se ressaltar que nenhum dos participantes do estudo estava vacinado há mais de 18 anos, época na qual seria recomendada a administração da dose vacinal de reforço (FERREIRA; SILVEIRA, 2006).

6 DISCUSSÃO

Os cirurgiões dentistas estão entre os profissionais mais suscetíveis à transmissão de hepatite relacionada ao trabalho, em virtude dos tratamentos dentários serem frequentemente executados na presença de inflamação gengival e sangramentos, é consenso que nestes procedimentos a saliva quando manipulada na presença de sangue, o mesmo é incorporado ao aerossol formado pelo contato da água com a broca em rotação e este resíduo pode manter os microrganismos viáveis por um tempo considerável (SMITH et al., 2001; SULJAK et al., 1999; TOROGLU et al., 2003).

A infecção pelo Vírus da Hepatite B (HBV) tem sido reconhecida como um risco ocupacional entre cirurgiões dentistas. Estudos recentes indicam que entre 10 a 30% dos cirurgiões dentistas apresentam evidencia sorológica passada ou presente para o HBV. Para diminuir o risco de infecção recomenda-se a vacinação contra o HBV, bem como uso de luvas e demais equipamentos de proteção individual para evitar a contaminação durante os procedimentos (AMMON et al., 2000).

O uso de anestésico local e o recapamento de agulhas são as duas principais causas de acidentes com perfuro-cortante em cirurgiões dentistas nos Estados Unidos (EUA). Limpeza do instrumental, troca da cápsula anestésica e similarmente o recapamento de agulha são as principais atividades que causam acidentes entre os auxiliares de cirurgiões dentistas (SHAH; MERCHANT; DOSMAN, 2006).

Não há estudos quanto à ocorrência na população geral de Rondônia quanto ao comportamento do HBV, entretanto estudos realizados em seis países

para identificação de anticorpos contra o HBcAg (anti-HBc), em 12.085 pessoas, a soro- prevalência mais alta foi encontrada na República Dominicana (21,4%), seguida pelo Brasil (7,9%), Venezuela (3,2%), Argentina (2,1%), México (1,4%), e Chile (0,6%). A prevalência sorológica em diferentes regiões do Brasil variaram de 21% em Manaus, 7,5% em Porto Alegre, 5,5% no Rio de Janeiro, e 1,2% em Fortaleza (DEHESA-VIOLANTE; NUNEZ-NATERAS, 2007).

Em cirurgiões dentistas de outras regiões do Brasil, os índices de infecção foram de 10% a 17,9% (CAMILO, 1998; OZAKI et al., 1998; RODRIGUES, 2002), comparando a 7% em Berlim- Alemanha, entre infecção prévia e corrente.

Segundo Ammon et al. (2000), nos EUA, 80% dos cirurgiões dentistas e 90% dos auxiliares de cirurgiões dentistas reportaram vacinação para Hepatite B e o uso de EPI aumentado. Em Berlim, 54% relataram sempre usar luvas, 45% uso esporádico e 0,5% relataram nunca usar luvas. Nessa mesma população, 58% relataram sempre usar óculos de proteção, 32% uso esporádico e 10% relatou nunca usar óculos de proteção enquanto 50% relataram sempre usar máscara, 45% relataram uso esporádico e 5% relataram nunca usar máscara.

Neste estudo, 86,2% (69/80) dos cirurgiões dentistas relataram o uso de luvas, 90% (72/80) o uso de máscara e 73,7% (59/80) o uso de óculos de proteção, contra 95,1% de uso de luvas e máscara e 94,3% de uso de óculos de proteção entre os cirurgiões dentistas italianos (VERONESI et al., 2004) e 99% de uso de luvas, 90% de uso de óculos de proteção e 95% de uso de máscara entre os cirurgiões dentistas de Berlim (AMMON et al., 2000).

A maioria dos cirurgiões dentistas estudados atua como clínicos gerais (45/56,2%), endodontistas (14/17,5%) e protesistas (14/17,5%), atividades com risco moderado de exposição ao HBV (VERONESI et al., 2004). Quanto à lavagem de

instrumental, a maior parte (71/88,7%) é lavada pelos auxiliares, fato que diminui a exposição dos cirurgiões dentistas e aumenta o risco de exposição nos auxiliares (SMITH et al., 2001).

Um fator positivo do estudo, diz respeito às atualizações periódicas dos cirurgiões dentistas, a maioria (66/82,5%) atualiza-se semestral e anualmente, não condizendo com os resultados apontados nas Figuras 10 e 11.

Quanto ao perfil vacinal a maioria (59/73,75%) recebeu três doses, seguido de 11 (13,7%) que receberam duas doses, totalizando 87,5%, considerando apenas duas doses como satisfatório. A minoria relatou a vacinação inadequada com dose única ou a não vacinação. Se comparado com os 96,6% dos cirurgiões dentistas vacinados de Campo Grande-MS (BATISTA et al., 2006) e os 99% vacinados de Montes Claros-MG (MARTINS; BARRETO, 2003), ambos resultados próximos do preconizado pelo Ministério da Saúde, que é a totalidade (100%) dos profissionais da saúde (BRASIL, 2005), verificou-se que o percentual em Porto Velho, Rondônia está aquém do esperado.

Do total dos cirurgiões dentistas vacinados com duas e três doses, 79,6% soroconverteram, resultado acima dos 71,8% demonstrados entre os cirurgiões dentistas de Parma, 74,5% entre os cirurgiões dentistas de Campo Grande e 58% dos cirurgiões dentistas de Berlim (AMMON et al., 2000; BATISTA et al., 2006; VERONESI et al., 2004).

Observou-se que entre os cirurgiões dentistas vacinados com duas doses os resultados são mais controversos, 63% soroconverteu, 9% está com perfil de imunidade por infecção e 27% está suscetível, sugerindo que a eficácia da vacina está associada com o esquema vacinal completo, ou seja, três doses (MAST et al., 2005). Entretanto, dos 59 profissionais vacinados com três doses, 6,8%

apresentaram perfil de infecção passada (contato com o HBV) e oito apresentaram perfil suscetível (Não reagente para o anti-HBS), devendo ser vacinados novamente para que ocorra a soroconversão (MARTINS; BARRETO, 2003). Assim, nossos achados sugerem a necessidade de execução de provas laboratoriais para que se confirme a soroconversão após o término do ciclo vacinal de três doses. Além disso, estudos futuros deverão ser conduzidos a fim de se avaliar a estabilidade longitudinal da soroconversão adquirida por vacinação com o intuito de se determinar os intervalos para as doses vacinais de reforço.

Embora uma maioria estatisticamente significativa dos participantes (59/73,75%) apresente cobertura vacinal, esse percentual está abaixo do valor esperado (87,5%).

7 CONCLUSÕES

Este estudo foi a primeira análise soropidemiológica realizada em cirurgiões dentistas de Porto Velho - Rondônia, demonstrando resultados preocupantes para esta categoria, visto tratar-se de categoria de risco ocupacional importante dentre as profissões da área de saúde, principalmente no que diz respeito aos métodos de prevenção, em especial os equipamento de proteção individual há décadas difundido no mundo todo.

Nossos achados sugerem a necessidade de execução de provas laboratoriais para confirmação e/ou monitoramento do perfil sorológico decorrente da vacinação contra hepatite B.

Há a necessidade de estudos mais aprofundados com os profissionais de odontologia, incluindo os auxiliares para conhecermos de forma mais abrangente o comportamento da hepatite do tipo B no estado.

REFERÊNCIAS

AMMON, A. et al. Hepatitis B and C among Berlin dental personnel: incidence, risk factors, and effectiveness of barrier prevention measures. **Epidemiol. Infect.**, Berlim, v. 125, n. 2, p. 407-413, 2000.

BATISTA, S. M. et al. Seropositivity for hepatitis B virus, vaccination coverage, and vaccine response in dentists from Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 3, p. 263-267, 2006.

BLUMBERG, B. S. Hepatitis B virus, the vaccine, and the control of primary cancer of the liver. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, Filadélfia, v. 8, n. 14, p. 7121-7125, 1997.

BLUMBERG, B. S. The curiosities of hepatitis B virus: prevention, sex ratio, and demography. **Proc. Am. Thorac. Soc.**, Filadélfia, v. 3, n. 1, p. 14-20, 2006.

BRANCO, F. et al. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic liver disease due to hepatitis C virus and hepatocellular carcinoma in Brazil. **Arq. Gastroenterol.**, Porto Alegre, v. 44, n. 1, p. 58-63, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso**. 4 ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Hepatites virais: o Brasil está atento**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Técnica para coleta de sangue**. 6. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.

BRÉCHOT, C. Persistent hepatitis B virus infection in subjects without hepatitis B surface antigen: clinically significant or purely "occult"? **Hepatology**, Paris, v. 34, n. 1, p. 194-203, 2001.

CAMILO, R. S. **Prevalência das hepatites B e C nos cirurgiões dentistas da Faculdade de Odontologia da UFRJ**. 1998. 96 f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1998.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Updated U.S. Public health service guidelines for the management of occupational exposure to HBV, HCV, and HIV and recommendations for postexposure prophylaxis. v. 55, n. RR 11, 2001. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5011a1.htm>>. Acesso em: 28 out. 2007

MAST, E. E. 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. **M. M. W. R. Recomm. Rep.**, Atlanta, v. 54, n. RR-16, p. 1-33, 2005.

COLSON, P. et al. Clinical and virological significance of the co-existence of HBsAg and anti-HBs antibodies in hepatitis B chronic carriers. **Virology**, Marselha, v. 10, n. 1, p. 30-40, 2007.

DEPAOLA, L. G. Managing the care of patients infected with bloodborne diseases. **J. Am. Dent. Assoc.**, Maryland, v. 134, n. 3, p. 350-358, 2003.

DEHESA-VIOLANTE, M.; NUÑEZ-NATERAS, R. Epidemiology of hepatitis virus B and C. **Arch. Med. Res.**, Cidade do México, v. 38, n. 6, p. 606-611, 2007.

EL KHOURI, M. et al. Seroprevalence of hepatitis B virus and hepatitis C virus in Monte Negro in the Brazilian western Amazon region. **Clinics**, São Paulo, v. 60, n. 1, p. 29-36, 2005.

EL KHOURI, M.; DOS SANTOS, V. A. Hepatitis B: epidemiological, immunological, and serological considerations emphasizing mutation. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. Sao Paulo**, São Paulo, v. 59, n. 4, p. 216-224, 2004.

EL-ZAATARI, M. et al. Hepatitis B virus DNA in serum of 'anti-HBc only'-positive healthy Lebanese blood donors: significance and possible implications. **J. Hosp. Infect.**, Beirute, v. 66, n. 3, p. 278-282, 2007.

YOUNAI, F. S.; MURPHY, D. C.; KOTELCHUCK, D. Occupational exposures to blood in a dental teaching environment: results of a ten-year surveillance study. **J. Dent. Educ.**, Los Angeles, v. 65, n. 5, p. 436-448, 2001.

FERREIRA, C. T.; DA SILVEIRA, T. R. Viral hepatitis prevention by immunization. **J. Pediatr.**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 3, p. S55-66, 2006.

FERREIRA, C. T. Aspectos da Epidemiologia e da Prevenção. **Rev. Bras. Epidemiol.**, Porto Alegre, v. 7, n. 4, p. 473-487, p. 2004.

ILGÜY, D. et al. Prevalence of the patients with history of hepatitis in a dental facility. **Med. Oral. Patol. Oral. Cir. Bucal**, Istambul, v. 11, n. 1, p. E29-32, 2006.

KOHN, W. G. et al. Guidelines for infection control in dental health-care settings - 2003. **M. M. W. R. Recomm. Rep.**, Atlanta, v. 52, n. RR-17, p. 1-61, 2003.

LAVANCHY, D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. **J. Viral Hepat.**, Genebra, v. 11, n. 2, p. 97-107, 2004.

LEGGAT, P. A.; KEDJARUNE, U.; SMITH, D. R. Occupational health problems in modern dentistry: a review. **Ind. Health**, Queensland, v. 45, n. 5, p. 611-621, 2007.

LOPES, C. L. R. et al. Perfil soropidemiológico da infecção pelo vírus da hepatite B em profissionais das unidades de hemodiálise de Goiânia-Goiás, Brasil Central. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 34, n. 6, p. 543-548, 2001.

MARTINS, A. M. E. B. L.; BARRETO, S. M. Vacinação contra a hepatite B entre cirurgiões dentistas. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 333-338, 2003.

MINUK, G. Y. Occult hepatitis B virus infection in a North American community-based population. **J. Hepatol.**, v. 42, n. 4, p. 480-485, 2005.

MONARCA, S. et al. Evaluation of environmental bacterial contamination and procedures to control cross infection in a sample of Italian dental surgeries. **Occup. Environ. Med.**, Brescia, v. 57, n. 11, p. 721-726, 2000.

OZAKI, K. S. et al. Infecção pelos vírus das hepatites B e C entre odontólogos de Cuiabá e Várzea Grande, Estado de Mato Grosso. **Rev. Patol. Trop.**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 177-184, 1998.

PEREZ, V. Viral hepatitis: historical perspectives from the 20th to the 21st century. **Arch. Méd. Res.**, Buenos Aires, v. 38, n. 6, p. 593-605, 2002.

RODRIGUES, V. C. **Hepatite B no município de Ribeirão Preto**: um estudo envolvendo Cirurgiões dentistas e Auxiliares Odontológicos. 2002. 84 f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2002.

SCULLY, C.; GREENSPAN, J. S. Human immunodeficiency virus (HIV) transmission in dentistry. **J. Dent. Res.**, Londres, v. 85, n. 9, p. 794-800, 2006.

SHAH, S. M.; MERCHANT, A. T.; DOSMAN, J. A. Percutaneous injuries among dental professionals in Washington State. **BMC. Public. Health.**, Washington, v. 30, n. 6, p. 62-69, 2006.

SILVA, P. A. et al. Seroprevalence of hepatitis B virus infection and seroconversion to anti-HBsAg in laboratory staff in Goiânia, Uberaba. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, São Paulo, v. 38, n. 2, p. 153-156, 2005.

SMITH, A. J. et al. Management of needlestick injuries in general dental practice. **Br. Dent. J.**, Glasgow, v. 190, n. 12, p. 645-650, 2001.

SULJAK, J. P. et al. The occupational risk to dental anesthesiologists of acquiring 3 bloodborne pathogens. **Anesth. Prog.**, Toronto, v. 46, p. 63-70, 1999.

TOROGLU, M. S. et al. Possibility of blood and hepatitis B contamination through aerosols generated during debonding procedures. **Angle Orthod.**, Adana, v. 73, n. 5, p. 571-578, 2003.

VERONESI, L. et al. Health hazard evaluation in private dental practices: a survey in a province of northern Italy. **Acta Biomed.** Parma, v. 75, n. 1, p. 50-55, 2004.

WEINSTOK, H. S. et al. Routine hepatitis B vaccination in a clinic for sexually transmitted diseases. **Am. J. Public. Health.**, São Francisco, v. 85, n. 6, p. 846-849, 1995.

ZHOU, L. F. et al. Surveillance of viral contamination of invasive medical instruments in dentistry. **J. Zhejiang Univ. Science**, Hangzhou, v. 7, n. 9, p. 745-748, 2006.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS - INFORMAÇÃO

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE: _____

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : _____ SEXO : M F

DATA NASCIMENTO: ____ / ____ / ____

ENDEREÇO _____ Nº _____ APTO: _____

BAIRRO: _____ CIDADE: _____

CEP: _____ TELEFONE: DDD () _____

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE _____ SEXO: M F

DATA NASCIMENTO.: ____ / ____ / ____

ENDEREÇO _____ Nº _____ APTO: _____

BAIRRO: _____ CIDADE: _____

CEP: _____ TELEFONE: DDD () _____

II - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Termo de consentimento livre e esclarecido

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas pra mim, descrevendo o estudo: **Soropositividade, cobertura e resposta vacinal para hepatites virais B, C e D em cirurgiões dentistas e auxiliares de cirurgiões dentistas em Porto Velho, Rondônia, Brasil.**

Eu discuti com o Dr Fábio Luiz Storer (endereço: Rua João Souza Lima, fone 8115-8360) sobre minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os exames sorológicos para Hepatites Virais e o questionário que será realizado, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimento permanente. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento hospitalar quando necessário.

Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste serviço.

Porto Velho, _____ de _____ de 2007

Assinatura por extenso do sujeito da pesquisa ou responsável legal

Assinatura do pesquisador e carimbo

APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO - CIRURGIÃO DENTISTA

Naturalidade: cidade	estado
Nacionalidade: brasileiro <input type="checkbox"/> estrangeiro <input type="checkbox"/> especificar	
Idade	Sexo: masculino <input type="checkbox"/> feminino <input type="checkbox"/>
Estado civil: casado <input type="checkbox"/> solteiro <input type="checkbox"/> viúvo <input type="checkbox"/> união estável <input type="checkbox"/> outro <input type="checkbox"/>	
Tempo de moradia em Porto Velho	
< 5anos <input type="checkbox"/> entre 5 e 10 anos <input type="checkbox"/> entre 11 e 15 anos <input type="checkbox"/> entre 16 e 20 anos <input type="checkbox"/> > 21 anos <input type="checkbox"/>	

Formação profissional	
Escola pública <input type="checkbox"/>	Escola privada <input type="checkbox"/> Estado/UF
Ano de conclusão	
Área de atuação	
Endodontia <input type="checkbox"/>	Cirurgia <input type="checkbox"/> Ortodontia <input type="checkbox"/> Prótese <input type="checkbox"/> Odontopediatria <input type="checkbox"/>
Periodontia <input type="checkbox"/>	Clínica geral <input type="checkbox"/>

Atualização profissional	
Com que freqüência participa de palestras, cursos, treinamentos e/ou congressos?	
Semestral <input type="checkbox"/>	Anual <input type="checkbox"/> Bianual <input type="checkbox"/> A cada 5 anos <input type="checkbox"/> A cada 10 anos <input type="checkbox"/>
Nenhuma das anteriores <input type="checkbox"/>	
Filiação a associações de classe: Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
Atuação profissional	
Carga horária em serviço público < 10 horas <input type="checkbox"/> entre 10 e 20 horas <input type="checkbox"/> entre 21 e 30 horas <input type="checkbox"/>	
Carga horária em serviço privado < 10 horas <input type="checkbox"/> entre 10 e 20 horas <input type="checkbox"/> entre 21 e 30 horas <input type="checkbox"/>	

<u>Controle de infecção</u>
Utilização de luva <input type="checkbox"/> uso desde a faculdade <input type="checkbox"/> uso há 5 anos <input type="checkbox"/> uso há 10 anos <input type="checkbox"/> uso há 15 anos <input type="checkbox"/> uso eventualmente
Utilização de máscara <input type="checkbox"/> uso desde a faculdade <input type="checkbox"/> uso há 5 anos <input type="checkbox"/> uso há 10 anos <input type="checkbox"/> uso há 15 anos <input type="checkbox"/> uso eventualmente
Utilização de óculos de proteção uso desde a faculdade <input type="checkbox"/> uso há 5 anos <input type="checkbox"/> uso há 10 anos <input type="checkbox"/> uso há 15 anos <input type="checkbox"/> uso eventualmente <input type="checkbox"/>
Quem realiza a lavagem de instrumental? Você <input type="checkbox"/> Seu auxiliar <input type="checkbox"/>
Método físico de esterilização: Estufa com termômetro interno <input type="checkbox"/> Estufa com termômetro externo <input type="checkbox"/> Auto-clave <input type="checkbox"/>

Histórico familiar
Hepatite <input type="checkbox"/> Carcinoma hepático <input type="checkbox"/> Cirrose hepática <input type="checkbox"/>
Quem desenvolveu a doença? <input type="checkbox"/> Era residente em sua moradia? <input type="checkbox"/>

<u>Hábitos</u>
Fumo nunca fumou ex –fumante (deixou de fumar há pelo menos 3 anos) tempo: fuma há ____ anos número de cigarros/dia: até 10 > 10 Não se enquadra nas condições anteriores
Etilismo Consome bebida alcoólica: diariamente <input type="checkbox"/> 3x/semana <input type="checkbox"/> 1x/semana <input type="checkbox"/>

quinzenalmente mensalmente raramente <input type="checkbox"/>
Prática desportiva 2 a 3x/semana 1x/semana raramente nunca
Peso ____ Altura ____ IMC: ____

Uso de preservativos
Aponte as situações nas quais você usa preservativo/“camisinha”: Parceiros fixos <input type="checkbox"/> Parceiros eventuais <input type="checkbox"/> Sexo oral <input type="checkbox"/> Sexo vaginal <input type="checkbox"/> Sexo anal <input type="checkbox"/>
Situação vicinal
Vacinado com três doses <input type="checkbox"/> Vacinado com duas doses <input type="checkbox"/> Vacinado com uma dose <input type="checkbox"/> Não vacinado <input type="checkbox"/>
data da vacinação: 1ª dose ____/____/____ 2ª dose ____/____/____ 3ª dose ____/____/____

Nível socioeconômico

Quantidade de itens	0	1	2	3	4 ou +
POSSE DE ITENS					
Televisão em cores					
Rádio					
Banheiro					
Automóvel					
Empregada mensalista					
Aspirador de pó					
Máquina de lavar					

Videocassete e/ou DVD Geladeira					
Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex)					
Grau de Instrução do chefe de família					
Analfabeto / Primário incompleto 0					
Primário completo / Ginásial incompleto 1					
Ginásial completo / Colegial incompleto 2					
Colegial completo / Superior incompleto 3					
Superior completo 5					

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**Comitê de Ética em Pesquisa**
Faculdade São Lucas

Carta AP/CEP/136/07

Porto Velho, 05 de Novembro de 2007.

Ilmo(a). Sr(a).
Fábio Luiz Storer

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade São Lucas aprovou na reunião do dia 01/11/07, o projeto de pesquisa “**Soropositividade, cobertura e resposta vacinal para Hepatites Virais B, C e D em dentistas e auxiliares de dentistas em Porto Velho, Rondônia, Brasil**”, e foi o seguinte parecer do relator: “**APROVADO**”.

Atenciosamente.



Marcelo Custódio Rubira
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Faculdade São Lucas

Marcelo Custódio Rubira
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Faculdade São Lucas

Rua Alexandre Guimarães, 1927 Areal – CEP: 78916-450 – Porto Velho/RO
Fone: (69) 3211-8006
E-mail: cep@saolucas.edu.br

ANEXO B - TESTES DOS ENSAIOS IMUNOENZIMÁTICOS

Protocolo de execução do teste HBsAg

1. Distribuir 100 µL de controle negativo, controle positivo e amostras nos respectivos poços.
2. Após a incubação, eliminar o adesivo autocolante e lavar as tiras. Proceder cinco ciclos de lavagem na lavadora automática de tiras, com volume de tampão de lavagem entre 0,30 e 0,37 mL.
3. Distribuir 100 µL de conjugado enzimático diluído em todos os poços, exceto no branco.
4. Aplicar adesivo autocolante para evitar evaporação.
5. Incubar durante uma hora \pm 15 min a $37 \pm 1^\circ$ C, em câmara úmida.
6. Após a incubação, eliminar o adesivo autocolante e lavar as tiras.
7. Preparar o cromógeno/substrato antes do final da incubação.
8. Distribuir 100 µL de cromógeno/substrato em todos os poços.
9. Incubar durante 30 ± 2 min à temperatura ambiente, ao abrigo da luz intensa.
8. Distribuir 100 µL de solução de parada em todos os poços na mesma ordem usada para dispensar o cromógeno/substrato e nos mesmos intervalos de tempo.
10. Medir a absorbância da solução contida em cada poço em fotocolorímetro a 450/630 nm até uma hora após a adição da solução de parada.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

Cálculo do valor de *cut-off*

O valor de cut-off é determinado pela adição de 0,030 à absorbância média do controle negativo (CN).

Valor de cut-off = CN + 0,030.

Crítérios de validação do ensaio

A absorvância média do controlo negativo deve ser maior que -0,010 e menor que 0,050.

$$-0,010 < CN < 0,050.$$

Os valores de absorvância de cada controlo negativo devem ser maiores que -0,010 e menores que 0,055.

$$-0,010 < CN < 0,055.$$

Se qualquer valor de absorvância do controlo negativo não preencher estes critérios, este deve ser eliminado e a média recalculada entre os dois valores restantes. Se mais de um controlo negativo não preencher estes critérios, o teste é inválido e deve ser repetido.

A diferença entre a absorvância média do controlo positivo e a absorvância média do controlo negativo deve ser maior ou igual a 0,500.

$$CP - CN \geq 0,500.$$

Caso contrário, o teste é inválido e deve ser repetido.

Interpretação dos resultados

A presença ou a ausência de HBsAg é determinada pela comparação dos valores de absorvância das amostras com o valor de cut-off.

As amostras com valores de absorvância acima da zona duvidosa devem ser consideradas reativas para HBsAg. As amostras com valores de absorvância abaixo da zona duvidosa devem ser consideradas não reativas.

As amostras com valores de absorvância dentro da faixa de $\pm 10\%$ do valor de cut-off (zona duvidosa) devem ser retestadas em duplicata para confirmar o resultado inicial.

Protocolo de execução do teste anti- HBc total

1. Distribuir 50 μ L de tampão de incubação em todos os poços, exceto no branco.

2. Distribuir 50 μL de calibrador, controle negativo, controle positivo e amostras nos respectivos poços.
3. Distribuir 50 μL de solução de neutralização em todos os poços, excepto no branco.
4. Aplicar adesivo autocolante para evitar evaporação.
5. Incubar durante duas horas ± 15 min a $37 \pm 1^\circ \text{C}$, em câmara úmida.
6. Após a incubação, eliminar o adesivo autocolante e lavar as tiras.
7. Preparar o substrato antes do final da incubação.

Após a incubação, eliminar o adesivo autocolante e lavar as tiras. Proceder cinco ciclos de lavagem na lavadora automática de tiras, com volume de tampão de lavagem entre 0,30 e 0,37 mL.

8. Distribuir 100 μL de conjugado enzimático diluído em todos os poços, exceto no branco.
9. Aplicar adesivo autocolante para evitar evaporação.
10. Incubar durante uma hora ± 5 min a $37 \pm 1^\circ \text{C}$, em câmara úmida.
11. Após a incubação, eliminar o adesivo autocolante e lavar as tiras.
12. Distribuir 100 μL de cromógeno/substrato em todos os poços.
13. Incubar durante 30 ± 2 min à temperatura ambiente, ao abrigo da luz intensa.
14. Distribuir 100 μL de solução de parada em todos os poços na mesma ordem usada para dispensar o cromógeno/substrato e nos mesmos intervalos de tempo.
15. Medir a absorvância da solução contida em cada poço em fotocolorímetro a 450/630 nm até uma hora após a adição da solução de parada.

Cálculo dos resultados

Cálculo do valor de cut-off

O valor limite é determinado pela multiplicação da absorbância média dos valores do calibrador (Cal) por 0,300 depois de subtrair o branco do substrato.

Valor de cut-off = 0,300 x Cal.

Crítérios de validação do ensaio

O valor de absorbância do poço do branco deve situar-se entre 0,000 e 0,150.
 $0,000 \leq \text{BLK} \leq 0,150$.

A absorbância média do calibrador tem de ser superior a 0,500 e inferior a 2,500.

$0,500 < \text{Cal} < 2,500$.

O valor de absorbância de cada calibrador tem de ser superior a 0,500 e inferior a 2,500.

$0,500 < \text{Cal} < 2,500$.

Se qualquer um dos valores de absorbância do calibrador não preencher estes critérios, deve ser eliminado e o valor médio recalculado entre os dois valores restantes. Se mais do que um calibrador não preencher estes critérios, o teste é inválido e deve ser repetido.

A absorbância do controlo negativo tem de ser superior a 0,500 e inferior a 2,500.

$0,500 < \text{CN} < 2,500$.

A absorbância do controlo positivo tem de ser superior a -0,020 e inferior a 0,350.

$-0,020 < \text{CP} < 0,350$.

A diferença entre a absorbância do controle negativo e a absorbância do controle positivo tem de ser superior a 0,250.

$\text{CN} - \text{CP} > 0,250$.

Se não for, o teste é inválido e tem de ser repetido.

Interpretação dos resultados

A presença ou ausência de anticorpos anti-HBc totais é determinada pela comparação do valor de absorvância das amostras com o valor limite.

Devem se considerar as amostras com valores de absorvância acima da zona duvidosa como não reativas para anticorpos anti-HBc. Devem ser consideradas as amostras com valores de absorvância abaixo da zona cinzenta como reativas.

As amostras com valores de absorvância dentro da faixa de $\pm 10\%$ do valor de cut-off (zona duvidosa) devem ser retestadas em duplicata para confirmar o resultado inicial.

Protocolo de execução do teste anti- HBc IgM

1. Distribuir 100 μ L de calibrador, controlo negativo, controlo positivo e amostras nos respectivos poços.
2. Aplicar adesivo autocolante para evitar evaporação.
3. Incubar durante duas horas ± 15 min a $37 \pm 1^\circ$ C, em câmara úmida.
4. Após a incubação, eliminar o adesivo autocolante e lavar as tiras.
5. Preparar a solução de conjugado enzimático diluído antes do final da primeira incubação.
6. Após a incubação, eliminar o adesivo autocolante e lavar as tiras. Proceder cinco ciclos de lavagem na lavadora automática de tiras, com volume de tampão de lavagem entre 0,30 e 0,37 mL.
7. Distribuir 100 μ L de conjugado enzimático diluído em todos os poços, exceto no branco.
8. Aplicar adesivo autocolante para evitar evaporação.
10. Incubar durante uma hora ± 5 min a $37 \pm 1^\circ$ C, em câmara úmida.
11. Após a incubação, eliminar o adesivo autocolante e lavar as tiras.

12. Distribuir 100 μ L de cromógeno/substrato em todos os poços.
13. Incubar durante 30 ± 2 min à temperatura ambiente, ao abrigo da luz intensa.
14. Distribuir 100 μ L de solução de parada em todos os poços na mesma ordem usada para dispensar o cromógeno/substrato e nos mesmos intervalos de tempo.
15. Medir a absorbância da solução contida em cada poço em fotocolorímetro a 450/630 nm até uma hora após a adição da solução de parada.

Cálculo dos resultados

Cálculo do valor de cut-off

O valor limite é determinado pela adição 0,200 à absorbância média dos valores do calibrador (Cal) depois de subtrair o branco do substrato.

$$\text{Valor de cut-off} = \text{Cal} + 0,200$$

Crítérios de validação do ensaio

O valor de absorbância do poço do branco deve situar-se entre 0,000 e 0,150.
 $0,000 \leq \text{BLK} \leq 0,150.$

A absorbância média do calibrador tem de ser superior a -0,020 e inferior a 0,120.

$$-0,020 < \text{Cal} < 0,120.$$

O valor de absorbância de cada calibrador tem de ser superior a -0,020 e inferior a 0,120.

$$-0,020 < \text{Cal} < 0,120.$$

Se qualquer um dos valores de absorbância do calibrador não preencher estes critérios, deve ser eliminado e o valor médio recalculado entre os dois valores restantes. Se mais do que um calibrador não preencher estes critérios, o teste é inválido e deve ser repetido.

A absorvância do controle negativo tem de ser superior a -0,020 e inferior a 0,120.

$$-0,020 < CN < 0,120.$$

A absorvância do controle positivo tem de ser superior a 0,500 e inferior a 2,500.

A diferença entre a absorvância do controle positivo e a absorvância do controle negativo tem de ser superior a 0,450.

$$CP - CN > 0,450.$$

A absorvância do controle positivo tem de ser superior a 0,500 e inferior a 2,500.

$$0,500 < CP < 2,500.$$

A diferença entre a absorvância do controle negativo e a absorvância do controle positivo tem de ser superior a 0,450.

$$CN - CP > 0,450.$$

Se não for, o teste é inválido e tem de ser repetido.

Interpretação dos resultados

A presença ou ausência de anticorpos anti-HBc IgM é determinada pela comparação do valor de absorvância das amostras com o valor limite.

Protocolo de execução do teste anti- HBs

1. Distribuir 100 µL de tampão de incubação em todos os poços, exceto no branco.
2. Distribuir 100 µL de calibrador, controle negativo, controle positivo e amostras nos respectivos poços.
3. Aplicar adesivo autocolante para evitar evaporação.
4. Incubar durante duas horas \pm 15 min a $37 \pm 1^\circ$ C, em câmara úmida.
5. Após a incubação, eliminar o adesivo autocolante e lavar as tiras.

6. Preparar o conjugado antes do final da incubação.
7. Após a incubação, eliminar o adesivo autocolante e lavar as tiras. Proceder cinco ciclos de lavagem na lavadora automática de tiras, com volume de tampão de lavagem entre 0,30 e 0,37 mL.
8. Distribuir 100 µL de conjugado enzimático diluído em todos os poços, exceto no branco.
9. Aplicar adesivo autocolante para evitar evaporação.
10. Incubar durante uma hora ± 5 min a $37 \pm 1^\circ$ C, em câmara úmida.
11. Após a incubação, eliminar o adesivo autocolante e lavar as tiras.
12. Distribuir 100 µL de cromógeno/substrato em todos os poços.
13. Incubar durante 30 ± 2 min à temperatura ambiente, ao abrigo da luz intensa.
14. Distribuir 200 µL de solução de parada em todos os poços na mesma ordem usada para dispensar o cromógeno/substrato e nos mesmos intervalos de tempo.
15. Medir a absorvância da solução contida em cada poço em fotocolorímetro a 450/630 nm até uma hora após a adição da solução de parada.

Cálculo dos resultados

Cálculo do ponto de corte

O valor limite é considerado a concentração de 10 UI/L, acima o resultado é reagente e abaixo não reagente.

Crítérios de validação do ensaio

O valor de absorvância do poço do branco deve situar-se entre 0,000 e 0,150.

$$0,000 \leq \text{BLK} \leq 0,150.$$

A absorvância média do calibrador 1 deve estar entre 0,035 e 0,300

$$0,035 < \text{Cal} < 0,300.$$

A razão entre a absorbância média do calibrador 1 e a do controle negativo deve ser maior ou igual a 2,0: $Cal\ 1 / CN \geq 2,0$.

A razão entre a absorbância do calibrador 2 e a absorbância média do calibrador 1 deve ser maior ou igual a 4,5: $Cal\ 2 / Cal\ 1 \geq 4,5$.

A absorbância do controle negativo deve ser menor que 0,100

$CN < 0,100$

Caso contrário, o teste é inválido e deve ser repetido.

Interpretação dos resultados

A concentração de 10 UI/L é considerada na prática clínica como valor de cut-off no acompanhamento dos programas de vacinação. O calibrador a 10 UI/L pode, pois, ser utilizado como cut-off ao invés do conjunto completo de calibradores.

A presença ou a ausência de anticorpos anti-HBs é determinada pela comparação das absorbâncias das amostras com a absorbância média do calibrador 1 (valor de cut-off).

Protocolo de execução do teste Anti- HDV total

1. Distribuir 50 μ L de controle negativo, controle positivo e amostras nos respectivos poços.
2. Distribuir 100 μ L de conjugado enzimático diluído em todos os poços, exceto no branco.
3. Aplicar adesivo autocolante para evitar evaporação.
4. Incubar durante três horas \pm 15 min a $37 \pm 1^\circ$ C.
5. Preparar o cromógeno/substrato antes do final da incubação.

6. Após a incubação, eliminar o adesivo autocolante e lavar as tiras. Proceder cinco ciclos de lavagem na lavadora automática de tiras, com volume de tampão de lavagem entre 0,30 e 0,37 mL.
7. Distribuir 100 µL de cromógeno/substrato em todos os poços.
8. Incubar durante 30 ± 2 min à temperatura ambiente, ao abrigo da luz intensa.
9. Distribuir 100 µL de solução de parada em todos os poços na mesma ordem usada para dispensar o cromógeno/substrato e nos mesmos intervalos de tempo.
10. Medir a absorvância da solução contida em cada poço em fotocolorímetro a 450/630 nm até uma hora após a adição da solução de parada.

Cálculo dos resultados

Cálculo do valor de corte:

O valor de *cut-off* é determinado pela adição da absorvância média do controle negativo (CN) multiplicada por 0,5 à absorvância média do controlo positivo (CP) multiplicada por 0,5.

$$\text{Valor de corte} = 0,5 \times \text{CN} + 0,5 \times \text{CP} .$$

Critérios de validação do ensaio

A absorvância média do controlo negativo deve ser maior ou igual a 0,600.

$$\text{CN} \geq 0,600.$$

A absorvância média do controlo positivo deve ser menor ou igual a 0,080.

$$\text{CP} \leq 0,080.$$

A diferença entre a absorvância média do controle negativo e a absorvância média do controle positivo (N – P) deve ser maior ou igual a 0,500.

Caso contrário, o teste é inválido e deve ser repetido.

Interpretação dos resultados

A presença ou a ausência de anti-HDV é determinada pela comparação da absorbância das amostras com valor do *cut-off*.

Interpretação dos resultados dos testes

As amostras serão classificadas como reagente e não reagente. As que apresentarem resultado indeterminado serão obtidas novas amostras após quatro semanas e novamente testadas. O anti-HBs será considerado positivo em amostras com resultados iguais ou superiores a 10 IU/l.

Autorizo cópia total ou parcial desta obra, apenas para fins de estudo e pesquisa, sendo expressamente vedado qualquer tipo de reprodução para fins comerciais, sem prévia autorização específica do autor.

Fábio Luiz Storer

Taubaté, julho de 2008.