

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM**

ANA LETÍCIA SOARES BORGES

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE ANTI-HBS PÓS *BOOSTER* EM
CRIANÇAS, APÓS SETE ANOS DO ESQUEMA VACINAL PRIMÁRIO**

GOIÂNIA, 2016

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ **Dissertação** ☐ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Nome completo do autor: Ana Letícia Soares Borges

Título do trabalho: Avaliação dos níveis de anti-HBs pós *booster* em crianças, após seis anos do esquema vacinal primário

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☒ **SIM** ☐ **NÃO**¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.


Assinatura do (a) autor (a)

Data: 31 / 10 / 2016

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

ANA LETÍCIA SOARES BORGES

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE ANTI-HBS PÓS *BOOSTER* EM
CRIANÇAS, APÓS SETE ANOS DO ESQUEMA VACINAL PRIMÁRIO**

*Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Enfermagem - Nível
Mestrado – da Faculdade de Enfermagem
da Universidade Federal de Goiás para
obtenção do título de mestre.*

Área de concentração: A Enfermagem no Cuidado à Saúde Humana

Linha de pesquisa: Fundamentação teórica, metodológica e tecnológica para o
cuidar em saúde e enfermagem

Orientador: Prof^{fa} Dr^a Ana Luíza Neto Junqueira

GOIÂNIA, 2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Borges, Ana Letícia Soares

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE ANTI-HBS PÓS BOOSTER EM
CRIANÇAS, APÓS SETE ANOS DO ESQUEMA VACINAL PRIMÁRIO
[manuscrito] / Ana Letícia Soares Borges. - 2016.
83 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Ana Luíza Neto Junqueira.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás,
Faculdade de Enfermagem (FEN), Programa de Pós-Graduação em
Enfermagem, Goiânia, 2016.

Bibliografia. Anexos. Apêndice.

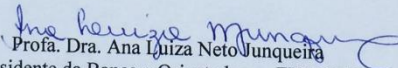
Inclui siglas, abreviaturas, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista
de tabelas.

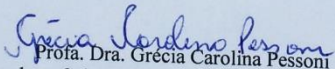
1. Hepatite B. 2. anticorpos anti-hepatite B. 3. imunização. 4.
resposta de anticorpos. I. Junqueira, Ana Luíza Neto, orient. II. Título.

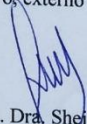
CDU 616-083

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE ANA LETÍCIA SOARES BORGES. Aos trinta dias do mês de setembro de dois mil e dezesseis (30/09/2016), às 14h00 min, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: **Profa. Dra. Ana Luiza Neto Junqueira, Profa. Dra. Grécia Carolina Pessoni, Profa. Dra. Sheila Araújo Teles**, sob a presidência da primeira, em sessão pública realizada no Auditório da Faculdade de Enfermagem da Universidade Federal de Goiás, para procederem à avaliação da defesa de Dissertação intitulada **AValiação dos Níveis de Anti-HBs Pós Booster em Crianças, Após Sete Anos de Esquema Vacinal Primário**, em nível de **Mestrado**, área de concentração em **A Enfermagem no Cuidado à Saúde Humana**, de autoria de **Ana Letícia Soares Borges**, discente do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pela presidente da **Banca Examinadora: Profa. Dra. Ana Luiza Neto Junqueira**, que fez a apresentação formal dos membros da Banca. A seguir, a palavra foi concedida a autora da Dissertação que, em 40 minutos, fez a apresentação de seu trabalho. Logo em seguida, cada membro da Banca arguiu a examinada, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da defesa. Tendo em vista o que consta no Regulamento do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, a Dissertação foi **APROVADA**, por unanimidade, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de **MESTRA EM ENFERMAGEM**, área de concentração em **A Enfermagem no Cuidado à Saúde Humana** pela Universidade Federal de Goiás. A conclusão do curso dar-se-á quando da entrega, na secretaria do programa, da versão definitiva da dissertação, com as correções solicitadas pela Banca e com o comprovante de envio de artigo científico, oriundo desta Dissertação para publicação em periódicos de circulação nacional e ou internacional. Cumpridas as formalidades de pauta, às 16h00min, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de Dissertação de Mestrado e, para constar eu, Mayana Paula de Souza Santos, secretária do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, lavrei esta ata que depois de lida e aprovada, será assinada pelos membros da Banca Examinadora em quatro vias de igual teor.


Profa. Dra. Ana Luiza Neto Junqueira
Presidente da Banca e Orientadora – FEN-UFG


Profa. Dra. Grécia Carolina Pessoni
Membro efetivo, externo ao Programa – SMS/GO


Profa. Dra. Sheila Araújo Teles
Membro efetivo, interno ao Programa – FEN-UFG

DEDICATÒRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Maria Auxiliadora e Salvador, que me ensinaram que o conhecimento é o único bem que não pode ser tirado.

Ao meu amor, marido e melhor amigo, Marlon, por compreender, ajudar e incentivar todos os momentos, me dedicando amor, paciência e tempo.

À minha irmã por momentos de alegria e leveza quando tudo parecia cansativo e frustrante.

AGRADECIMENTOS

À professora Dr^a Ana Luíza, pela confiança depositada em mim na realização deste trabalho, pelos conselhos, ensinamentos e puxões de orelha. Agradeço imensamente pelo conhecimento compartilhado, pelo tempo dedicado e aprendizados passados que levarei por toda a vida.

Aos professores do NECAIH, Dr^a Sheila Araújo Teles, pelo apoio e contribuições para a realização deste trabalho, Dr. Marcos André de Matos e Dr^a Marcia Maria de Sousa pelas palavras conselheiras, pelos ouvidos emprestados para os desabafos e pelas sugestões, pensamentos positivos e opiniões tão valiosas.

À professora Dr^a Karlla Antonieta Amorim Caetano e Dr^a Grécia Carolina Personi pela participação na banca de qualificação e pelas contribuições tão valiosas, considerações importantíssimas para a construção do trabalho.

Aos meus pais, Maria Auxiliadora e Salvador, por abdicarem de suas vidas para que eu pudesse seguir no caminho dos estudos, por me apoiarem sempre, por me ensinarem a enfrentar dificuldades com base no respeito, responsabilidade e coragem. Pelo amor dedicado, compreensão e apoio, sem vocês não teria chegado até aqui!

Ao meu amor, meu esposo Marlon, por compartilhar as angústias e as alegrias, pela compreensão em momentos difíceis e pelo incentivo sempre. Obrigado por deixar seu tempo livre para me acompanhar nas coletas tão exaustivas, por me fazer rir quando necessário e por se fazer presente mesmo sem dizer uma palavra quando só o silêncio podia ajudar. Todo meu amor é seu!

À minha irmã pela ajuda durante as coletas, pelas palavras de apoio e pelo carinho. Aos meus avós Maria Vitória e Rufino, que me incentivaram e me fizeram tomar gosto pela leitura quando eu tinha apenas quatro anos, sem isso não estaria aqui. Às minhas tias, pela paciência e carinho oferecidos sempre.

À grande amiga e mestre Laura, que compartilhou angústias, risadas, alegrias e cansaço. Obrigada pela companhia e parceria nesse trabalho que iniciou com você, sem seu esforço nada disso teria sido realizado. Ainda me pergunto como conseguimos fazer tantas coletas e ter tempo de nos divertir mesmo exaustas. Merci par ces moments!

À querida amiga e mestrande Camila Souza, por compartilhar do trabalho de “viajar” para coletar sangue, pela preocupação com a temperatura das vacinas e pelos momentos de descontração tão necessários. Ainda estou te devendo por isso!

Às queridas companheiras de trabalho e amigas do Cais Novo Mundo, pelas trocas de plantão, apoio e carinho a mim dedicados, pelas palavras positivas e pelas risadas de sempre. Camila Ferreira, Daniele, Eliane, Polyanna, vocês são especiais!

Aos biomédicos do Cais Novo Mundo, Gustavo, Kelly e Nilson, pela ajuda com as crianças levadas para coletar sangue, pelo compartilhamento de conhecimentos e pelos momentos de susto e alívio!

Aos alunos do NECAIH pelo auxílio nas etapas da pesquisa e pelo tempo disponibilizado.

Ao Laboratório de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros (LACEN-GO), em especial ao Vinícius, que disponibilizou a unidade para realização da análise do anti-HBs, primordial para a realização do trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	10
LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	12
RESUMO	13
ABSTRACT	14
RESUMEN	15
1.INTRODUÇÃO	16
1.1 História da epidemiologia da hepatite B	16
1.2 Vírus da hepatite B	19
1.3 Diagnóstico laboratorial da hepatite B	21
1.4 Transmissão, aspectos clínicos e tratamento da hepatite B	23
1.5 Imunização contra a infecção pelo HBV	25
1.6 Persistência dos anticorpos anti-HBs	30
1.7 Justificativa	32
2. OBJETIVO	34
3. METODOLOGIA	35
3.1 Delineamento do estudo	35
3.2 População	35
3.3 Critérios de inclusão	35
3.4 Critérios de exclusão	35
3.5 Variáveis do estudo	35
3.5.1 Variável de desfecho	35
3.6 Etapas da pesquisa	36
3.6.1 Contato telefônico	36
3.6.2 Procedimento para a administração da vacina	36
3.6.3 Coleta sanguínea	36
3.6.4 Testes sorológicos	37
3.6.5 Processamento e análise de dados	37
3.7 Aspectos éticos	37
4. RESULTADOS	38
4.1 Resposta ao <i>booster</i>	39
5. DISCUSSÃO	42
6. CONCLUSÃO	46

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
REFERÊNCIAS	48
APÊNDICE I	59
APÊNDICE II	62
APÊNDICE III	64
ANEXO I	67
ANEXO II	76

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– Prevalência da infecção pelo HBV ao redor do mundo em crianças de 05 - 09 anos	18
Figura 2.	– Prevalência da infecção pelo HBV ao redor do mundo em adultos de 19-49 anos	19
Figura 3	– Representação esquemática do vírus da hepatite B	20
Figura 4	– Representação esquemática do genoma do HBV	21
Figura 5	–Curso sorológico da hepatite B aguda	23
Figura 6	–Curso sorológico da hepatite B crônica	23
Figura 7	– Fluxograma de participantes da pesquisa de 2007 a 2016	38
Figura 8.	– Resposta anamnética após <i>booster</i> da vacina contra hepatite B	39
Figura 9	– Relação entre títulos de anti-HBs após esquema primário e após <i>booster</i>	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resposta qualitativa a uma dose da vacina contra hepatite B em crianças que perderam os títulos protetores de anti HBs após sete anos de vacinação	40
Tabela 2 – Resposta a uma dose da vacina contra hepatite B em crianças que perderam os títulos protetores de anti HBs após sete anos de vacinação, de acordo com títulos	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Anti-HBc – Anticorpo contra o antígeno *core* do vírus da hepatite B

Anti-HBe – Anticorpo contra o antígeno *e* do vírus da hepatite B

Anti-HBs – Anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B

ALT – Alanina aminotransferase

CDC – *Centers for Disease Control and Prevention*

DNA – *Desoxyribonucleic Acid* – Ácido desoxirribonucleico

HBeAg – Antígeno *e* do vírus da hepatite B

HBsAg – Antígeno de superfície do vírus da hepatite B

HBV – *Hepatitis B Virus* – Vírus da hepatite B

HIV – *Human Immunodeficiency Virus* – Vírus da imunodeficiência humana

ICTV – *International Committee on Taxonomy of Viruses*

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

OMS – Organização Mundial de Saúde

ORF – *Open Reading Frame* – Sequência de Leitura Aberta

PCR – *Polimerase Chain Reaction* – Reação em cadeia da polimerase

PNI – Programa Nacional de Imunizações

RNA – *Ribonucleic Acid* – Ácido Ribonucleico

SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação

SPSS – *Statistical Package for the Social Sciences*

WHO – *World Health Organization*

RESUMO

Para avaliar a resposta anamnésica em crianças que apresentaram declínio de anticorpos sete anos após esquema vacinal primário, foi administrada uma dose de reforço (*booster*) da vacina brasileira recombinante contra hepatite B produzida pelo Instituto Butantan em uma coorte com 78 crianças em Goiânia-GO. Verificou-se que 100% das crianças apresentaram positividade para anti-HBs e que 88,5% dessas apresentaram níveis protetores de anticorpos ($\geq 10 \text{ mUI/ml}$). Nenhum fator sociodemográfico foi determinante para o desenvolvimento de títulos protetores. Verificou-se correlação entre títulos elevados após a vacinação primária e após o *booster* (*Spearman* correlation = 0,445; $p = 0,001$). Os resultados evidenciam a efetividade da vacina brasileira contra a hepatite B em médio prazo.

Palavras-chave: hepatite B; anticorpos anti-hepatite B; imunização; resposta de anticorpos.

ABSTRACT

To evaluate the anamnestic response in children with decline of antibodies anti-HBs after seven years of primary vaccination, a booster dose of recombinant hepatitis B vaccine, produced by the Instituto Butantan, was carried out in a cohort with 78 children in Goiânia-GO. It was found that 100% of the children presented some level of anti-HBs and 88,5% of these has levels protectives ($\geq 10 \text{ mUI/ml}$). No socio-demographic factor was decisive for the development of protective titles. There was a correlation between high titer after primary immunization and after booster (Spearman correlation = 0.445; $p = 0.001$). The results show the effectiveness of the Brazilian vaccine against hepatitis B in medium term.

Keywords: hepatitis B; antibodies anti-hepatitis B; immunization; antibodies response.

RESUMEN

Para evaluar la respuesta anamnésica en niños con caída de anticuerpos siete años después de la primovacunación, una dosis de refuerzo de la vacuna brasileña contra la hepatitis B recombinante producida por el Instituto Butantan se llevó a cabo en una cohorte de 78 niños. Se encontró que 100% de los niños presentó algún nivel de anti-HBs, y éstos mostraron que 88,5% obtuvieron niveles protectores (≥ 10 mUI / ml). Ningún factor sociodemográfico fue decisivo para el desarrollo de títulos de protección. Hubo una correlación entre el alto título después de la inmunización primaria y después del refuerzo (Spearman existe correlación = 0,445; $p = 0,001$). Los resultados muestran la eficacia de la vacuna brasileña contra la hepatitis B en mediano plazo.

Palabras-clave: hepatitis B; anticuerpos anti-hepatitis B; inmunización; respuesta de anticuerpos

1. INTRODUÇÃO

O vírus da hepatite B (HBV) é uma das causas mais comuns de infecções virais no mundo. Estima-se que cerca de dois bilhões de pessoas foram infectadas pelo HBV em todo o mundo, e aproximadamente 240 milhões de pessoas são portadoras da forma crônica desta infecção (WHO, 2015). O HBV é responsável por cirrose hepática e carcinoma hepatocelular, gerando alta morbimortalidade. Acredita-se que a hepatite B seja responsável por 686 mil mortes anualmente (WHO, 2016), representando a nona causa de mortalidade por doença imunoprevenível no mundo e, um grave problema de saúde pública (LIAW, CHU, 2009; WHO, 2015).

A vacina contra hepatite B surgiu no início da década de 80, sendo a forma mais eficaz de prevenção desta infecção. Atualmente esta vacina está implantada em 180 países membros da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2013), com esquemas de vacinação na infância e cobertura de cerca de 83% (WHO/UNICEF, 2016a). No Brasil a cobertura vacinal tem permanecido acima de 95% nos últimos 10 anos (WHO/UNICEF, 2016b).

1.1 História e epidemiologia da hepatite B

Registros chineses de cerca de cinco mil anos e babilônicos de 2500 anos relatam quadros de icterícia na população, porém ainda não se sabia a etiologia ou forma de transmissão da doença (FONSECA, 2010). Entre os anos de 400 e 300 a.C Hipócrates já suspeitava da origem infecciosa da icterícia, e do fígado como órgão alvo (FONSECA, 2010; ALTER, 2014).

Nos séculos XVIII e XIX existem vários registros de surtos, principalmente durante guerras na Áustria (1743), Egito (1798), França (1870) e Estados Unidos (1861-1865) sendo 40.000 soldados acometidos na Guerra de Secessão americana (REUBEN, 2002). Em 1883 foi relatado o primeiro surto de hepatite, em trabalhadores do estaleiro de Bremen (Alemanha), devido a administração de vacina contra varíola produzida a partir de linfa humana (ALTER, 2014; CDC, 2015).

Em 1963 Baruch Blumberg e colaboradores identificaram uma associação antígeno-anticorpo ao realizarem experimentos utilizando amostras de soro de aborígine australiano e portadores de hemofilia politransfundidos. Esse antígeno foi

chamado de Antígeno Austrália (BLUMBERG, ALTER, VISNICH, 1965), sendo atualmente denominado antígeno de superfície do vírus da hepatite B - HBsAg (LOCARNINI et al, 2015). Logo a seguir, Dane e colaboradores identificaram, por microscopia eletrônica, a partícula viral completa do vírus da hepatite B, denominando-a Partícula de Dane (DANE et al. 1970).

A descoberta do HBV remonta há mais de 50 anos e ainda é uma das doenças infecciosas mais comuns e disseminada pelo mundo (FONSECA, 2010).

A endemicidade da hepatite B é descrita pela prevalência do antígeno de superfície do HBV (HbsAg) na população em geral. Estima-se que globalmente a endemicidade média é de 3,68% e apresenta variações de acordo com a região geográfica (SCHWEITZER et al, 2015). Em regiões com prevalência maior ou igual a 8%, a endemicidade é considerada elevada, naquelas que apresentam taxas entre 2 e 7% a endemicidade é intermediária. Já regiões com prevalências menores que 2% são classificadas como de baixa endemicidade (WHO,2009; OTT et al, 2012).

Os países onde se encontram maiores endemicidades estão localizados na Ásia, África e ilhas do Pacífico; nas Américas do Sul e Central e Europa Oriental a prevalência é intermediária e nos Estados Unidos, Oceania e Europa Ocidental se encontram taxas mais baixas (TE, JENSEN, 2010; TAUIL et al., 2012).

A possibilidade de se contrair a infecção é proporcional à endemicidade da região. Aproximadamente 45% da população em geral vive em áreas de alta endemicidade, 43% em áreas de média endemicidade e 12% em áreas de baixa endemicidade, sendo que o risco de se infectar é de 60%, entre 20% e 60% e menor que 20% respectivamente. (CDC, 2015). Em áreas de alta prevalência a maioria das infecções ocorrem durante a infância, já em regiões de prevalência intermediária as infecções ocorrem tanto na infância quanto na fase adulta e em áreas com baixa prevalência os maiores índices de infecção estão entre adolescentes e adultos (TRÉPO, CHAN, LOK, 2014).



Figura 1: Prevalência da infecção pelo HBV ao redor do mundo em crianças de 05-09 anos. WHO, 2015.

A prevalência entre crianças varia de acordo com a região, na África Subsaariana a prevalência entre indivíduos de 0 a 14 anos do sexo feminino é de 8%. Em países da América do Norte, como o Canadá e os Estados Unidos apresentam índices mais baixos, em que crianças de 0 a 4 anos demonstram uma prevalência de 2,14%. Na Europa central a prevalência em crianças do sexo feminino caiu pela metade em 15 anos, passando de 6% para 3% em 2005, porém o Leste Europeu ainda permanece com o maior índice de crianças entre 0 e 9 anos como sendo a mais afetada pela infecção pelo HBV. Na América Latina houve uma queda dessa prevalência em crianças, principalmente do sexo masculino entre 0 e 9 anos, em que passou de 5% em 1990 para 1,6% em 2005, deixando de ser uma área de endemidade intermediária para baixa endemidade (OTT et al, 2012).



Figura 2: Prevalência da infecção pelo HBV ao redor do mundo em adultos de 19-49 anos. WHO, 2015.

Um amplo estudo de base populacional conduzido nas capitais brasileiras demonstrou uma baixa endemicidade para hepatite B no Brasil com taxas abaixo de 1%, sendo que na Região Centro-Oeste a prevalência foi de 0,31%, caracterizando a região de baixa endemicidade (PEREIRA et al, 2010).

Embora o país apresente baixa endemicidade, a distribuição da infecção não é homogênea (SOUTO, 2016). De 1999 a 2011 foram registrados no SINAN 120.343 casos de hepatite B no Brasil, sendo 36,3% na região Sudeste, 31,6% na Sul, 13,1% na Norte, 9,9% na Centro-oeste e 9,2% na Nordeste, sendo que em 11 anos (2000-2011) ocorreram 9.659 óbitos no país devido Hepatite B (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

Em Goiânia – GO, estudos realizados em grupos específicos têm mostrado prevalências para o HBsAg variando de 0,6% (OLIVEIRA et al, 2006) em adolescentes a 5,8% em hemodialisados (TELES et al, 2002) respectivamente.

1.2 Vírus da hepatite B

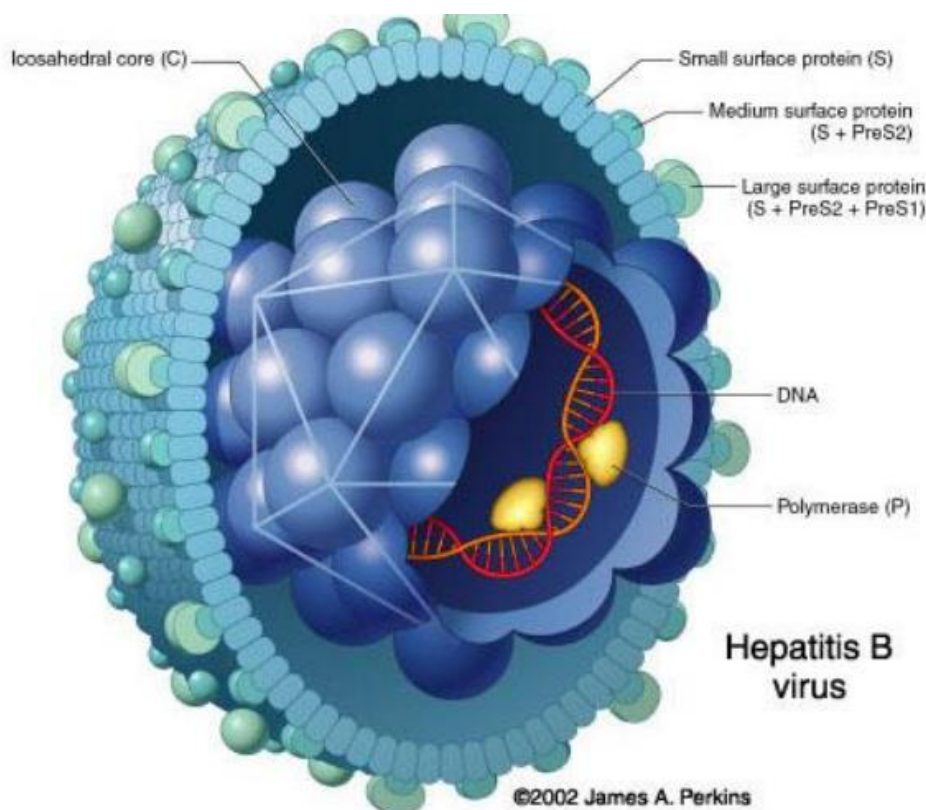


Figura 3 – Representação esquemática do vírus da hepatite B

Fonte: 2002 James A. Perkins, Medical and Scientific illustrations
<http://people.rit.edu/japfaa/infectious.html>

O vírus da Hepatite B é um vírus hepatotrópico, com 42 nm de diâmetro, pertencente à família *Hepadnaviridae*, gênero *Orthohepadnavirus* (ICTV, 2014), tendo como hospedeiro exclusivo o homem (CHURIN, RODERFELD, ROEB, 2015). Seu genoma possui aproximadamente 3,2 Kb, sendo formado por uma fita dupla de DNA, circular, parcialmente dupla, que se replica por transcrição reversa vírus.

No genoma viral são encontradas quatro sequências de leitura aberta - ORFs, denominadas Pré S/S, Pré-C/C, P e X que codificam as proteínas estruturais e não estruturais do HBV. A sequência Pré S/S codifica as proteínas do envelope viral: S (small), M (middle) e L (large). Estas proteínas estão associadas a ligação do vírus a célula hospedeira. Além disto, a proteína S induz a produção de anticorpos neutralizante, sendo utilizada na produção de vacinas contra hepatite B (LIANG, 2009; MICHEL, TIOLLAIS, 2010).

carga viral, genótipos e resistência aos antivirais são realizados testes moleculares (VILLAR et al, 2015).

O HBsAg é o primeiro marcador a ser encontrado no soro do indivíduo infectado, podendo estar presente entre seis e doze semanas após o contato com o vírus e pode permanecer detectável por até seis meses, indicando que o indivíduo está infectado (BOWDEN, 2006; CDC, 2015). O desaparecimento do HBsAg e surgimento do anti-HBs, caracteriza a resolução da infecção e imunidade contra novas exposições ao HBV. O HBeAg aparece logo após o HBsAg e permanece presente por até três meses, indicando replicação viral. Após o seu declínio surge o seu anticorpo correspondente anti-HBe indicando diminuição da viremia (KAO, 2008; LIANG, 2009, CDC, 2015; VILLAR et al, 2015). O HBcAg não é encontrado no soro dos indivíduos infectados, sua detecção só se faz possível por meio de biópsia do fígado, já o anti-HBc está presente nas fases aguda, crônica e após a cura, indicando contato com o vírus, permanecendo no organismo por toda a vida. Suas frações IgM e IgG diferenciam uma infecção recente de uma passada, a primeira é detectável até seis meses após a doença e é o melhor marcador para indicar infecção aguda, a segunda permanece presente por toda vida do indivíduo exposto ao vírus (LIAW, CHU, 2009; CDC, 2015; VILLAR et al, 2015).

Considera-se hepatite B crônica quando o HBsAg permanece no soro do indivíduo por um período maior que seis meses e normalmente estão presentes o anti-HBc total e HBV-DNA (BOWDEN, 2006; LIAW, CHU, 2009; OTT et al, 2012). A concentração de DNA do HBV presente no soro é medida por PCR e usada para diferenciar uma doença ativa com HBeAg negativo de uma infecção crônica inativa, e decidir se o tratamento deve ser feito ou apenas manter a monitoração do quadro.

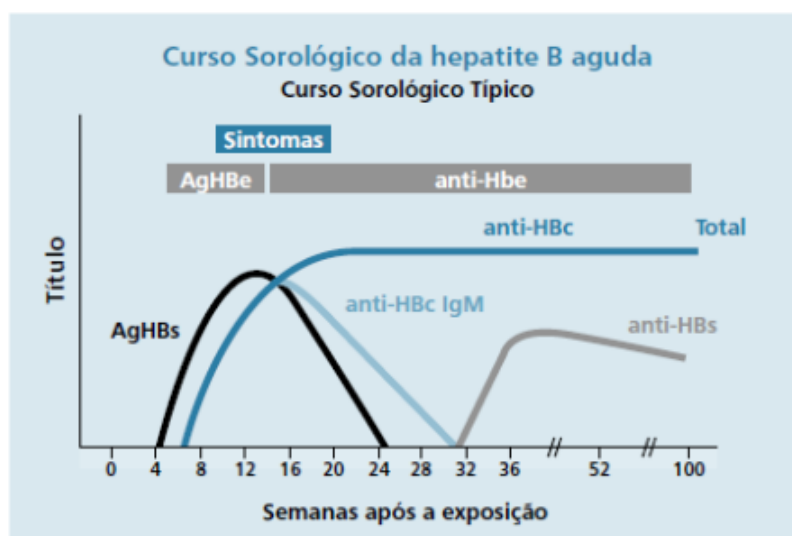


Figura 5: Curso sorológico da hepatite B aguda

Fonte: Ministério da saúde, 2008

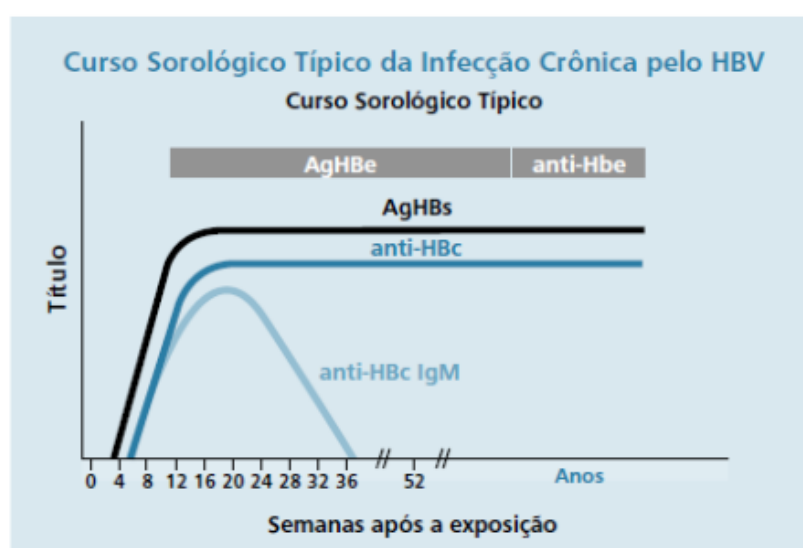


Figura 6: Curso sorológico da hepatite B crônica

Fonte: Ministério da saúde, 2008

1.4 Transmissão, aspectos clínicos e tratamento da hepatite B

O HBV tem alta taxa de infectividade, chegando a ser 100 vezes maior que o do HIV (TAUIL et al, 2012; CDC, 2015), sendo capaz de permanecer viável por até sete dias em superfícies em temperatura ambiente (BOND et al, 1981).

Pode ser transmitido por via parenteral, sexual e vertical, por meio de

exposição percutânea ou de mucosa a sangue ou fluidos corpóreos de indivíduos infectados como saliva, sêmen e fluido vaginal (ABBAS, SIDDIQUI, 2011; PUDELCO, KOEHLER, BISELTO, 2014; WHO, 2015). Relação sexual desprotegida, transfusão sanguínea, compartilhamento ou reuso de seringas por usuários de drogas, promiscuidade sexual, pessoas hemodialisadas e contato em longo prazo com portadores do HBV são fatores que aumentam o risco de se contrair este vírus (LIAW, CHU, 2009; ALJARBOU, 2013).

Em locais de alta endemicidade a transmissão vertical é muito comum, sendo a maior rota de transmissão em várias partes do mundo, podendo ser observado um alto índice de transmissão horizontal entre crianças (WHO, 2015). Em regiões de baixa endemicidade a principal forma de contaminação é por via sexual e utilização de agulhas contaminadas, principalmente por usuários de drogas injetáveis (WHO, 2009).

O período de incubação do vírus é de 30 a 60 dias, podendo variar de um a seis meses após a exposição ao vírus (SHIFFMAN, 2010). Na hepatite B aguda esta fase é seguida pelo período pré-ictérico ou prodrômico em que os sintomas são inespecíficos como febre, fadiga, anorexia, náusea e mialgia e dura alguns dias. Durante essa fase os níveis séricos de ALT aumentam e altos níveis de HBsAg e HBV DNA são detectáveis. Após essa fase o indivíduo pode apresentar icterícia ou colúria, e essa fase dura de uma a duas semanas. A hepatite fulminante ocorre em cerca de 1% dos pacientes, sendo caracterizada pelo aparecimento repentino de febre, dor abdominal, vômito e icterícia, seguidos por desorientação, confusão mental e coma (LIANG, 2009; DÉNY, ZOULIN, 2010; CDC, 2015).

A hepatite B crônica possui um curso dinâmico e variável, podendo passar por um quadro de alta carga viral sem lesão hepática ativa ou apresentar inflamação hepática com carga viral baixa (McMAHON, 2010). Inicialmente HBeAg, HBsAg e HBV DNA estão presentes em alta quantidade e alteração moderada da aminotransferase sérica (LIANG, 2009).

A progressão para a forma crônica é inversamente proporcional à idade em que o indivíduo é infectado. Estudos demonstram que a possibilidade de uma criança que se infecta ao nascer, quando as mães são HBsAg e HBeAg positivas, evoluir para a forma crônica da doença é de 90%. A administração da vacina e

imunoglobulina no recém-nascido nas primeiras 24 horas após o nascimento reduz o risco para 10% - 5% (BUT et al, 2008; McMAHON, 2010; LOCARNINI et al, 2015). Em menores de cinco anos a taxa de cronificação é entre 20% e 60%, e em adultos de 5% a 10% (WHO, 2015).

Na hepatite crônica os sinais e sintomas são presentes somente na fase mais adiantada quando surgem complicações, sendo os principais sintomas fadiga, falta de apetite e perda de peso (TAUIL et al, 2012). Vários fatores aumentam a chance de cronificação, como tabagismo, abuso de álcool, sexo, genótipo do vírus, coinfeção com HIV e HCV ou outras comorbidades. Portadores de hepatite crônica tem chance de 15% a 25% de morrerem prematuramente devido complicações causadas por esse vírus, como cirrose e carcinoma hepatocelular (WHO, 2009; McMAHON, 2010; LOCARNINI et al, 2015).

A evolução da forma crônica geralmente está ligada a casos graves. Na fase aguda o tratamento é sintomático, dispensando o uso de antivirais, já na fase crônica o tratamento preconiza a diminuição da replicação viral, minimizando as chances de progressão da doença (SHIFFMAN, 2010). Em 20 anos de pesquisa foram desenvolvidas sete drogas para o combate desse vírus, elas são efetivas na supressão da replicação viral, normalização da ALT, diminuição de inflamação hepática e reversão da fibrose hepática. A Associação Europeia de Estudos do Fígado divide as drogas em três categorias, sendo Interferon, Interferon-peguilado e análogos de nucleotídeos, sendo estes últimos divididos em nucleosídeos (lamivudina, telbivudina, emtricitabina e entecavir) e nucleotídeos (adefovir e tenofovir) (EASL, 2012). O Interferon que é administrado por via parenteral e apresenta vários efeitos colaterais e análogos de nucleotídeos que são administrados por via oral com uma atividade antiviral potente e poucos efeitos colaterais. Vale ressaltar que as drogas utilizadas suprimem a replicação viral, mas não erradicam o vírus (LOK, 2011; LOCARNINI et al, 2015).

No Brasil é recomendada a utilização de Interferon-alfa, Interferon-alfa peguilado, lamivudina, tenofovir, entecavir e adefovir, sendo todas disponibilizadas pelo serviço de saúde pública (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

1.5 Imunização contra a infecção pelo HBV

Em 1971 Samuel Krugman, nos Estados Unidos, deu início a pesquisa para o desenvolvimento da vacina contra o HBV, inoculando soro com vírus inativado pelo calor em crianças com necessidades especiais, os resultados não foram satisfatórios pois não apresentaram uma proteção adequada (FONSECA, 2010).

O antígeno de superfície do HBV é comum a todos os genótipos existentes, durante a replicação viral vários subcomponentes do vírus são produzidos, incluindo o HBsAg, que é encontrado no soro do indivíduo com diferentes formas (SAID, ABDELWAHAB, 2015). As vacinas contra a hepatite B foram desenvolvidas no final da década de 1970 e início de 1980 nos Estados Unidos e França, a partir de plasma humano de indivíduos com a forma crônica da infecção, posteriormente foram substituídas por vacinas fabricadas através de engenharia genética, conhecida como técnica de DNA recombinante (FERREIRA, SILVEIRA, 2006; SHOUVAL, ROGGENDORF, ROGGENDORF, 2015).

As primeiras vacinas contra o HBV produzidas através de plasma humano continham HBsAg purificado e inativado (MICHEL, TIOLLAIS, 2010), foi demonstrada alta imunogenicidade e eficácia dessas vacinas (SHAW et al, 1988; McMAHON et al, 1992), porém o uso desta não se deu por muito tempo devido à preocupação quanto à segurança na utilização de produtos derivados de sangue humano e ao fato de não ser possível sua produção em larga escala pois existia uma inconsistência nas fontes de partículas virais brutas (SHOUVAL, 2003).

Subsequentemente as vacinas com HBsAg recombinante foram desenvolvidas, contendo a proteína *small* (S), abrangendo os aminoácidos 124-149 como epítipo imunogênico dominante (Romanò et al, 2015), são produzidas a partir da clonagem do gene do HBV dentro de células de levedura, que são cultivadas em larga escala para amplificar a codificação do DNA recombinante, produzindo assim uma grande quantidade de antígeno específico (HBsAg), que posteriormente é purificado e combinado com adjuvantes para a composição da vacina (SHOUVAL, 2003). Essas vacinas induzem a síntese ativa do antiHBs e produz uma memória imunológica prolongada, promovendo uma proteção contínua contra o HBV (WEST, CALANDRA, 1996). Essas vacinas são utilizadas em mais de 170 países (WHO, 2009).

A primeira vacina a ser produzida através da técnica recombinante foi a Engerix™-B, produzida pelo laboratório belga *SmithKline Beecham Biologicals, Rixensart, Belgium* e ainda hoje é considerada como padrão-ouro. Atualmente vários países produzem a vacina contra hepatite B, incluindo o Brasil.

O Brasil iniciou a produção da vacina recombinante contra hepatite B em 1999, sendo desenvolvida pelo Instituto Butantan utilizando como sistema de expressão para obtenção do HBsAg recombinante a levedura *Hansenulla polymorpha* modificada (IOSHIMOTO et al., 1999; MARTINS et al., 2004).

Com o intuito de aumentar a eficácia e prolongar a duração da proteção contra o HBV uma segunda geração de vacina recombinante foi desenvolvida (SHOUVAL et al, 1994). Essa geração contém proteínas Pré-S2 e Pré-S1 do envoltório viral introduzidas em células de mamíferos (células de ovário de hamster) e purificadas para a eliminação de elementos da célula hospedeira, sendo produzidas na Alemanha, França, Coreia e Israel (SHOUVAL, ROGGENDORF, ROGGENDORF, 2015). Ao se realizar experimentos com ratos essa vacina induziu uma produção maior de anticorpos quando comparadas com a vacina produzida a partir de leveduras (SHOUVAL et al, 1994) e atualmente são indicadas para grupos de risco e não respondedores às vacinas recombinantes convencionais (SHOUVAL, ROGGENDORF, ROGGENDORF, 2015).

Vários estudos foram realizados utilizando plantas geneticamente modificadas como alternativa para o desenvolvimento de uma vacina barata e comestível contra o HBV. Esses estudos mostraram a preservação de epítomos de HBsAg em células B e T, quando o antígeno é expresso em uma planta transgênica (THANAVALA et al, 1995). Recentemente o protótipo da vacina oral contra o HBV está sendo desenvolvido por meio de expressão do HBsAg em folhas e necessita ser avaliado quanto à sua eficácia em humanos (PNIEWSKI et al, 2013).

Em 1991 a OMS, com o intuito de reduzir o impacto das infecções pelo HBV, recomendou a vacinação para todas as crianças ao nascer, tornando-se rotina na imunização, e implementada em vários países, com comprovada redução da infecção crônica da hepatite B. Tailândia, Itália, Arábia Saudita, Espanha e Estados Unidos são exemplos de países que reduziram a prevalência de hepatite B após

esta medida (EUROPEAN CONSENSUS GROUP ON HEPATITIS B IMMUNITY, 2000; FITZSIMONS et al 2005; FAGUNDES; TABALIPA; SILVA, 2012).

No Brasil, o Ministério da Saúde iniciou a vacinação contra hepatite B em 1992, realizando campanhas em áreas hiperendêmicas, sendo implantada nacionalmente no Programa Nacional de Imunizações (PNI), em 1998, indicada para menores de um ano. A partir de 2013 se tornou disponível para indivíduos de até 49 anos e população de risco elevado (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014a) e em 2016 passou a ser administrada em toda a população sem limite de idade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015b).

O esquema básico, indicado para indivíduos saudáveis e imunocompetentes é de três doses da vacina, sendo a dose inicial nas primeiras 24 horas, preferencialmente nas primeiras 12 horas de vida, a segunda após 30 dias e a terceira após 180 dias (0,1,6 meses), sendo que há esquemas especiais dependendo da necessidade de cada grupo a ser atingido e da dinâmica de cada país (FERREIRA; SILVEIRA, 2006; WHO, 2009; CDC, 2015). Caso ocorra a interrupção do esquema vacinal não há necessidade de recomeçá-lo, apenas se completa o esquema sendo a próxima dose realizada o mais breve possível e a terceira dose com pelo menos 30 dias de diferença da segunda (WHO, 2009). As vacinas podem ser monovalentes, ou conjugadas com outros tipos de vacina, porém é recomendado que ao nascer, a primeira dose seja realizada com a vacina monovalente (LAUNAY, FLORET, 2015; WHO, 2015).

No Brasil, o PNI indica esquemas diferentes de acordo com a idade do indivíduo, a partir de 2012, para crianças inicia-se com uma dose da vacina monovalente contra hepatite B nas primeiras 12 horas de vida, posteriormente o esquema é completado com a vacina adsorvida difteria, tétano, *pertussis*, hepatite B (recombinante) e *Haemophilus influenzae* b (conjugada) - Penta, formada pelos seguintes componentes: difteria, *pertussis*, tétano, hepatite B e *Haemophilus influenzae* b. A penta é administrada aos 2, 4 e 6 meses, podendo ser realizada até 4 anos, 11 meses e 29 dias. Já para adultos o esquema recomendado é de 0, 1 e 6 meses com a vacina monovalente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014a).

A vacina pode ser administrada por via intramuscular na região deltóidea, vasto lateral da coxa ou ventroglútea (JUNQUEIRA et al., 2010; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014a), não podendo ser realizada na região dorsoglútea devido à grande quantidade de tecido adiposo encontrada neste local, podendo prejudicar a absorção do imunógeno (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014a). A dosagem varia de acordo com o fabricante, porém em geral menores de 20 anos recebem metade da dose indicada para o adulto (WHO, 2009).

O volume da vacina monovalente, de acordo com o PNI, também varia de acordo com a faixa etária, sendo de 0,5 ml em indivíduos menores de 20 anos e um ml a partir de 20 anos, essa dosagem pode variar caso o indivíduo pertença a grupos de risco, como renais crônicos, politransfundidos e hemofílicos, em que se adota o dobro da dose indicada normalmente devido a deficiência na produção de anticorpos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014a).

Estudos apresentaram a boa imunogenicidade da vacina brasileira comparada à padrão-ouro, porém a resposta em indivíduos maiores de 30 anos tem se mostrado menor. Inicialmente a dose indicada era de 20 µg para adultos e metade desta para menores de 20 anos, porém devido à baixa resposta em indivíduos mais velhos passou-se a utilizar uma concentração de 25µg/ml do antígeno (IOSHIMOTO *et al.*, 1999; MARTINS *et al.*, 2004; MORAES, LUNA, GRIMALDI, 2010).

A realização de ensaio imunoenzimático comprova a resposta imunológica pós-vacinal avaliando os níveis de anti-HBs no soro dos indivíduos vacinados, que deverá ser realizado entre 30 a 90 dias após a última dose do esquema vacinal, considerando imunes aqueles que obtiverem valores $\geq 10\text{mUI/ml}$ (JACK et al, 1999; LOPES et al., 2012).

Vários fatores podem contribuir para a resposta vacinal, como idade, sexo, conservação da vacina, local de administração, obesidade, doenças como diabetes, insuficiência renal, doença hepática crônica, câncer, sorologia positiva para HIV ou outras patologias imunossupressoras e uso de medicação imunossupressora (WHO, 2009; MICHEL, TIOLLAIS, 2010; LAUNAY, FLORET, 2015; SHOUVAL, ROGGENDORF, ROGGENDORF, 2015).

A reatogenicidade da vacina brasileira é similar à padrão-ouro e os eventos adversos pós vacinais são geralmente leves (IOSHIMOTO et al., 1999; MARTINS et al., 2004; JUNQUEIRA et al., 2010). Os principais eventos adversos relatados são mialgia, febre, dor e hiperemia local e desaparecem entre um a três dias, reações anafiláticas são raras (1/600.000 vacinados) (WHO, 2009; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014b; CDC, 2015; LUANAY, FLORET, 2015).

1.6 - Persistência dos anticorpos anti-HBs

A vacina contra a hepatite B produz uma resposta imune na maioria dos indivíduos vacinados, porém a duração dessa proteção ainda é desconhecida podendo ser estimada por estudos de seguimento (POOROLAJAL et al, 2010). A eficácia da vacina está amplamente ligada à indução de células T de memória (LEURIDAN, VAN DAMME, 2011). Os antígenos que se encontram na vacina promovem uma resposta imunológica celular e humoral, envolvendo na proteção contra o HBsAg interação entre células de memória B, T, linfócitos T citotóxicos e complexos antígeno-anticorpo (BANATVALA; VAN DAMME; OEHEN, 2001; VAN DAMME, VAN HERCK, 2007).

No esquema com três doses (0, 1 e 6 meses) as primeiras duas doses são suficientes para iniciar a produção do anti-HBs e estimular o sistema imune a desenvolver uma resposta secundária ao antígeno, já a terceira dose funciona como se fosse um reforço, estimulando essa resposta secundária e aumentando os níveis de anticorpos (EUROPEAN CONSENSUS GROUP ON HEPATITIS B IMMUNITY, 2000; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001; BANATVALA, VAN DAMME, 2003).

Aproximadamente 90% dos adultos e 95% das crianças respondem satisfatoriamente ao primeiro esquema vacinal com três doses, porém com o passar dos anos pode ocorrer o declínio dos títulos de anticorpos (LEURIDAN; VAN DAMME, 2011). Estudos vêm mostrando que a persistência dos anticorpos contra a hepatite B se mantém por longo período, podendo chegar até 23 anos (WU, ZHUANG, 2012; HUDU et al, 2013; GILCA et al, 2013; CHANG et al, 2014), porém após o esquema vacinal primário contra hepatite B os níveis de anticorpos anti-HBs diminuem na maior parte dos indivíduos, chegando a ficar abaixo do nível

considerado protetor, esse declínio ocorre de forma mais rápida em adultos que em crianças (LEURIDAN; VAN DAMME, 2011; SPRADLING et al, 2013).

Cerca de 60% dos indivíduos adultos que tiveram uma boa resposta inicial apresentam níveis $<10\text{mUI/ml}$ entre 5 e 15 anos após a vacinação (MAST et al., 2006) e de 15% a 50% das crianças que respondem satisfatoriamente ao primeiro esquema apresentam queda dos anticorpos no mesmo período de tempo (CHANG et al, 2014). Indivíduos que não respondem de forma satisfatória ao primeiro esquema vacinal com três doses devem receber um novo esquema vacinal com mais três doses da vacina (zero, um e seis meses). Caso ainda não ocorra uma resposta imune adequada para a proteção esse indivíduo deve ser considerado suscetível à infecção pelo HBV, não sendo indicada a administração de doses adicionais (CDC, 2015).

A diminuição ou o desaparecimento do anti-HBs não quer dizer necessariamente que ocorreu a perda da imunidade (KAO; CHEN, 2005), já que o organismo promove uma resposta secundária através dos linfócitos B de memória relacionados ao antígeno, em um novo contato com o vírus, produzindo um aumento dos níveis de anticorpos, reação conhecida como resposta anamnésica (WHO, 2009). Vários estudos sugerem a ocorrência desta resposta após a aplicação de uma dose de reforço da vacina em indivíduos com níveis de anti-HBs abaixo do preconizado como protetor (LIN et al., 2003; YUEN et al., 2004; WU; ZHUANG, 2012; HUDU et al, 2013; GILCA et al, 2013; CHANG et al, 2014).

A persistência desses anticorpos está amplamente relacionada com a resposta imunológica após o primeiro esquema vacinal, sendo que quanto maior a resposta primária, maior o tempo de persistência (EUROPEAN CONSENSUS GROUP ON HEPATITIS B IMMUNITY, 2000; FITZSIMONS et al, 2005; HAMMITT et al., 2007; BUT et al., 2008). Outros fatores podem estar relacionados a esta persistência como, tipo de vacina, quantidade e dosagem aplicadas, intervalo entre doses (GILCA et al, 2013; CHANG et al 2014) e tamanho da agulha (LIPPERT, WALL, 2008; COOK, 2009).

Há controvérsias sobre a necessidade de uma dose de reforço da vacina contra hepatite B em indivíduos que apresentaram boa resposta imune após o

primeiro esquema e que tiveram um declínio na quantidade de anticorpos com o passar dos anos. Alguns defendem a necessidade da administração desta após 15 anos do esquema primário, enquanto outros relatam não haver essa necessidade, pois o próprio organismo seria capaz de fornecer proteção caso ocorra o contato com o antígeno por meio da resposta anamnésica (LU et al, 2008; CHINCHAI et al., 2009; JAN et al, 2010; AGHAKHANI et al, 2011; CHANG et al, 2014; LAUNAY, FLORET, 2015)

Ainda não há consenso sobre a necessidade de doses de reforço em indivíduos imunocompetentes, fazendo-se necessário o desenvolvimento de estudos em longo prazo para a monitoração da vacina com a finalidade de confirmar a ausência de desenvolvimento de doenças causadas pela evolução da infecção pelo HBV em indivíduos previamente imunizados (EUROPEAN CONSENSUS GROUP ON HEPATITIS B IMMUNITY, 2000).

1.7 Justificativa

A hepatite B é uma das doenças imunopreveníveis com maior morbimortalidade em todo o mundo, podendo levar a complicações graves como cirrose e carcinoma hepatocelular. A idade na época da infecção é determinante para o desenvolvimento da doença crônica. Neonatos infectados possuem risco de até 90% ou mais de evoluírem para a doença crônica. Assim a OMS recomenda a implantação da vacina contra hepatite B de forma universal, iniciando o esquema nas primeiras 24 horas de vida. Atualmente aproximadamente 180 países aderiram à essa recomendação, diminuindo drasticamente a endemicidade do HBV (WHO, 2015).

Estudos realizados com as vacinas contra a hepatite B mostram a diminuição de níveis protetores de anti-HBs com o passar dos anos após vacinação, chegando a 60% de vacinados não respondedores depois de 5-15 anos do esquema (MAST et al., 2006; FAGUNDES; TABALIPA; SILVA, 2012).

Em 2007 e 2008 foi realizado um estudo controlado randomizado com 474 crianças que receberam a vacina brasileira monovalente contra hepatite B ao nascer

e foram acompanhadas em todo o esquema de vacinação (0, 30 e 180 dias). Neste estudo foram administradas as vacinas na região ventroglútea versus vasto lateral da coxa das crianças para a comparação da resposta imune e eventos adversos pós-vacinais locais e sistêmicos nesses diferentes sítios de aplicação. Posteriormente foi realizada a avaliação dos títulos protetores, constatando que 97,7% das crianças responderam com níveis protetores de anti-HBs, sendo a resposta vacinal semelhante independentemente do local da aplicação da vacina (JUNQUEIRA et al, 2010)

Em 2015, desenvolveu-se o estudo “Persistência de anticorpos protetores após sete anos de imunização contra hepatite B em lactentes em Goiânia – GO”, dando continuidade ao primeiro estudo, com finalidade de avaliar a persistência desses anticorpos em médio prazo, realizando novamente exames sorológicos após sete anos do esquema vacinal primário. Participaram deste estudo de seguimento 147 crianças e verificou-se que 67% apresentaram declínio de anti-HBs abaixo dos níveis recomendados como protetores, sendo que 98 crianças apresentaram títulos de anticorpos $< 10\text{mUI/ml}$, não sendo detectada diferença na persistência de anticorpos vacinais de acordo com o local de administração da vacina (VG vs VLC).

A proposta deste estudo foi avançar no conhecimento da imunogenicidade da vacina contra hepatite B em médio prazo, avaliando a resposta anamnética ao desafio antigênico induzido por uma dose booster da vacina.

2. OBJETIVO

Avaliar a resposta anamnética ao desafio antigênico induzido por uma dose *booster* da vacina contra hepatite B em crianças imunizadas com a vacina brasileira contra hepatite B, que apresentaram níveis de anti-HBs menores que 10 mUI/ml após sete anos da realização do esquema vacinal primário.

3. METODOLOGIA

3.1 Delineamento do Estudo

Estudo de coorte prospectiva, em que se avaliou a resposta anamnésica em crianças de oito anos que participaram de um ensaio clínico randomizado entre fevereiro de 2007 e julho de 2008 e que apresentaram declínio de anticorpos anti-HBs após sete anos do esquema vacinal iniciado nas primeiras 12 horas de vida do neonato.

3.2 População

A população constituiu-se de 98 crianças que participaram do estudo “Avaliação da persistência de anticorpos anti-HBs protetores após sete anos de imunização em neonatos” e apresentaram títulos de anticorpos anti-HBs <10mUI/ml.

3.3 Critérios de inclusão

- Ter participado do estudo “Ensaio clínico controlado e randomizado para avaliar a imunogenicidade e reatogenicidade da vacina contra Hepatite B (VrHB-IB®), aplicada em recém-nascidos na região ventroglútea ou vasto lateral da coxa” em 2007/2008;
- Ter apresentado título de anti-HBs < 10 mUI/mL após sete anos de imunização.

3.4 Critério de Exclusão

- Ter recebido doses adicionais da vacina contra hepatite B durante os últimos sete anos.

3.5 Variáveis do Estudo

- Dados sócio-demográficos: sexo, raça.
- Data da dose de reforço, local em que foram aplicadas as três doses da vacina (vasto lateral da coxa ou ventroglútea), patologias pré-existent, transfusão sanguínea e procedimento cirúrgico.

3.5.1 Variável de Desfecho

- Títulos de anti-HBs maior ou igual a 10mUI/ml após *booster*.

3.6 Etapas da pesquisa

3.6.1 Contato telefônico

Inicialmente, os responsáveis pelas crianças foram contatados por telefone, onde receberam o resultado do exame realizado anteriormente e informados que os títulos encontrados foram inferiores ao considerado de proteção, explicado todo o procedimento necessário para o seguimento do estudo. Neste momento os mesmos receberam informações sobre o projeto e foi agendado a visita domiciliar ou à sala de vacina de uma Unidade de Saúde da Secretaria Municipal de Goiânia, que se encontrava mais próxima ao endereço dos participantes, para que as crianças recebessem a dose de reforço da vacina contra hepatite B.

3.6.2 Procedimento para administração da vacina

As vacinas utilizadas foram produzidas pelo Instituto Butantan e oferecidas pela Divisão de Imunização da Secretaria Municipal de Saúde de Goiânia. A administração destas foi no domicílio da criança ou na sala de vacina da unidade de saúde elegida para o estudo. Foram armazenadas em geladeiras da sala de vacina desta unidade com temperatura entre +2 e +8° C e, quando necessário a realização da vacinação no domicílio da criança, as doses foram acondicionadas e transportadas em caixa térmica preparada com bobinas de gelo recicláveis e com termômetro com cabo extensor para o controle da temperatura (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

A vacina foi realizada conforme as normas PNI para esta faixa etária, na região do músculo deltoide direito (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014a). A criança foi posicionada confortavelmente em uma cadeira, com o braço direito flexionado, e a administração da vacina foi no centro desta musculatura, com agulha hipodérmica de 25x7 mm, após a realização de antisepsia com algodão umedecido com álcool a 70% e homogeneização do frasco multidoso da vacina.

Após este procedimento, agendava-se nova visita para a coleta do sangue para a realização da sorologia quantitativa do anti-HBs. O intervalo entre o *booster* e a coleta foi de quatro a seis semanas.

3.6.3 Coleta Sanguínea

A obtenção da amostra sanguínea foi realizada por punção em veia periférica de membro superior e coletado cinco mililitros (ml) de sangue. O sangue obtido foi conservado em tubo de ensaio numerado, de acordo com o número do protocolo do estudo, sendo então transportado, em caixa térmica até o laboratório multiusuário da Faculdade de Enfermagem da UFG, onde os soros foram separados e estocados a -20°C, posteriormente foram transportados em caixa térmica até o Laboratório de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros (LACEN – GO) para realização dos ensaios.

3.6.4 Testes Sorológicos

Todas as amostras sanguíneas foram testadas para a detecção quantitativa do marcador anti-HBs, por meio do ensaio imunoenzimático de micropartícula (MEIA), utilizando-se o Sistema AxSYM de automação e kits AxSYM™ AUSAB (Abbot Laboratórios do Brasil), conforme instruções do fabricante. O critério de soroproteção foi definido como concentração de anti-HBs igual ou superior a 10 mIU/mL (WHO, 2015).

3.6.5 Processamento e análise dos dados

Os resultados dos testes sorológicos foram digitados em microcomputador e analisados no programa SPSS versão 17.0. As médias geométricas dos títulos de anti-HBs foram calculadas com intervalo de confiança de 95%. O teste de qui-quadrado e Exato de Fisher foram utilizados para testar a significância de diferenças entre proporções. Valores de $p < 0.05$ foram considerados estatisticamente significantes.

3.7 Aspectos éticos

Projeto aprovado pelo comitê de ética em pesquisa HC/UFG, em abril de 2014, com parecer número 621.456. Os responsáveis pelas crianças que aceitaram participar da pesquisa assinaram antes da entrevista o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) e as crianças assinaram o Termo de assentimento. Todos os indivíduos da pesquisa foram identificados por números garantindo o sigilo dos dados coletados.

4 . RESULTADOS

Do total de crianças que foram vacinadas e avaliadas a resposta vacinal, sendo respondedoras no primeiro estudo (n=474), 147 (31,01%) foram analisadas sete anos após e destas, 98 (67%) não apresentaram títulos protetores de anti-HBs. Para essas crianças foi oferecida uma dose de reforço da vacina, sendo que em 78/98 (79,6%) seus responsáveis permitiram a administração da vacina e avaliação da resposta vacinal (Figura 5). A mediana do intervalo entre a dose *booster* e a coleta de sangue foi de 36 dias, variando de 30 a 45 dias, sendo duas crianças com coleta aos 98 dias.

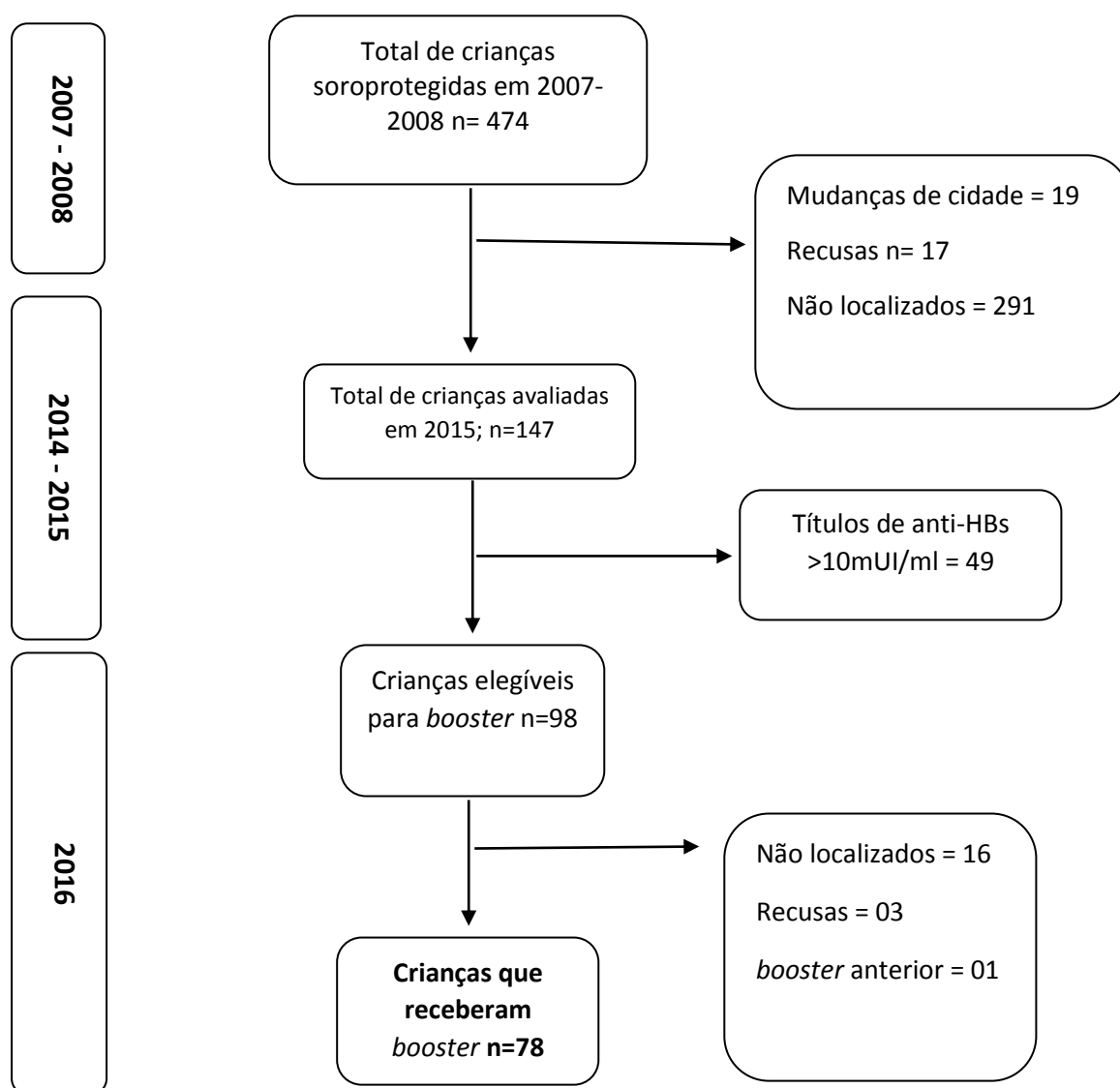


Figura 7 – Fluxograma de participantes da pesquisa de 2007 a 2016

4.1 – Resposta ao *Booster*

Das 78 crianças avaliadas, todas apresentaram algum título de anti-HBs, e 88,5% responderam ao *booster* da vacina recombinante brasileira contra hepatite B com títulos protetores (≥ 10 mUI/ml). Dezesesseis crianças (20,5%) apresentaram títulos de 10 a 99 mUI/mL, 38 (48,7%) de 100 a 999 mUI/mL e 15 (19,3%) títulos acima de 1000 mUI/mL (Figura 2). A média geométrica global dos títulos de anti-HBs foi 151,08 mUI/mL (IC 95%: 105,17 – 217,01).

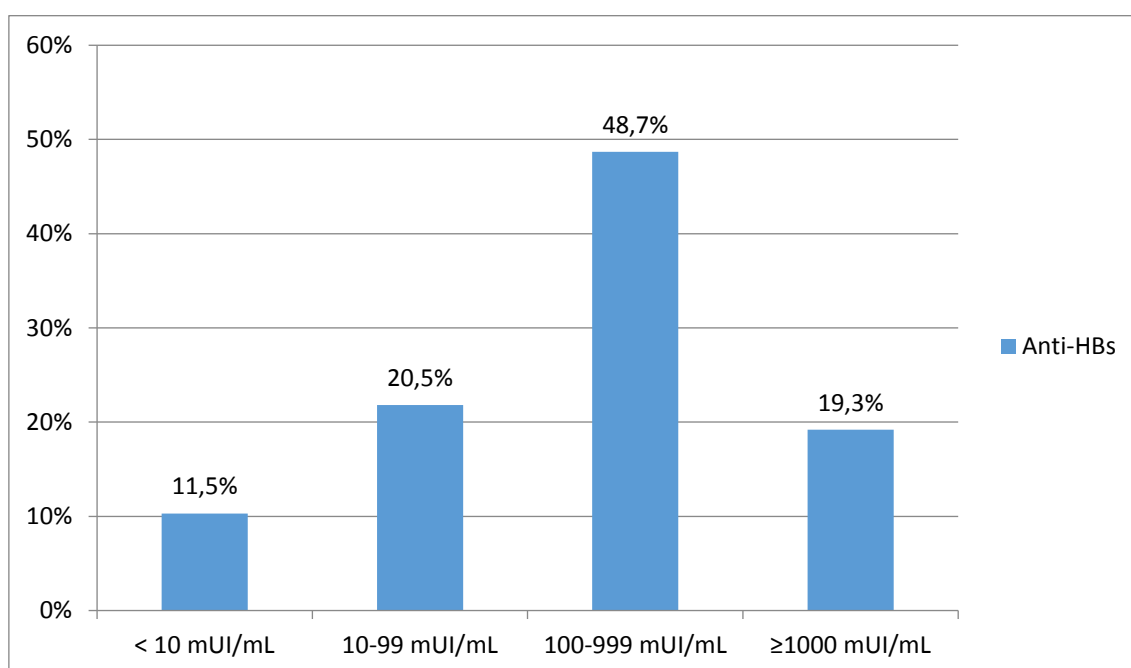


Figura 8 – Resposta anamnética após *booster* da vacina contra hepatite B

A resposta quantitativa (anti-HBs > 10 mUI/mL) ao *booster* não diferiu, considerando sexo, cor e local de administração do esquema primário (Tabela 1), bem como quando os títulos de anti-HBs foram categorizados (Tabela 2). Verificou-se correlação entre títulos elevados após a vacinação primária e após o *booster* (*Spearman* correlation = 0,445; $p = 0,001$). A figura 9 apresenta a relação entre títulos de anti-HBs pós esquema vacinal primário e após dose *booster*.

Tabela 1 – Resposta qualitativa a uma dose da vacina contra hepatite B em crianças que perderam os títulos protetores de anti-HBs após sete anos de vacinação

Variável	Anti-HBs > 10 mUI/mL (n=78)				Valor de <i>p</i>
	Pos	%	Neg	%	
Sexo					
Feminino	34	91,9	03	8,1	0,326
Masculino	35	85,4	06	14,6	
Cor					
Branca	44	89,8	05	10,2	0,355
Parda/Negra	24	88,9	03	11,1	
Amarela	01	50,0	01	50,0	
Local da vacinação primária					
Vasto lateral da coxa	33	91,7	03	8,3	0,326
Ventroglúteo	36	85,7	06	14,3	

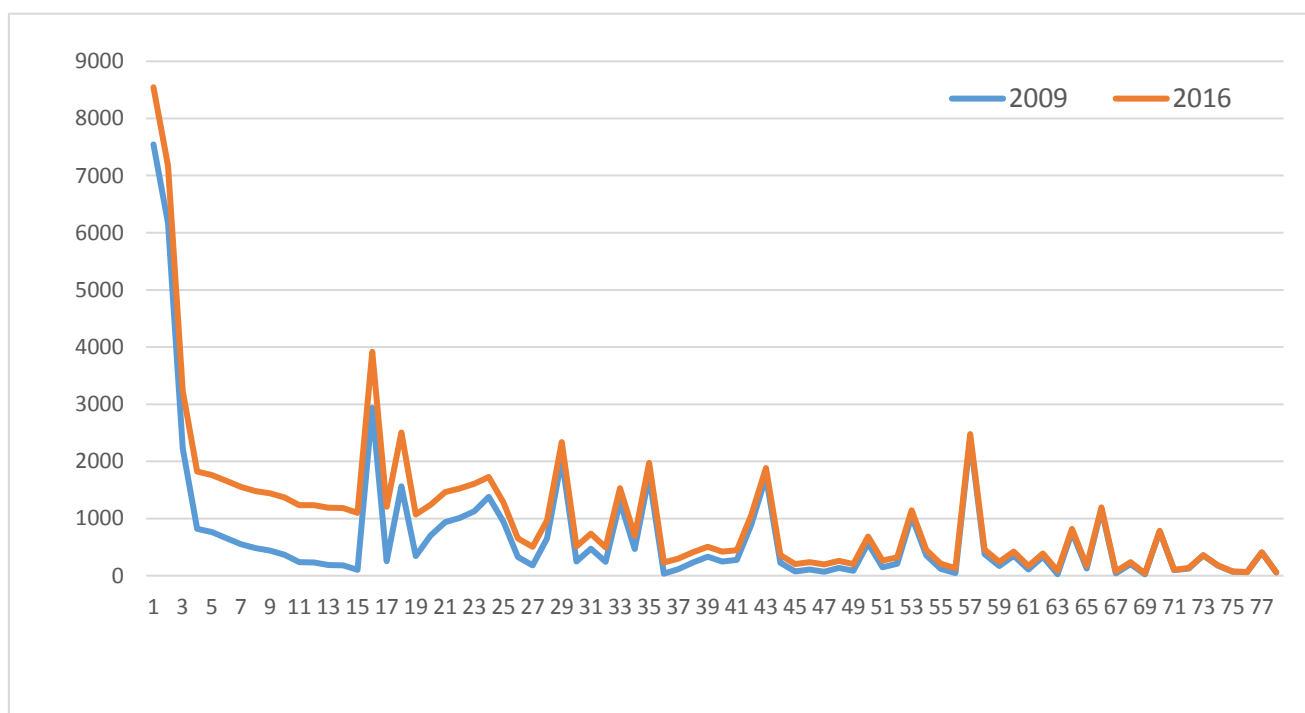


Figura 9 - Relação entre títulos de anti-HBs após esquema primário e após booster

Tabela 2– Resposta a uma dose da vacina contra hepatite B em crianças que perderam os títulos protetores de anti-HBs após sete anos de vacinação, de acordo com títulos

Variável	Anti-HBs								Valor de p
	< 10 mUI/mL		10-99 mUI/mL		100-999 mUI/mL		>1000 mUI/mL		
	n=09		n=16		n=38		n=15		
Sexo	N	%	n	%	n	%	n	%	
Feminino	03	8,1	07	18,9	17	46,0	10	27,0	0,458
Masculino	06	14,6	09	22,0	21	51,2	05	12,2	
Cor									
Branca	05	10,2	09	18,4	26	53,0	09	18,4	0,437
Pardo/preto	03	11,1	06	22,2	12	44,4	06	22,2	
Amarela	1	50,0	1	50,0	0		0		
Local da vacinação primária									
Vasto lateral da coxa	03	8,3	08	22,2	18	50,0	07	19,5	0,902
Ventroglútea	06	14,3	08	19,0	20	47,7	08	19,0	

5. DISCUSSÃO

No estudo desenvolvido em 2007-2008 com 580 neonatos, após as três doses da vacinação primária iniciadas nas doze primeiras horas de vida, 474 apresentaram títulos protetores de anti-HBs ($\geq 10 \text{ mUI/ml}$), independentemente do local onde foi administrado a vacina (região ventroglútea ou no vasto lateral da coxa) (JUNQUEIRA et al, 2010). Em 2014-2015 avaliou-se a persistência desses títulos em 147 destas crianças, observando um declínio na grande maioria (66,7%) independentemente do local da aplicação do imunógeno, tornando-se necessária a verificação da manutenção da imunidade nesses indivíduos visto que a diminuição de anticorpos não significa a perda da imunidade, (ROMANÒ et al, 2015; MADALINSKI, KOLAKOWSKA, GODIZIK, 2015). No presente estudo, verificou-se que após desafio antigênico com uma dose *booster* neste grupo de crianças, todas apresentaram algum título de anti-HBs, sendo que 89% obtiveram níveis protetores, confirmando a eficácia da vacina brasileira no desenvolvimento da resposta anamnésica.

Verificou-se correlação entre os títulos da vacinação primária e após o *booster*, em que as crianças que apresentaram títulos maiores após o esquema primário também obtiveram títulos maiores após o reforço.

Vários estudos têm mostrado a avaliação da resposta anamnésica da vacina recombinante contra a hepatite B ao redor do mundo. Salama et al 2016, em um estudo realizado no Egito, avaliaram a resposta ao *booster* em 1070 indivíduos entre 9 meses e 16 anos de idade que apresentaram declínio de anticorpos após esquema primário de vacinação, utilizando a vacina recombinante contra hepatite B, verificando que cerca de 90,4% desses indivíduos obtiveram uma resposta anamnésica satisfatória após um mês da aplicação da dose de reforço. Na Alemanha, Van der Meeren, Behre e Crasta 2016, apontaram uma resposta anamnésica satisfatória de 97,9% em adolescentes entre 15 e 16 anos, após um mês da administração de *booster* com vacina recombinante (EngerixB®). Gilca et al 2013, no Canadá apresentam resultados semelhantes em pré-adolescentes, vacinados na infância e que receberam *booster* utilizando a vacina EngerixB® em 5, 10 ou 15 anos após vacinação primária.

Estudos realizados em países de alta endemicidade para o HBV mostram taxas de resposta anamnésica mais alta, cerca de 95% dos indivíduos que receberam *booster* desenvolveram títulos protetores (LU et al, 2008; CHINCHAI et al, 2009; JAN et al, 2010; ZHU et al, 2011; CHAVES et al, 2012), enquanto aqueles realizados em países com endemicidade intermediária ou baixa apresentam taxas menores de respondedores ao *booster*, variando de 50% a 79% (DENTINGER et al, 2005; HAMMITT et al, 2007; SAMANDARI et al, 2007; BIALEK et al, 2008). O Brasil está entre os países de baixa endemicidade, no entanto obtivemos uma alta taxa de resposta anamnésica, assim como ocorrido na Turquia (AYPAK et al, 2012) e na Itália (PETERSEN et al, 2004).

Os indivíduos respondedores à vacina contra hepatite B podem ser divididos em três grupos de acordo com o nível de anticorpos apresentados, sendo eles: baixos respondedores (títulos entre 10 e 99 mUI/ml), bons respondedores (títulos entre 100 e 999 mUI/ml) e ótimos respondedores (títulos ≥ 1000 mUI/ml). No presente estudo 22% dos indivíduos foram baixos respondedores, 49% bons respondedores e 19% considerados ótimos respondedores após *booster*. Estudos foram desenvolvidos com vacinas recombinantes contra hepatite B de diversos laboratórios ao redor do mundo. Na Alemanha, Van der Meeren, Behre e Crasta, 2016, demonstraram uma taxa maior de bons e ótimos respondedores, sendo que cerca de 90,8% apresentaram níveis de anticorpos maiores que 100mUI/ml após dose booster. Teoharov et al 2013, utilizando a vacina EngerixB®, na Bulgária também encontraram taxas de bons e ótimos respondedores maior que 90% em indivíduos entre 5 e 15 anos. Na Itália foi encontrada uma taxa de 82,4% de bons e ótimos respondedores utilizando a vacina HBVaxpro® (CHIARA et al, 2014), em contrapartida Katoonizadeh et al 2016, encontraram no Irã cerca de 35% de indivíduos com resposta pós *booster* entre 10 e 99 mUI/ml, sendo influenciados pela idade em que o *booster* foi administrado, sendo que quanto menor idade mais altos foram os níveis protetores, o mesmo acontecendo com os níveis de anti-HBs pré - *booster*.

A média geométrica global dos títulos de anti-HBs foi 151,08 mUI/mL (IC 95%: 105,17 – 217,01), corroborando com estudos feitos no Alasca que encontrou média de títulos de 150,4 mUI/ml utilizando a vacina *Recombvax*® (BRUCE et al, 2016).

Entretanto estudos realizados em países de alta endemicidade apresentaram médias geométricas mais elevadas, entre 400 e 4000 mUI/ml (KATOONIZADEH ET AL, 2016; VAN DER MEEREN ET AL, 2016), o que ocorre provavelmente devido à maiores chances de se entrar em contato com o vírus durante a vida em locais com alta endemicidade, fazendo com que o organismo responda de uma forma mais intensa, produzindo maior títulos de anticorpos.

A resposta qualitativa (anti-HBs > 10 mUI/mL) ao *booster* não diferiu, considerando sexo, cor e local de administração do esquema primário, não tendo a falha imunológica preditor sociodemográfico (SALAMA et al, 2016). Outros estudos apresentaram ainda como preditores a idade em que o *booster* foi administrado (KATOONIZADEH et al, 2016), o tempo entre a administração e a coleta (PETRY, KUPEK, 2006) e o nível de anti-HBs pré *booster*, sendo considerado um fator importante em vários estudos, onde os valores entre dois e 9,9 mUI/ml apresentam uma maior probabilidade de desenvolvimento de resposta anamnésica mais forte e com títulos maiores que aqueles que apresentam títulos abaixo de 2mUI/ml ou indetectáveis (CHEN et al, 2015; BRUCE et al, 2016).

Outro ponto importante salientado pelo estudo foi a correlação entre títulos obtidos após a vacinação primária e após o *booster* (*Spearman* correlation = 0,445; $p = 0,001$), indicando que aqueles indivíduos que apresentam títulos maiores após o primeiro esquema vacinal apresentam uma maior resposta ao *booster* que aqueles que apresentam títulos mais baixos, o mesmo foi salientado por Chaves et al 2012, Su et al 2007, van der Sande 2006, Romanò et al 2015, que destacaram que crianças com títulos entre 10 e 99 mUI/ml após a primeira vacinação têm menor chance de apresentar resposta anamnésica ao *booster* que aquelas que apresentam títulos maiores.

Nove crianças não responderam ao desafio antigênico com títulos protetores de anti-HBs, ratificando estudos prévios que mostram que cerca de 3 a 6% dos indivíduos permanecem como não respondedores após uma dose booster (SALAMA et al, 2016; CHEN et al, 2015).

Nenhuma correlação foi encontrada entre as nove crianças não respondedoras presentes neste estudo, porém há pesquisas que apontam respondedores ao

primeiro esquema, não persistindo com títulos protetores com o passar dos anos, não havendo consenso sobre o motivo desta reação. Acredita-se que o sistema imune de pessoas que foram vacinadas continua reconhecendo o antígeno da hepatite B mesmo após 30 anos da vacinação, pois a resposta humoral permanece por pelo menos 30 anos, porém faz-se necessários estudos que determinem o *status* da imunidade celular para esses indivíduos que perderam os títulos de anti-HBs e falharam ao *booster* (BRUCE et al, 2016).

Este estudo confirma a qualidade e eficácia da vacina brasileira contra hepatite B que após um *booster* apresentou resposta anamnésica semelhante às outras vacinas utilizadas ao redor do mundo, inclusive à Engerix B considerada padrão ouro, porém continua sendo necessário pesquisas com monitoração das crianças que iniciam o esquema vacinal ao nascer para garantir a proteção contra o HBV a longo prazo.

Contudo, com a introdução da vacina Penta, a qual apresenta uma concentração menor de antígeno que a vacina monovalente, novos estudos deverão ser realizados a fim de avaliar a resposta vacinal com esse novo esquema.

6 – CONCLUSÃO

Do total de 147 crianças, 78 foram avaliadas quanto aos títulos de anti-HBs pós *booster*, destas 69 obtiveram uma resposta protetora. Os resultados da resposta anamnésica após o *booster* evidenciam a efetividade da vacina brasileira contra a hepatite B em médio prazo, sendo esta capaz de produzir memória imunológica no indivíduo vacinado.

Todas as crianças obtiveram algum título de anti-HBs sendo que nove delas (11,5%) apresentaram níveis abaixo do recomendado como protetor.

Nenhum fator sociodemográfico foi preditor da falha ou sucesso da resposta anamnésica, sendo esta relacionada apenas ao nível de anti-HBs após a vacinação primária.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Uma das limitações deste estudo foi a perda de 21% dos participantes elegíveis para o estudo, outra foi o limite de detecção do aparelho utilizado para a verificação quantitativa do anti-HBs, **cobas® e 411 - Biogenetix**, pois este verifica com limite mínimo de 2,0 e máximo de 1000, podendo influenciar na média de valores dos títulos, pois não foi feita a diluição para detecção dos valores maiores que 1.000, não precisando os valores dos níveis de anti-HBs acima de mil.

Outro fator importante que influenciou o trabalho foi o tempo de desenvolvimento, como este era continuação de outro estudo necessitou que o projeto anterior fosse concluído para dar seguimento a este, o que nos resultou em um menor tempo para o desenvolvimento da parte de coleta e análise de dados, fazendo com que não pudéssemos avaliar as crianças não respondedoras ao *booster* administrando outras duas doses para completar o esquema como preconizado pelo Ministério da Saúde para este estudo de mestrado, porém esta etapa terá seguimento pelos pesquisadores para uma futura avaliação.

O Ministério da Saúde no Brasil recomenda para não respondedores ao primeiro esquema vacinal que seja realizado um novo esquema com três doses da vacina e após 30 dias que se realize a avaliação da resposta vacinal. No entanto, não foi encontrada uma recomendação do PNI para casos como o encontrado, em que respondedores ao primeiro esquema apresentaram declínio de anticorpos, então optou-se por avaliar a resposta anamnésica dessas crianças utilizando apenas uma dose desafio da vacina brasileira, como realizado em outros países. Dessa forma verificou-se que com uma dose da vacina brasileira o organismo foi capaz de reconhecer o antígeno (vírus ou reforço da vacina) e produzir uma resposta satisfatória mesmo quando ocorreu o declínio dos níveis de anti-HBs, não sendo necessário repetir o esquema vacinal completo nos indivíduos que apresentaram uma boa resposta.

REFERÊNCIAS

- Abbas Z, Siddiqui AR. Management of hepatitis B in developing countries. *World J Hepatol.* 2011;3(12):292-299.
- Aghakhani A, Banifazl M, Izadi N, McFarland W, Sofian M, Khadem-Sadegh A et al. Persistence of antibody to hepatitis B surface antigen among vaccinated children in a low hepatitis B virus endemic area. *World J Pediatr.* 2011;7(4):358-360.
- Aljarbou AN. The Emergent Concern of Hepatitis B globally with special attention to Kingdom of Saudi Arabia. *International Journal of Health Sciences.* 2013;7(3):333-340
- Alter HJ. The road not taken or how I learned to love the liver: A personal perspective on hepatitis history. *Hepatol.* 2014; 59: 4 –12
- Aypak C, Yüce A, Yikilkan H, Görpelioglu S. Persistence of protection of hepatitis B vaccine and response to booster immunization in 2-to 12-year-old children. *Eur J Pediatr.* 2012; 171: 1761-1766
- Banatvala JE, Van Damme P, Oehen S. Lifelong protection against hepatitis B: the role of vaccine immunogenicity in immune memory. *Vaccine* 2001;19: 877-85
- Banatvala JE, Van Damme P. Hepatitis B vaccine – do we need boosters? *J Viral Hepat.* 2003;10(1):1-6.
- Bialek SR, Bower WA, Novak R, Helgenberger L, Auerbach SB, Williams It et al. Persistence of protection against hepatitis B vírus infection among adolescentes vaccinated with recombinant hepatitis B vaccine beginning at birth: a 15-year follow-up study. *Pediatr Infect Dis J.* 2008;27(10): 881-885
- Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S. A “new” antigen in leukemia sera. *JAMA* 1965;191(7): 541-546
- Bond, et al. Survival of hepatitis b virus after drying and storage for one week. *Lancet.* 1981;7;1:550-551
- Bowden S. Serological and Molecular Diagnosis. *Semin Liver Dis.* 2006;26(02):97-103

Bruce MG, Bruden D, Hurlburt D, Zanis C, Thompson G, Rea L et al. Antibody levels and protection after hepatitis B vaccine: Results of a 30-year follow-up study and response to a booster dose. *J Infect Dis.* 2016; 1-7

But DY-K, Lai C-L, Lim W-L, Fung J, Wong DK-H, Yuen M-F. Twenty-two years follow-up of a prospective randomized trial of hepatitis B vaccines without booster dose in children: Final report. *Vaccine.* 2008;26(51):6587-91

CDC – CENTERS FOR DISEASES CONTROL and PREVENTION. Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases. Apr 2015; 13 ed: 149-174

Chaves SS, Fischera G, Groegera J, Patela PR, Thompsona ND, Teshale EH, et al. Persistence of long-term immunity to hepatitis B among adolescents immunized at birth. *Vaccine.* 2012;30:1644-1649

Chang Y-C, Wang J-H, Chen Y-S, Lin J-S, Cheng C-F, Chu C-H. Hepatitis B virus vaccination booster does not provide additional protection in adolescents: a cross-sectional school-based study. *BMC Public Health.* 2014;14: 991-1001

Chen Y-S, Chu C-H, Wang J-H, Lin J-S, Chang Y-C. Predictors of booster response to hepatitis B vaccine at 15 years of age: a cross-sectional school-based study. *Pediatrics and Neonatology.* 2015; xx:1-8

Chiara F, Bartolucci GB, Cattai M, Piazza A, Nicolli A, Buja A et al. Hepatitis B vaccination of adolescents: Significance of non-protective antibodies. *Vaccine.* 2014; 32: 62-68

Chinchai T, Chirathaworn C, Praianantathavorn K, Theamboonlers A, Hutagalung Y, Bock PH, et al. Long-term humoral and cellular immune response to hepatitis B vaccine in high-risk children 18-20 years after neonatal immunization. *Viral Immunol.* 2009;22(2):125-30

Churin Y, Roderfeld M, Roeb E. Hepatitis B virus large surface protein: function and fame. *Hepatobiliary Surg Nutr.* 2015; 4(1): 1-10

Cook IF. Sex differences in injection site reactions with humans vaccines. *Hum Vaccin.* 2009;5

Dane DS, Cameron CH, Briggs M. Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. *Lancet* 1970; 1, 695-698

Dentinger CM, McMahon BJ, Butler JC, Dunaway CE, Zanis CL, Bulkow LR et al. Persistence of antibody to hepatitis B and protection from disease among Alaska natives immunized at birth. *Pediatr Infect Dis J*. 2005; 24: 786-792

Dény P, Zoulin F. Hepatitis B vírus: from diagnosis to treatment. *Pathologie biologie*. 2010; 58: 253-254

EASL. Normas de orientação clínica da EASL: abordagem da infecção crônica pelo vírus da hepatite B. *Journal of Hpeatology*. 2012;57:167-185

European Consensus Group On Hepatitis B Immunity. Are booster immunizations needed for lifelong hepatitis B immunity? *Lancet*. 2000;355:561–5.

Fagundes GD, Tabalipa FO, Silva J. Antibody levels in children after 10 years of vaccination against hepatitis B: a Brazilian community-based study. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2012;45(2):260-62

Ferreira CT, Silveira TR. Viral hepatitis prevention by immunization. *Jornal de Pediatria*. 2006;82(S3)S55-S66

FitzSimons A, François G, Hall A, McMahon B, Meheus A, Zanetti A et al. Long-term efficacy of hepatitis B vaccine, booster policy, and impact of hepatitis B virus mutants. *Vaccine*. 2005;23:4158-66

Fonseca JCF. Histórico das hepatites virais. *Rev Soc Bras Med Trop*. Mai-Jun 2010; 43(3): 322-330

Gilca V, Serres G, Boulianne N, Murphy D, Ouakki M, Wals P et al. Long-term persistence of immunity after vaccination of pre-adolescents with low doses of a recombinant hepatitis B vaccine. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. 2013;9(8):1685-90

Hammit LL, Hennessy TW, Fiore AE, Zanis C, Hummel KB, Dunaway E et al. Hepatitis B immunity in children vaccinated with recombinant hepatitis B vaccine beginning at birth: A follow-up study at 15 years. *Vaccine*. 2007;25(39-40):6958-64

Hudu SA, Malik YA, Niazlin MT, Harmal NS, Adnan A, Alshrar A et al. Antibody and immune memory persistence post infant hepatitis B vaccination. *Patient Preference and Adherence*. 2013; 7: 981-986

ICTV. International Committee on Taxonomy of Viruses. Virus Taxonomy: 2014 Release. [Internet]. 2014 [cited 2014 jul]. Available from: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?version=2014>

Ioshimoto LM, Rissato ML, Bonilha VS, Miyaki C, Raw II, Granovski N. Safety and immunogenicity of hepatitis B vaccine ButaNG in adults. *Rev Soc Bras Med Trop S Paulo*. 1999;41(3):191-3

Jack AD, Hall AJ, Maine N, Mendy M, Whittle HC. What level of hepatitis B antibody is protective. *J Infect Dis*. 1999;179:489–92

Jan CF, Huang KC, Chien YC, Greydanus DE, Davies HD, Chiu TY, et al. Determination of immune memory to hepatitis B vaccination through early booster response in college students. *Hepatol*. 2010;51(5):1547-54

Jayalakshmi MK, Kalyanaraman N, Pitchappan R. Hepatitis B virus genetic diversity: disease pathogenesis. 2013. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/viral-replication/hepatitis-b-virus-genetic-diversity-disease-pathogenesis>

Junqueira AL, Tavares VR, Martins RM, Frauzino KV, da Costa e Silva AM, Minamisava R *et al*. Safety and immunogenicity of hepatitis B vaccine administered into ventrogluteal vs. anterolateral thigh sites in infants: a randomised controlled trial. *Int J Nurs Stud*. 2010;47(9):1074-9

Kao JH, Chen DS. Hepatitis B vaccination: to boost or not to boost?. *Lancet*. 2005;366:1337-38

Kao J-H. Diagnosis of hepatitis B virus infection through serological and virological markers. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2008;2(4):553-62

Katoonizadeh A, Sharafkhah M, Ostovaeh MR, Norouzi A, Khoshbakht, Mohamadkhani A *et al*. Immune responses to hepatitis B immunization 10-18 years after primary vaccination: a population-based cohort study. *J Viral Hepatitis*. 2016; 1-7

Launay O, Floret D. Vaccination contre l'hépatite B. *Médecin/Sciences*. Mai 2015; 31(5): 551-558

Leuridan E, Van Damme P. Hepatitis B and the need for a booster dose. *Vaccines*. 2011;53:68-75

Liang TJ. Hepatitis B: The virus and disease. *Hepatology*. 2009; 49(S5): S13-21

Liaw Y-F, Chu C-M. Hepatitis B virus infection. *The Lancet*. 2009; 373(9663): 582-92

Lin YC, Chang MH, Ni YH, Hsu HY, Chen DS. Long-term immunogenicity and efficacy of universal hepatitis B virus vaccination in Taiwan. *J Infect Dis*. 2003;187(1):134-8

Lippert WC, Wall EJ. Optimal intramuscular needle-penetration depth. *Pediatrics*. 2008; 122:556-563

Locarnini S, Hatzakis A, Chen D-S, Lok A. Strategies to control hepatitis B: Public policy, epidemiology, vaccines and drugs. *J Hepatology*. 2015; 62: S76-S86

Lok ASF. Does antiviral therapy for hepatitis B and C prevent hepatocellular carcinoma? *J Gastroenterol Hepatology*. 2011;26(2):221-7

Lopes MH, Sartori AMC, Souza TVG, Mascheretti M, Chaves TSS. Hepatitis B revaccination for healthcare workers who are anti-HBs-negative after receiving a primary vaccination series. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2012;45(5):639-642

Lu C, Ni Y, Chiang B, Chen P, Chang M, Chang L, et al. Humoral and cellular immune responses to a hepatitis B vaccine booster 15–18 years after neonatal immunization. *J Infect Dis*. 2008;197:1419-26

Madalinski K, Kolakowska A, Godzik P. Current views on the persistence of immunity following hepatitis B vaccination. *Przegl Epidemiol*. 2015; 69: 47-51

Martins RM, Bensabath G, Arraes LC, Oliveira Mde L, Miguel JC, Barbosa GG *et al*. Multicenter study on the immunogenicity and safety of two recombinant vaccines against hepatitis B. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004;99(8):865-71

Mast EE, Weinbaum CM, Fiore AE, Alter MJ, Bell BP, Finelli L *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 II: immunization of adults. *MMWR Recomm Rep*.

2006;55(RR-16):1-33

McMahon BJ. Natural history of chronic hepatitis b. Clin Liver Dis. 2010; 14: 381-396

McMahon BJ et al. Response to hepatitis B vaccine of persons positive for antibody to hepatitis B core antigen. Gastroenterology. 1992; 103(2): 590-594

Michel ML, Tiollais P. Hepatitis B vaccines: protective efficacy and therapeutic potential. Pathol Biol (Paris). 2010; 58(4): 288-95

Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Manual de Normas de Vacinação. 3ed. Brasília (Brasil): Ministério da Saúde; 2001. 72p

_____. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Hepatites virais: o Brasil está atento. 3ed. Brasília (Brasil): Ministério da Saúde; 2008. 60 p.

_____. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para o Tratamento da Hepatite Viral Crônica B e Coinfecções. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

_____. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Boletim Epidemiológico – Hepatites Virais, Ano III - nº 1. Brasília (Brasil): Ministério da Saúde. 2012: 176

_____. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de Normas e Procedimentos para Vacinação. 1ed. Brasília(Brasil): Ministério da Saúde; 2014a. 176p

_____. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância epidemiológica de eventos adversos pós-vacinação. 3ª ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014b

_____. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. O Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. – Brasília : Ministério da Saúde, 2015a.

_____. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Nota informativa nº149, de 2015/CGPNI/DEVIT/SVS/MS, 2015b

Moraes JC, Luna EJA, Grimaldi RA. Imunogenicidade da vacina brasileira contra hepatite B em adultos. *Rev Saude Publ.* 2010; 44: 353-9

Oliveira MDS, Martins RMB, Matos MA, Ferreira RC, Dias MA, Carneiro MAS et al. Seroepidemiology of hepatitis B virus infection and high rate of response to hepatitis B virus Butang® vaccine in adolescents from low income families in Central Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2006;101(3):251-6

Ott JJ, Stevensa GA, Groegerb J, Wiersmaa ST. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: New estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine.* 2012; 30: 2212-2219

Pereira LMMB, Ximenes RAA, Moreira RC. Estudo da prevalência de base populacional das infecções pelos vírus das hepatites A, B e C nas capitais do Brasil. Relatório Técnico. Universidade de Pernambuco. 2010; 209p.

Perkins JA. Medical and scientific illustrations. 2002. Disponível em: <http://people.rit.edu/japfaa/infectious.html>

Petersen KM, Bulkow LR, McMahon BJ, Zanis C, Getty M, Peters H et al. Duration of hepatitis B immunity in low risk children receiving hepatitis B vaccinations from birth. *Pediatr Infect Dis J.* 2004; 23: 650-655

Petry A, Kupek EJ. Efetividade das vacinas anti-VHB (DNA-recombinante) em doadores de sangue de uma região endêmica para hepatite B no sul do Brasil. *Ver Soc Bras Med Trop.* 2006; 39(5): 462-466

Pniewski T. The twenty-year story of a plant-based vaccine against hepatitis B: stagnation or promising prospects. *Int J Mol Sci.* 2013; 14(1): 1978-1998

Poorolajal J, Mahmoodi M, Majdzadeh R, Nasser-Moghaddam S, Haghdoost A, Fotouhi A. Long-term protection provided by hepatitis B vaccine and need for booster dose: a meta-analysis. *Vaccine.* 2010; 28(3): 623-631

Pudelco P, Koehler AE, Bisetto LHL. Impacto da vacinação na redução da hepatite B no Paraná. *Ver Gaucha Enferm.* Mar 2014;35(1): 78-86

Reuben A. Landmarks in hepatology: the thin red line. *Hepatol.* 2002; 36: 770-773

Romanò L, Galli C, Tagliacarne C, Zanetti AR. Lessons learnt over two decades of vaccination against hepatitis B in Italy. *J Prev Med Hyg.* 2015; 56: E12-E14

Said ZNA, Abdelwahab KS. Induced immunity against hepatitis B virus. *World J hepatol.* 2015; 7(12): 1660-1670

Salama II, Sami SM, Salama SI, Rabah TM, Etreby LA, Hamid ATA et al. Immune response to second vaccination series of hepatitis B virus among booster dose non-responders. *Vaccine.* 2016; 34: 1904-1908

Samandari T, Fiore AE, Negus S, Williams JL, Kuhnert W, McMahon BJ et al. Differences in response to a hepatitis B vaccine booster dose among Alaskan children and adolescents vaccinated during infancy. *Pediatrics.* 2007; 120(2): 373-381

Schweitzer A, et al. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review if data published between 1965 and 2013. *Lancet.* 2015; 386: 1546-1555

Shaw FE, et al. Postmarketing surveillance for neurologic adverse events reported after hepatitis B vaccination. Experience for the first three years. *Am J Epidemiol.* 1988; 127(2): 337-352

Shiffman ML. Management of acute hepatitis B. *Clin Liver Dis.* 2010; 14(1): 75-91

Shouval D et al. Improved immunogenicity in mice of a mammalian cell-derived recombinant hepatitis B vaccine containing pre-S1 and pre-S2 antigens as compared with conventional yeast-derived vaccines. *Vaccine.* 1994; 12(15): 1453-1459

Shouval D. Hepatitis B vaccines. *J Hepatol.* 2003; 39 suppl1: S70-S76

Shouval D, Roggendorf H, Roggendorf M. Enhance immune response to hepatitis B vaccination through immunization with a Pre-S1/Pre-S2/S vaccine. *Med Microbiol Immunol.* 2015; 204: 57-68

Souto FJD. Distribution of hepatitis B infection in Brazil: the epidemiological situation at the beginning of the 21st century. *Rev Soc Bras Med Trop.* Jan-Feb 2016; 49(1): 11-23

Spradling PR, Xing J, Williams R, Faleafaga YM, Dulski T, Mahamud A *et al.* Immunity to hepatitis B virus (HBV) infection two decades after implementation of universal infant HBV vaccination: Association of detectable residual antibodies and response to a single HV challenge dose. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2013;20(4):559-61

Su FH, Cheng SH, Li CY, Chen JD, Hsiao Cy, Chien CC *et al.* Hepatitis B seroprevalence and anamnestic response amongst Taiwanese Young adults with full vaccination in infancy, 20 years subsequent to national hepatitis B vaccination. *Vaccine*. 2007; 25(47): 8085-8090

Tauil MC, Amorim TR, Pereira GFM, Araújo WNA. Mortalidade por hepatite viral B no Brasil, 2000-2009. *Cad. Saúde Pública*. 2012;28(3):472-8

Te HS, Jensen DM. Epidemiology of Hepatitis B and C Viruses: A Global Overview. *Clin Liver Dis*. 2010;14:1–21

Teles SA, Martins RMB, Gomes SA, Gaspar AMC, Araujo NM, Souza KP *et al.* Hepatitis B virus transmission in Brazilian hemodialysis units: Serological and molecular follow-up. *J Med Virol*. 2002; 68(1): 41-49

Teoharov P, Kevorkyan A, Petrova N, Baltadzhiev I, Van Damme P. Immune memory and immune response in children from Bulgaria 5-15 years after primary hepatitis B vaccination. *Pediatr Infect Dis J*. 2013; 32(1): 51-53

Thanavala Y, Yang YF, Lyons P, Mason HS, Arntzen C. Immunogenicity of transgenic plant-derived hepatitis B surface antigen. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995; 92(8): 3358-3361

Trépo C, Chan HLY, Lok A. Hepatitis B virus infection. *Lancet* 2014; 384(9959) 2053-2063

van Damme P, Van Herck K. A review of the long-term protection after hepatitis A and B vaccination. *Travel Medicine and Infectious Disease*. 2007;5:79–84

van der Meeren O, Behre U, Crasta P. Immunity to hepatitis B in adolescents 15-16 years of age vaccinated in infancy with three doses of hepatitis B vaccine. *Vaccine*. 2016; 34: 2755-2749

van der Sande MA, Waight P, Mendy M, Rayco-Solon P, Hutt P, Fulford T *et al.* Long-term protection against carriage of hepatitis B virus after infant vaccination. *J*

Infect Dis. 2006; 193(11): 1528-1535

Villar LM, Cruz HM, Barbosa JR, Bezerra CS, Portilho MM, Scalioni LP. Update on hepatitis B and C vírus diagnosis. World J Virol. Nov 2015; 4(4): 323-342

Vivekanandan P, Singh OV. Molecular methods in the diagnosis and management of chronic hepatitis B. Expert Rev Mol Diagn. 2010; 10(7): 921-935

West DJ, Calandra GB. Vaccine induced immunological memory for hepatitis B surface antigen: implications for policy on booster vaccination. Vaccine. 1996; 14(11): 1019-1027

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. Weekly epidemiological record. 2009; 84(40): 405-420

_____. Global policy report on the prevention and control of viral hepatitis in WHO Member States. 2013, 220p.

_____. Guidelines for the prevention, care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection. March 2015; 166p.

_____. Hepatitis B – Fact sheets. July 2016. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>

WHO/UNICEF. Immunization coverage – Fact sheets. September 2016a. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs378/en/>

WHO/UNICEF. Vaccine-preventable diseases: monitoring system. Estimates time series for Brazil (BRA). 2016b. Disponível em: http://apps.who.int/immunization_monitoring/globalsummary/estimates?c=BRA

Wu Q, Zhuang GH, Wang XL, Hou TJ, Shah DP, Wei XL *et al.* Comparasion of long-term immunogenicity (23 years) of 10µg and 20µg doses of hepatitis B vaccine in healthy children. Human Vaccines & Immunotherapeutics. 2012;8(8):1071-76

Yang B, Bouchard MJ. The hepatitis B virus X protein elevates cytosolic calcium signals by modulation mitochondrial calcium uptake. J Virol. 2012; 86(1): 313-327

Yuen MF, Lim WL, Chan AO, Wong DK, Sum SS, Lai CL. 18-year follow-up study of a prospective randomized trial of hepatitis B vaccinations without booster doses in children. Clin Gastroenterol Hepatol. 2004;2(10):941-5

Zhu CL, Liu P, Chen T, Ni Z, Lu LL, Huang F et al. Presence of immune memory and immunity to hepatitis B virus in adults after neonatal hepatitis B vaccination. *Vaccine*. Oct 2011; 29(44): 7835-7841

APÊNDICE I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa como voluntário (a). Me chamo **Ana Letícia Soares Borges**, sou a pesquisadora responsável pelo estudo e atuo na área de administração de injetáveis. A seguir estão as informações sobre a pesquisa e após receber esclarecimentos, caso aceite participar, assine ao final deste termo que está em duas vias. Uma permanecerá com o pesquisador e outra com você. Caso recuse não haverá nenhuma forma de penalização. Se ao longo da pesquisa surgirem dúvidas sobre o estudo você poderá entrar em contato com o(s) pesquisador(es) responsável(is), Enf^a Ana Letícia Soares Borges no telefone: (62) 82484873 e Dr^a Ana Luiza Neto Junqueira no telefone: (62) 91821818, a cobrar se necessário. Caso surjam dúvidas quanto aos seus direitos como participante você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás, nos telefones: 3521-1075 ou 3521-1076.

INFORMAÇÕES IMPORTANTES SOBRE A PESQUISA

Título: **AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE ANTI-HBS APÓS DOSE DE REFORÇO EM CRIANÇAS QUE APRESENTARAM DECLÍNIO DE ANTICORPOS SEIS ANOS DEPOIS DA VACINAÇÃO.**

A proposta deste estudo é fazer uma dose de reforço da vacina contra hepatite em seu filho pois a taxa de proteção contra a doença apresentou níveis de anticorpos abaixo do padrão estabelecido como protetor. Para verificarmos a resposta será necessário após a administração da dose de reforço da vacina contra hepatite B coletar o sangue para novamente realizar o exame de anti-HBs que é o anticorpo que indica a proteção para o vírus da hepatite B.

Os objetivos são avaliar os títulos de anti-HBs após dose de reforço da vacina contra hepatite B em crianças que apresentaram níveis de anticorpos abaixo do recomendado como protetor após seis anos de vacinadas nas regiões vasto lateral da coxa ou ventroglútea. Farão parte desta pesquisa as crianças que participaram do estudo “Ensaio clínico controlado e randomizado para avaliar a imunogenicidade e reatogenicidade da vacina contra Hepatite B (Butang®), aplicada em recém-nascidos na região ventroglútea ou vasto lateral da coxa” e “Avaliação da

persistência de anticorpos anti-hbs protetores após seis anos de imunização em neonatos”. Será feita ainda uma entrevista com você e após será administrado uma dose da vacina contra hepatite B no músculo deltóide do membro superior (braço) do seu filho(a), e após 30-45 dias da administração, com data agendada previamente, será coletado 5 mL de sangue para o exame através de punção em veia periférica do membro superior da criança, e devolveremos o resultado com as orientações necessárias.

Risco: O risco de participar desta pesquisa será o desconforto da aplicação da vacina e seus possíveis eventos adversos da vacinação (dor e vermelhidão no local da administração, febre e dor de cabeça). E da coleta de sangue (hematoma) Para a coleta do sangue e a vacinação serão realizadas por profissional competente e todo o material utilizado será de uso único, esterilizado e descartável, não havendo riscos para a criança.

Benefício: receber a dose de reforço da vacina contra hepatite b e conhecer da resposta da vacina, se obteve proteção contra a doença.

Qualquer necessidade de cuidados devido a estes procedimentos, ou dúvidas sobre o mesmo, fica garantido acompanhamento pelos pesquisadores e o pronto atendimento nos Centro de Atendimento Integrais de Saúde - CAIS. Não haverá nenhum tipo de pagamento ou gratificação pela participação na pesquisa.

Sua liberdade de recusar a participar do estudo ou retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa sem penalização ou prejuízo serão garantidos, não haverá ainda nenhuma despesa por parte dos participantes. Será garantido também que as informações fornecidas serão confidenciais e privativas de forma que os participantes não serão identificados pelo nome. As amostras serão encaminhadas para o laboratório de análise clínica e após a realização dos exames serão desprezadas pelo mesmo. Os resultados dos exames serão encaminhados à residência da criança e ficarão armazenados por dez anos para futuro controle.

Ao assinar este documento não renuncio aos meus direitos legais.

Nome e Assinatura do pesquisador:

Ana Letícia Soares Borges: _____

Data: ____/____/____

CONSENTIMENTO DO RESPONSÁVEL PELO SUJEITO DA PESQUISA

Eu, _____
____ RG/ CPF _____, abaixo assinado, responsável
por _____, autorizo sua
participação no estudo “**avaliação dos níveis de anti-hbs após dose de reforço
em crianças que apresentaram declínio de anticorpos seis anos depois da
vacinação**”, como sujeito. Fui informado(a) e esclarecido(a) pelo pesquisador(a)
Ana Letícia Soares Borges sobre o estudo, procedimentos envolvidos, possíveis
riscos e benefícios decorrentes da participação. Foi garantido que posso retirar o
consentimento em qualquer momento, sem que haja penalidade ou interrupção do
acompanhamento/assistência/tratamento prestado ao sujeito pesquisado.

Local e data: _____

Nome e Assinatura do(a) Responsável: _____

APÊNDICE II

TERMO DE ASSENTIMENTO DO MENOR

Me chamo Ana Letícia, sou enfermeira e te convido para participar de uma pesquisa chamada **Avaliação dos níveis de anti-hbs após dose de reforço em crianças que apresentaram declínio de anticorpos seis anos depois da vacinação**, seus pais permitiram que você participasse.

Queremos fazer outra dose de vacina contra hepatite b e ver se você ainda está protegido contra essa doença. As crianças que participarão têm entre sete e oito anos, como você. Você não é obrigado a participar e não haverá nenhum problema caso queira desistir. O estudo será feito em sua casa, primeiro iremos fazer algumas perguntas para seus pais. Depois iremos aplicar uma dose de uma vacina em seu braço com uma seringa e agulha pequena por pessoas que fazem isso diariamente. Após alguns dias encontraremos com você novamente em sua casa e será retirado um pouco de sangue com uma agulha pequena e uma seringa por um adulto que também faz isso todos os dias. Você sentirá uma picadinha e depois poderá ficar roxo ou dolorido, o que é normal. Esse procedimento será feito para que possamos realizar um exame que irá mostrar se você está protegido contra a hepatite B, que é uma doença que não tem cura e ataca o fígado e pode até matar.

Se você tiver dúvidas pode falar no telefone 82484873 com a pesquisadora Ana Letícia ou com a profa. Ana Luiza Neto Junqueira. Ninguém ficará sabendo que você está participando da pesquisa, não falaremos para outras crianças ou pessoas as informações que você nos der. Os resultados serão publicados, mas seu nome não irá aparecer, ou seja, você e nem as outras crianças serão identificados. Se surgir alguma dúvida você pode me perguntar.

Eu _____ aceito participar da pesquisa **Avaliação dos níveis de anti-hbs após dose de reforço em crianças que apresentaram declínio de anticorpos seis anos depois da vacinação**, que tem por objetivo saber se continuo protegido contra a hepatite B após tomar uma dose de reforço da vacina. Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer. Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer

momento, posso dizer “não” e desistir sem que tenha nenhum problema. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis. Recebi uma cópia deste termo de assentimento, li e concordo em participar do estudo.

Goiânia, ____ de _____ de 2015.

Assinatura do menor

Assinatura do pesquisador

APÊNDICE III

Instrumento para coleta de dados

ID:

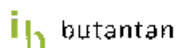
Nome da criança:	
Nome da mãe:	
Endereço:	
Ponto de Referência:	
Telefone:	
Sexo: 1- Masculino () 2- Feminino ()	SEX ()
Data de Nascimento da criança: ____/____/____ Idade: _____	DNASC ()
Naturalidade (Goiás ou outro Estado): _____	NATURAL()
Cor: 1 - () Branco 2 - () Amarelo 3 - () Pardo 4 - () Negro	COR ()
Renda Familiar: R\$ _____ 1- () 1 salário mín. 2-() 2-5 salários mín. 3-() 6-10 salários mín. 4-() mais de dez salários mín.	RENDAFAM()
Escolaridade criança:	ESCOLCÇA()

Data em que ocorreu:	DATA CIR()
COLETA E EXAMES LABORATORIAIS	
Local onde a vacina foi realizada no 1º estudo: 1 - () VLC 2 - () VG (presente no questionário preenchido na época do estudo)	LOCVAC1()
Anti-HBs realizado no 1º estudo:	ANTHBS1()
Anti-HBs realizado no 2º estudo:	ANTHBS2()
Data da dose de reforço da vacina contra Hepatite B: ____/____/____	REFVAC()
Data da coleta de sangue: ____/____/____	DATASG()
Local onde foi feita a coleta de sangue: 1- () MSD 2 - () MSE	LOCTSG()
Anti-HBs: 1 - () Reagente 2 - () Não reagente	ANTIHB()
HbsAg: 1 - () Reagente 2 - () Não reagente	HBSAG()

Data: ____/____/____.

Ass. do Pesquisador:_____.

ANEXO I



SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
INSTITUTO BUTANTAN
 Av. Vital Brasil, 1500 05503-900 São Paulo Brasil



DIZERES DE TEXTO DE BULA - PROFISSIONAL DE SAÚDE

vacina adsorvida hepatite B (recombinante)
 proteína de superfície do vírus da hepatite B (recombinante): 25 µg/mL

APRESENTAÇÃO:

Suspensão Injetável.

Cada cartucho da vacina adsorvida hepatite B (recombinante) contém 20 frascos-ampola com 5 mL (10 doses de 0,5 mL ou 5 doses de 1 mL).

A vacina adsorvida hepatite B (recombinante) é apresentada em frasco-ampola contendo 5 mL (multidose) de suspensão injetável de antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg), produzido através da expressão do antígeno em uma cepa de levedura modificada geneticamente. O antígeno recombinante de superfície (rHBsAg) é purificado por vários métodos físico-químicos, adsorvido por hidróxido de alumínio e adicionado de timerosal como conservante.

VIA DE ADMINISTRAÇÃO: INTRAMUSCULAR

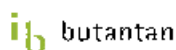
A vacina adsorvida hepatite B (recombinante) deve ser administrada por via intramuscular profunda, na região do músculo deltóide (região superior externa do braço) ou no vasto lateral da coxa em crianças. Excepcionalmente, a vacina pode ser administrada por via subcutânea em pacientes com tendência para sangramento grave (Ex.: hemofílicos). Não deve ser aplicada por via intravenosa, intradérmica ou na região glútea.

USO ADULTO E PEDIÁTRICO.

COMPOSIÇÃO:

Cada 1,0 mL contém:

- proteína de superfície do vírus da hepatite B (recombinante)	25,00 µg
- hidróxido de alumínio	até 1,25 mg (em Al ³⁺)
- timerosal	até 0,10 mg
- solução fisiológica tamponada pH 7,0 q.s.p.	1,00 mL



SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
INSTITUTO BUTANTAN
 Av. Vital Brasil, 1500 05503-900 São Paulo Brasil



INFORMAÇÕES TÉCNICAS AOS PROFISSIONAIS DE SAÚDE

1. INDICAÇÕES:

A vacina adsorvida hepatite B (recombinante) é indicada para a imunização ativa contra a infecção por vírus da hepatite B. Ao conferir proteção contra o vírus da hepatite B, o indivíduo fica protegido contra a infecção pelo vírus da hepatite D. A vacina não protege contra infecções por outros vírus causadores da hepatite (vírus A, C e E). A vacina adsorvida hepatite B (recombinante) é recomendada para imunização generalizada de populações, especialmente para recém-nascidos e grupos submetidos a maiores riscos de contaminação pelo vírus, como médicos, enfermeiros, agentes de saúde, manipuladores de vírus e outros. Este produto pode ser administrado em recém-nascidos, adolescentes, adultos, gestantes e idosos nas doses recomendadas. A vacinação evita não só a infecção pelo vírus como também complicações crônicas posteriores causadas pelo vírus como cirrose e câncer primário de fígado (carcinoma hepatocelular).

A hepatite B pode ser adquirida ao se entrar em contato com o sangue, sêmen, secreções vaginais ou outros fluidos corporais de pessoas contaminadas.

Outras circunstâncias em que podem resultar em infecção:

- Recém-nascidos de mães portadoras do vírus da hepatite B;
 - Morar no mesmo domicílio de algum portador do vírus da hepatite B;
 - Contato íntimo/sexual com alguma pessoa infectada;
 - Trabalhar em ambientes que envolvam exposição a sangue humano ou fluidos corporais;
 - Acidentes punccionais durante procedimentos realizados por profissionais de saúde;
 - Compartilhar seringas e agulhas no uso de drogas injetáveis;
 - Viajar para regiões com alta frequência de doença pelo vírus da hepatite B.
- Pessoas portadoras do vírus da hepatite B podem não apresentar sintomas específicos. Na realidade, uma pessoa ao adquirir o vírus da hepatite B pode ficar de seis semanas a seis meses sem o surgimento de sintomas. Os primeiros sintomas que aparecem geralmente, são leves, sendo semelhantes aos de uma gripe. Alguns pacientes, entretanto desenvolvem sintomatologia mais intensa, com o aparecimento de icterícia.

2. RESULTADOS DE EFICÁCIA:

Os resultados de estudos realizados por diversos autores pela aplicação da vacina adsorvida hepatite B (recombinante) em recém-nascidos demonstram que a eficácia foi superior a 90%⁽¹⁾. A Coordenação Geral do Programa Nacional de Imunizações do Ministério da Saúde realizou estudos com a vacina adsorvida hepatite B (recombinante) produzida pelo Instituto Butantan e emitiu o "Relatório Geral do Estudo Multicêntrico de Imunogenicidade e Reatogenicidade de Vacinas Recombinantes Contra Hepatite B" (2003), o qual demonstrou taxas de soroproteção satisfatórias para a vacina do Instituto Butantan aplicada em recém-nascidos, crianças, adolescentes e em adultos jovens⁽²⁾. Em 2006, outro estudo para a avaliação de imunogenicidade e segurança em adultos de 31 a 40 anos de idade foi realizado pelo Departamento de Medicina da Santa Casa de São Paulo⁽³⁾. Esses novos estudos indicaram que vacina adsorvida hepatite B (recombinante) do Instituto Butantan é



segura e apresenta boa imunogenicidade para adultos na faixa etária de 31 a 40 anos. Os dados obtidos nestes dois estudos estão de acordo aos obtidos com vacinas similares.

⁽¹⁾ Advances in Biotechnology Process (1990), vol. 14 - Viral Vaccines. Ed. Avshalom Mizrahi. Wiley-Liss. NY. Chichester. Brisbane. Toronto. Singapore.

⁽²⁾ Relatório Geral do Estudo Multicêntrico de Imunogenicidade e Reatogenicidade de Vacinas Recombinantes Contra Hepatite B – Coordenação Geral do Programa Nacional de Imunizações – Fundação Nacional de Saúde – Ministério da Saúde.

⁽³⁾ Avaliação de imunogenicidade e segurança da vacina recombinante contra hepatite B do Instituto Butantan (Buta-NG) em adultos de 31 a 40 anos de idade – Centro de Estudos Augusto Leopoldo Ayrosa Galvão (CEALAG), Departamento de Medicina Social / Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. Março de 2006.

3. CARACTERÍSTICAS FARMACOLÓGICAS:

A infecção pelo vírus da hepatite B constitui um sério problema de Saúde Pública, que pode resultar em hepatite aguda (benigna ou grave) e hepatite crônica, com potencial evolutivo para cirrose e carcinoma hepatocelular primário do fígado. O meio viável de se prevenir a disseminação e as consequências da infecção crônica pelo vírus da hepatite B é através da imunização ativa. O antígeno HBsAg, constituinte da vacina, atua pela sensibilização de células do sistema imune geradoras de anticorpos específicos (anticorpos humorais neutralizantes), tais como plasmócitos e linfócitos B. As tentativas de replicação do vírus da hepatite B em cultivos celulares não tiveram sucesso, assim, as primeiras vacinas contra a hepatite B derivavam de sangue humano que continha o antígeno. O custo destas vacinas era alto e a produção limitada. Com a possibilidade de expressão do antígeno de superfície da partícula viral (HBsAg) em células procarióticas (levedura em nosso caso) a vacina contra a hepatite B pode ser produzida em quantidades ilimitadas e a custo baixo com 100% de segurança. Entre as células testadas, resultados favoráveis e constantes são obtidos com o *Hansenula polymorpha* (levedura) como vetor do HBsAg na produção da vacina. O antígeno, que se encontra no interior das células de levedura, é extraído e purificado separando-o de substâncias constituintes da levedura e, finalmente concentrado. O processo de purificação assegura uma pureza protéica (antígeno) igual ou superior a 98%.

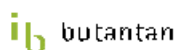
4. CONTRAINDICAÇÕES:

- Anafilaxia prévia a qualquer componente da vacina contraindica o seu uso.
- Púrpura trombocitopênica idiopática (PTI) após a dose anterior.

5. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES:

A vacina adsorvida hepatite B (recombinante) deve ser guardada fora do alcance das crianças.

Conservar a vacina adsorvida hepatite B (recombinante) à temperatura entre +2°C e +8°C. NÃO CONGELAR.



SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
INSTITUTO BUTANTAN
 Av. Vital Brasil, 1500 05503-900 São Paulo Brasil



Não deve ser aplicada por via intravenosa, intradérmica ou na região glútea.

Este medicamento pode ser utilizado por mulheres grávidas, sempre com orientação médica.

Não utilizar a vacina após o vencimento do prazo de validade.

Doenças agudas febris, moderadas ou graves, recomendam adiar a vacinação até a resolução do quadro, com o intuito de não se atribuir à vacina as manifestações da doença.

Uso na Gravidez ou Lactação:

O efeito do antígeno no desenvolvimento fetal é ainda desconhecido, porém a gestação e/ou a lactação não contraindicam a imunização para a Hepatite B em situações de risco. As gestantes imunizadas para hepatite B, com esquema vacinal completo de três doses, não necessitam de reforço vacinal. Aquelas não imunizadas ou com esquema vacinal incompleto devem receber três doses da vacina nos intervalos 0, 1 e 6 meses ou completar o esquema já iniciado. A vacina adsorvida hepatite B (recombinante) só deve ser usada durante a gravidez se claramente necessária.

6. INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS:

Nenhuma medicação concomitante constitui contraindicação para uso da vacina. Todavia, qualquer medicamento que esteja sendo aplicado no indivíduo deve ser considerado e avaliado pelo médico assistente. A vacina adsorvida hepatite B (recombinante) pode ser aplicada simultaneamente com as outras vacinas que constam do Calendário Nacional de Vacinação do Programa Nacional de Imunizações, tais como: poliomielite, vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis (DTP), vacina tetravalente (DTP + Hib), sarampo e BCG (esta última deve ser administrada em local de aplicação diferente).

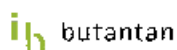
7. CUIDADOS DE ARMAZENAMENTO DO MEDICAMENTO:

A vacina adsorvida hepatite B (recombinante) deve ser conservada à temperatura entre +2°C e +8°C. Não deve ser colocada no congelador ou "freezer"; o congelamento é estritamente contraindicado. Respeitadas essas condições a vacina adsorvida hepatite B (recombinante) possui validade de 24 meses a partir da sua data de fabricação. Esta informação se encontra no rótulo da vacina e em seu cartucho, sendo o produto válido até o último dia do mês indicado.

Depois de aberto o frasco-ampola de múltiplas doses, a vacina pode ser utilizada no prazo máximo de até 15 dias, se mantida em condições assépticas e sob temperatura entre +2°C e +8°C.

Número de lote e datas de fabricação e validade: vide embalagem.

Não use medicamento com o prazo de validade vencido.



SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
INSTITUTO BUTANTAN
 Av. Vital Brasil, 1500 05503-900 São Paulo Brasil



Para sua segurança, mantenha o medicamento na embalagem original.

ASPECTO FÍSICO:

Observar o aspecto depois de agitar fortemente o frasco-ampola, que deve ser de um líquido leitoso, sem partículas visíveis a olho nu.

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS:

Vide "Aspecto Físico".

Antes de usar, observe o aspecto do medicamento.

Todo medicamento deve ser mantido fora do alcance de crianças.

8. POSOLOGIA E MODO DE USAR:

Dosagem

A vacina adsorvida hepatite B (recombinante) é indicada para crianças, adolescentes e adultos até 40 anos de idade.

De 0 a 19 anos de idade: uma dose de 0,5 mL de suspensão injetável.

De 20 a 40 anos de idade: uma dose de 1,0 mL de suspensão injetável.

Esquema de Vacinação

Há dois esquemas de vacinação recomendados que consistem de 3 doses a 4 doses intramusculares da vacina.

1) É recomendado para indivíduos expostos a risco moderado ou baixo de infecção:

- primeira dose: na data de eleição;
- segunda dose: um mês depois;
- terceira dose: 6 meses a partir da primeira dose.

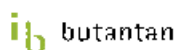
ou

2) É recomendado para recém-nascidos e indivíduos que necessitam de proteção mais rápida ou estão mais frequentemente expostos à infecção:

- primeira dose: na data de eleição;
- segunda dose: um mês depois;
- terceira dose: 2 meses a partir da primeira dose;
- quarta dose: 12 meses após a primeira dose.

Notas:

- No recém-nascido recomenda-se a imunização nas primeiras 12 a 24 horas após o nascimento para evitar a transmissão vertical da mãe infectada pelo vírus da hepatite B.
- A interrupção da vacinação somente deverá ser efetuada com orientação médica.
- Intervalos maiores do que os recomendados proporcionam resultados equivalentes, não havendo necessidade de reiniciar o esquema.



SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
INSTITUTO BUTANTAN
 Av. Vital Brasil, 1500 05503-900 São Paulo Brasil



- Por não haver estudos conclusivos sobre a necessidade de doses de reforço em indivíduos com esquema de vacinação completa, a aplicação de reforço não é indicada.

9. REAÇÕES ADVERSAS

Reação muito comum (ocorre em mais de 10% dos pacientes que utilizam este medicamento):

No local de Aplicação: dor (3–29%) e enduração/rubor (0,2–17%); eventualmente podem ocorrer abscessos locais, decorrentes da contaminação bacteriana secundária por falha técnica de aplicação vacinal.

Reações Gerais: desconforto gastrointestinal leve (1–20%).

Reação comum (ocorre entre 1% e 10% dos pacientes que utilizam este medicamento):

Reações Gerais: febre (1- 6%) nas primeiras 24 horas após a vacinação. Sintomas semelhantes a resfriado comum tais como fadiga, tontura, cefaléia e irritabilidade podem estar presentes.

Obs.: Segundo a literatura, até o momento não há evidências de relação de casualidade entre a vacina adsorvida hepatite B (recombinante) e o surgimento de casos de Síndrome Guillain Barré, esclerose múltipla, síndrome de morte súbita infantil e artrite.

Reação incomum (ocorre entre 0,1% e 1% dos pacientes que utilizam este medicamento):

Não descrita em literatura.

Reação rara (ocorre entre 0,01% e 0,1% dos pacientes que utilizam este medicamento):

A púrpura trombocitopênica idiopática após a aplicação da vacina adsorvida hepatite B (recombinante) é um evento raro cuja relação causal é difícil de ser comprovada. O tempo de latência entre a vacinação e o aparecimento dos sintomas que, geralmente, é de alguns dias até dois meses, sugere esta relação.

Reação muito rara (ocorre em menos de 0,01% dos pacientes que utilizam este medicamento):

As reações de hipersensibilidade podem ocorrer excepcionalmente a algum componente da vacina, incluindo o timerosal e o levedo (risco teórico). Ocorre em um caso para 600.000 vacinados e é muito raro em crianças e adolescentes. A anafilaxia imediata (reação de hipersensibilidade do tipo I de Gell & Coombs) ocorre habitualmente na primeira hora após a exposição ao alérgeno. Apresenta-se com uma ou mais das seguintes manifestações: urticárias, sibilos, laringoespasmos, edema dos lábios, hipotensão e choque.


Eventos adversos pós-vacina adsorvida hepatite B (recombinante)

Eventos Adversos	Descrição	Tempo decorrente Aplicação / Evento	Frequência
Locais	Dor, endureção e rubor	1º dia	1/3,5 a 1/50 doses
Manifestações Gerais	Febre, irritabilidade, fadiga, tontura, cefaléia, desconforto gastrointestinal leve	1º dia	1/10 a 1/100 doses
Púrpura Trombocitopênica	Petéquias e equimoses disseminadas	Alguns dias a 2 meses	Raro
Reação anafilática	Úrticárias, sibilos, laringoespasmos, edema dos lábios, hipotensão e choque	Nos primeiros 30 minutos e até 2 horas	1/600.000

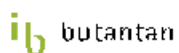
*Fonte: Manual de Vigilância Epidemiológica de Eventos Adversos Pós-Vacinação
Série A. Manual e Normas Técnicas em Saúde - 2ª Edição / Brasília - DF 2008

Em casos de eventos adversos, notifique ao Sistema de Notificações em Vigilância Sanitária - NOTIVISA, disponível em <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/notivisa/index.htm>, ou para a Vigilância Sanitária Estadual ou Municipal." (incluindo no espaço o endereço eletrônico atualizado do NOTIVISA)

10. SUPERDOSE

Em casos de superdose as reações adversas poderão ser observadas, no local de aplicação, em maior intensidade com possível formação de abscesso, reações febris e mal estar. Procurar socorro médico.

Em caso de intoxicação ligue para 0800 722 6001, se você precisar de mais informações orientações sobre como proceder.



SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
INSTITUTO BUTANTAN
Av. Vital Brasil, 1500 05503-900 São Paulo Brasil



DIZERES LEGAIS

Número de Registro MS: 1.2234.0017

FARMACÊUTICO RESPONSÁVEL:
Dra. Ivone K. Yamaguchi - CRF-SP nº. 6.057

Fabricado e registrado por:
INSTITUTO BUTANTAN
Av. Dr. Vital Brasil, 1500 - Butantã
CEP 05503-900 - São Paulo/SP - Brasil
C.N.P.J.: 61.821.344/0001-56
Indústria Brasileira

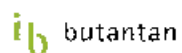
Serviço de Atendimento ao Consumidor (SAC): 0800 701 2850
e-mail: sac@butantan.gov.br

USO SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA.

PROIBIDA VENDA AO COMÉRCIO.

Esta bula foi aprovada pela ANVISA em 29/07/2014.





SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
INSTITUTO BUTANTAN
 Av. Vital Brasil, 1500 05503-900 São Paulo Brasil



Histórico de Submissão Eletrônica de Texto de Bula - vacina adsorvida hepatite B (recombinante)

Número do Expediente	Nome do Assunto	Data da Notificação	Data de Aprovação	Itens Alterados
Não se aplica	10463 – PRODUTO BIOLÓGICO: Inclusão inicial de texto de bula (RDC 60/12)	29/07/2014	Não se aplica	Inclusão inicial do texto de bula ao bulário eletrônico – ANVISA, adequado a RDC 47/09.

ANEXO II



en
AUSAB

REF 7A39

49-1396/R15

B7W390

Read Highlighted Changes
Revised March, 2010

AUSAB

Hepatitis B Surface Antigen (Recombinant)
(Subtypes ad and ay)

Customer Service: Contact your local representative or find country specific contact information on www.abbottdiagnostics.com

Package insert instructions must be carefully followed. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

Key to symbols used			
REF	List Number	STANDARD CAL A	Standard Calibrator (A-F)
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device	REACTION VESSELS	Reaction Vessels
LOT	Lot Number	MATRIX CELLS	Matrix Cells
	Expiration Date	SAMPLE CUPS	Sample Cups
	Store at 2-8°C	REAGENT PACK	Reagent Pack
	Store at 15-30°C		Consult Instructions for use
	Caution	CONTAINS AZIDE	Contains Sodium Azide. Contact with acids liberates very toxic gas.
	Manufacturer		

See **REAGENTS** section for a full explanation of symbols used in reagent component naming.



NAME

AxiSYM AUSAB

INTENDED USE

AxiSYM AUSAB is a microparticle enzyme immunoassay (MEIA) for the quantitative determination of antibody to Hepatitis B Surface Antigen (anti-HBs) in human serum or plasma. It is intended for the measurement of anti-HBs following hepatitis B virus (HBV) infection or vaccination.

SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST

AxiSYM AUSAB is a Microparticle Enzyme Immunoassay which has been developed to measure the amount of antibody to the Hepatitis B Surface Antigen (anti-HBs) present in human serum or plasma.

Anti-HBs assays are often used to monitor the success of hepatitis B vaccination. The presence of anti-HBs has been shown to be important in protection against HBV infection.¹ Numerous studies have demonstrated the effectiveness of the hepatitis B vaccine in producing anti-HBs titers and in preventing HBV infection.²⁻⁴

Assays for anti-HBs are also used to monitor the convalescence and recovery of hepatitis B infected individuals. The presence of anti-HBs after acute HBV infection and loss of HBsAg can be a useful indicator of disease resolution. Detection of anti-HBs in an asymptomatic individual may indicate previous exposure to HBV.

Samples with anti-HBs concentrations less than 10.0 mIU/mL are considered nonreactive by the AxiSYM AUSAB assay. Samples with anti-HBs concentrations greater than or equal to 10.0 mIU/mL are considered reactive.

BIOLOGICAL PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

AxiSYM AUSAB is based on Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA) technology.

Sample and all AxiSYM AUSAB reagents required for one test are pipetted by the Sampling Probe into various wells of a reaction vessel (RV) in the Sampling Center. The RV is immediately transferred into the Processing Center. Further pipetting is done in the Processing Center by the Processing Probe.

The reactions occur in the following sequence:

- Sample and Recombinant Hepatitis B Virus Surface Antigen (rHBsAg) Coated Microparticles are combined in one RV well.
- When anti-HBs is present in the sample, it binds to the coated microparticles forming an antibody-antigen complex in the reaction mixture.
- A portion of the reaction mixture is transferred to the matrix cell. The microparticles bind irreversibly to the glass fiber matrix.
- Biotinylated rHBsAg is dispensed onto the matrix cell forming an antigen-antibody-antigen complex.
- The Anti-Biotin:Alkaline Phosphatase Conjugate is dispensed onto the matrix cell and binds to any microparticle-bound antigen-antibody-antigen complex.
- The matrix cell is washed to remove materials not bound to the microparticles.
- The substrate, 4-Methylumbelliferyl Phosphate, is added. The alkaline phosphatase-labeled conjugate catalyzes the removal of a phosphate group from the substrate, yielding the fluorescent product, 4-Methylumbelliferone. This fluorescent product is measured by the MEIA optical assembly.

The concentration of anti-HBs in the sample is determined using a previously generated calibration curve. If the concentration of the sample is greater than or equal to 10.0 mIU/mL, the sample is considered reactive for anti-HBs.

For further information regarding MEIA technology, refer to the AxiSYM System Operations Manual, Section 3.

REAGENTS**Reagent Pack, 100 Tests****AxiSYM AUSAB Reagent Pack (7A39-22)**

- 1 Bottle (4.9 mL) Hepatitis B Surface Antigen (Recombinant) (Subtypes **ad** and **ay**) Coated Microparticles in TRIS buffer with protein stabilizers. Minimum concentration: 0.05%. Preservative: Sodium Azide. (Reagent Bottle 2)
- 1 Bottle (13.0 mL) Anti-Biotin (Rabbit) Alkaline Phosphatase Conjugate in TRIS buffer with protein stabilizers. Minimum concentration: 0.05 µg/mL. Preservative: Sodium Azide. (Reagent Bottle 1)
- 1 Bottle (12.6 mL) Hepatitis B Surface Antigen (Recombinant) (Subtypes **ad** and **ay**) Biotin Conjugate in TRIS buffer with animal sera (Calf, Rabbit) is prepared with recalcified human plasma. Minimum concentration: 1 µg/mL. Preservative: Sodium Azide. (Reagent Bottle 3)
- 1 Bottle (17.8 mL) Dilution Reagent. Recalcified human plasma, sufficient for testing of 50 dilutions. Preservative: Sodium Azide. (Reagent Bottle 4)

Calibrators**AxiSYM AUSAB Standard Calibrators (7A39-01)**

6 Bottles (4 mL each) of AxiSYM AUSAB Standard Calibrators are prepared with recalcified human plasma. Calibrator A is nonreactive for anti-HBs. Calibrators B through F are reactive for anti-HBs. Preservative: Sodium Azide.

The AxiSYM AUSAB Standard Calibrators have the following concentrations of anti-HBs:

Standard Calibrator	Anti-HBs Concentration* mIU/mL
	0
	10
	50
	100
	500
	1000

- * The AxiSYM AUSAB primary calibrators are manufactured by dilution and referenced to the World Health Organization (WHO) 1st International Reference Preparation of anti-hepatitis B immunoglobulin at each concentration level.

Controls**AxiSYM AUSAB Controls (7A39-10)**

2 Bottles (8 mL each) of AxiSYM AUSAB Controls are prepared with recalcified human plasma. Preservative: Sodium Azide.

 The Negative Control is nonreactive for anti-HBs.

 The Positive Control is reactive for anti-HBs.

The AxiSYM AUSAB controls have the following concentrations of anti-HBs:

Control	Color	Anti-HBs Concentration* mIU/mL***	Anti-HBs Acceptable Range mIU/mL
	Natural	0	0 - 2
	Blue**	80	60 - 100

- * The AxiSYM AUSAB primary controls are manufactured by dilution and referenced to the World Health Organization (WHO) 1st International Reference Preparation of anti-hepatitis B immunoglobulin at each concentration level.

** Dye: Acid Blue No. 9

*** The AxiSYM AUSAB reporting unit is factory set to mIU/mL. An alternate result unit IU/L may be selected for reporting results (Assay Parameter 45).

Other reagents

AxSYM AUSAB Dilution Reagent (7A39-50)

SOLUTION 1 (MUP) 1 Bottle (100 mL) AxSYM AUSAB Dilution Reagent. Recalcified human plasma. Preservative: Sodium Azide.

AxSYM Probe Cleaning Solution (9A35-05)

PROBE CLEANING SOLUTION 2 Bottles (220 mL each) AxSYM Probe Cleaning Solution containing 2% Tetraethylammoniumhydroxide (TEAH). Solution 1 (MUP) (8A47-04)

SOLUTION 3 (MUP) 4 Bottles (230 mL each) Solution 1 (MUP) containing 4-Methylumbelliferyl Phosphate, 1.2 mM, in AMP buffer. Preservative: Sodium Azide.

Solution 3 (Matrix Cell Wash) (8A81-04)

SOLUTION 4 (LINE DILUENT) 4 Bottles (1000 mL each) Solution 3 (Matrix Cell Wash) containing 0.3 M Sodium Chloride in TRIS Buffer. Preservatives: Sodium Azide and Antimicrobial Agents.

Solution 4 (Line Diluent) (8A46)

SOLUTION 4 (LINE DILUENT) 1 Bottle (10 L) Solution 4 (Line Diluent) containing 0.1 M Phosphate Buffer. Preservatives: Sodium Azide and Antimicrobial Agent.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **WVW**
- For In Vitro Diagnostic Use

Package insert instructions must be carefully followed. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

Safety Precautions

-  **CAUTION:** This product contains human sourced and/or potentially infectious components. Refer to the REAGENTS section of this package insert. No known test method can offer complete assurance that products derived from human sources or inactivated microorganisms will not transmit infection. Therefore, all human sourced materials should be considered potentially infectious. It is recommended that these reagents and human specimens be handled in accordance with the OSHA Standard on Bloodborne Pathogens,⁵ Biosafety Level 2⁶ or other appropriate biosafety practices^{7,8} should be used for materials that contain or are suspected of containing infectious agents.
- The human plasma used in the Blotn Conjugate is nonreactive for HBsAg, HIV-1 RNA or HIV-1 Ag, anti-HCV, anti-HIV-1/HIV-2, and anti-HBs.
- The human plasma used in the Dilution Reagent is nonreactive for HBsAg, HIV-1 RNA or HIV-1 Ag, anti-HCV, anti-HIV-1/HIV-2, and anti-HBs.
- The human plasma used in the Calibrator A and the Negative Control is nonreactive for HBsAg, HIV-1 RNA or HIV-1 Ag, anti-HCV, anti-HIV-1/HIV-2, and anti-HBs.
- The human plasma used in Calibrators B-F and the Positive Control is reactive for anti-HBs, and nonreactive for HBsAg, HIV-1 RNA or HIV-1 Ag, anti-HCV, and anti-HIV-1/HIV-2.
- This product contains sodium azide; for a specific listing, refer to the REAGENTS section. Contact with acids liberates very toxic gas. This material and its container must be disposed of in a safe way.

Handling Precautions

- AxSYM AUSAB Reagents are susceptible to splashes, air bubbles, foaming and require inspection and removal of bubbles before loading. If bubbles are present, refer to the AxSYM System Operations Manual, Section 9: Service and Maintenance, Subsection: Daily Maintenance.
- Do not use Solution 1 (MUP) beyond the expiration date or a maximum of fourteen days on-board the AxSYM System. When loading new Solution 1 (MUP), it is important to immediately tighten the instrument cap for MUP to minimize exposure to air. Prolonged exposure to air may compromise performance.

- Do not use kits beyond the expiration date or a maximum of 112 cumulative hours on-board the AxSYM System.
- Do not mix reagents from different reagent packs. Do not mix reagent packs and calibrators from different lots.
- Avoid microbial contamination of samples and reagents. Use of disposable pipettes or pipette tips is recommended.
- Avoid chemical contamination of reagents and equipment.
- Ensure that sufficient sample volume is present. If sample volume is insufficient, the AxSYM System will give an error code and no result will be reported. For a description of the System error codes, refer to the AxSYM System Operations Manual, Section 10.
- Inadequate adherence to package insert instructions may result in erroneous results.
- Use accurately calibrated equipment.
- Use caution in handling patient samples to prevent cross contamination.

Additional safety and handling precautions and limitations for the reagent packs, calibrators, controls, patient samples and other reagents are described in the AxSYM System Operations Manual, Sections 7 and 8.

Storage Instructions

-  The AxSYM AUSAB Reagent Pack, Standard Calibrators, Dilution Reagent and Controls must be stored at 2-8°C. The AxSYM AUSAB Reagent Pack, Calibrators, Controls, and Dilution Reagent may be used immediately after removal from the refrigerator. Do not freeze the AxSYM AUSAB reagents.

The AxSYM AUSAB Reagent Pack may be on-board the AxSYM System for a maximum of 112 cumulative hours. After 112 hours, the reagent pack must be discarded. Refer to the AxSYM System Operations Manual, Sections 2 and 5 and Appendices, for further information on tracking on-board time.

Solution 1 (MUP) must be stored at 2-8°C. It may be on-board the AxSYM System for a maximum of fourteen days. After fourteen days, it must be discarded.

-  The AxSYM Probe Cleaning Solution, Solution 3 (Matrix Cell Wash) and Solution 4 (Line Diluent) must be stored at 15-30°C.

INDICATIONS OF INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

When an AxSYM AUSAB Positive or Negative Control value is out of the expected range, it may indicate deterioration of the reagents or errors in technique. Associated test results are invalid and must be retested. Assay recalibration may be necessary.

INSTRUMENT PROCEDURE

Assay File Installation

The AxSYM AUSAB Assay file must be installed on the AxSYM System from the software disk, 9A15-04, or higher, prior to performing AUSAB assays. Refer to the AxSYM System Operations Manual, Section 2, for proper installation procedures.

AxSYM AUSAB Assay Parameters

The default assay parameters for the AxSYM AUSAB assay are listed below. These parameters can be printed, displayed, and edited according to the procedure in the AxSYM System Operations Manual, Section 2. To print the ASSAY PARAMETERS, press PRINT⁹. Assay parameters that can be edited contain a (>) symbol. In order to obtain values for the parameters with an asterisk (*), review the specific Assay Parameter screen.

- Current assay file contains parameters for Master Calibrators. This information is not applicable as of 31 July 2010.

Assay Parameters	
1	Long Assay Name (English): AUSAB
6	Abbrev Assay Name (English): AUSAB
11	Assay Number: 118
12	Assay Version: 3
13	Calibration Version: 00
14	Assay File Revision: *
15	Assay Enabled > ON
17	Assay Type: MEIA
18	Standard Cal Raps > 2
21	Cal A Concentration: 0.0
22	Cal B Concentration: 10.0
23	Cal C Concentration: 50.0
24	Cal D Concentration: 100.0
25	Cal E Concentration: 500.0
26	Cal F Concentration: 1000.0
43	Default Dilution Protocol > UNDILUTED
44	Default Calibration Method > Standard Cal
45	Selected Result Concentration Units > mIU/mL
46	Selected Result Decimal Places > 1
64	Max Intercept-Max MUP Intercept: 12000.0000
65	Min Intercept-Min MUP Intercept: 1100.0000
66	Upper limit for NRMSE for low rates: 9999.9900
67	Upper limit for NRMSE for high rates: 0.5000
68	Max Rate-Max rate used to check Min MUP Intercept: 1700.0000
69	Min Rate-Rate cutoff for NRMSE and Corr. Coef: 8.0000
70	Min correlation coefficient for low rates: 0.9700
71	Min correlation coefficient for high rates: 0.9700
72	MUP T Delay-Time delay following MUP: 2.2000
80	Interpretation Option to use > 1
84	Hold results with POS interpretation > OFF
85	Hold results with NEG interpretation > OFF
86	Hold results with GRY interpretation > OFF
91	Low Range Neat: 0.0
92	High Range Neat: 1000.0
96	Low Range Dil: 0.0
97	High Range Dil: 25000.0
117	Negative Interpretation Cutoff > 10.0

NOTE: Parameter 46 must not be edited below 1 decimal place.

NOTE: Parameter 45 can be edited to the alternate result unit IU/L.

NOTE: A grayzone feature is available. To utilize the grayzone option, parameter 117, Negative Interpretation Cutoff, must be edited to the desired value within the range of 5.0 to 9.9 mIU/mL. Specimens with mIU/mL values equal to the selected value and less than 10.0 are indicated as "GZ-NONREACTIVE" or "GZ-NEGATIVE" in the interpretation field. The report options are selected in parameter 80, Interpretation Option to Use.

The AxSYM AUSAB values available for parameter 80 (Interpretation Option to use) are:

	POS Interpret	NEG Interpret	GRY Interpret
1.	REACTIVE	NONREACTIVE	GZ-NONREACTIVE
2.	REACTIVE	NEGATIVE	GZ-NEGATIVE
3.	REACTIVE	BLANK	BLANK
4.	BLANK	BLANK	BLANK

Refer to the AxSYM System Operations Manual for a detailed description of Instrument Procedures.

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION FOR ANALYSIS

- Serum (including serum collected in separator tubes) or plasma (collected in sodium heparin, sodium citrate, ACD, CPDA-1, or EDTA) may be used in the AxSYM AUSAB Assay. Use the ratio of anticoagulant (quantity) to sample (volume) that is recommended by the manufacturer.
- The AxSYM System does not have the capability to verify sample type. It is the responsibility of the operator to verify the correct sample type(s) is(are) used in the AxSYM AUSAB assay.
- Samples containing fibrin, particulate matter or red blood cells may give inconsistent or erroneous results and must be completely clotted and centrifuged prior to testing.
- Inspect all samples for splashing, air bubbles and foaming. If necessary, remove bubbles prior to analysis using a new applicator stick for each sample. Refer to the AxSYM System Operations Manual, Section 7.
- Specimens with obvious microbial contamination should not be used.
- All patient samples to be tested in Primary Tubes must be centrifuged to remove red cells or particulate matter. Each sample that requires repeat testing, or that has been frozen and thawed, must be transferred to a centrifuge tube and centrifuged at a minimum of 10,000 RCF* for 10 minutes. Transfer clarified sample to a sample cup for testing.
WARNING: AxSYM System Software Version 3.0 and higher offers an Auto Retest/Auto Dilution feature. Due to requirements discussed above, this feature must not be used.
- Samples from heparinized patients may be partially coagulated and erroneous results could occur due to the presence of fibrin. To prevent this phenomenon, draw the sample prior to heparin therapy.
- Samples may be stored on the clot or red blood cells for up to 7 days at 2-8°C prior to being tested.
- If the assay will be performed after 7 days, the sample must be removed from the clot or red blood cells and stored frozen (-10°C or colder).
- Performance differences observed were within assay variability for AxSYM AUSAB when 15 nonreactive and 15 reactive samples were subjected to 6 freeze/thaw cycles; however, multiple freeze/thaw cycles should be avoided. Samples must be mixed thoroughly after thawing and centrifuged prior to use, as described in this section, to remove particulate matter and to ensure consistency in the results.
- When shipped, samples must be packaged and labeled in compliance with applicable federal and international regulations covering the transport of clinical samples and etiologic agents. Samples may be shipped either refrigerated on wet ice (2-8°C) or frozen on dry ice (-10°C or colder). Prior to shipment under ambient conditions, samples must be removed from the clot or red blood cells.
- All samples (patient samples, controls and calibrators) should be tested within 3 hours of being placed on-board the AxSYM System. Refer to the AxSYM System Operations Manual, Section 5, for more detailed discussion of on-board storage constraints.
- Do not use heat-inactivated samples.
- Performance has not been established for cadaver samples or body fluids such as urine, saliva, semen or amniotic fluid.
- Performance differences observed were within assay variability when AxSYM AUSAB Calibrators were tested with elevated levels of bilirubin (0-20 mg/dL), hemoglobin (0-500 mg/dL) or lipids (0-2000 mg/dL).

Sample Volume

Sample volume required to perform a single AUSAB test on the AxSYM System varies according to the different sample containers. For sample cups, the minimum sample volume required is 210 µL. For every additional AUSAB test performed from the same sample container, an additional 150 µL of sample will be required.

* RCF = Relative Centrifugal Force

If the dilution protocol is selected, 150 µL of sample is required unless the test is performed STAT. The minimum sample volume for a STAT AUSAB dilution is 94 µL. For every additional AUSAB dilution performed from the same container, an additional 44 µL of sample will be required. Refer to the AxSYM System Operations Manual, Section 5.

The sample cup minimum volume will be calculated by the AxSYM System. It will be displayed on the Order screen at the time the test(s) is(are) ordered, and printed in the Orderlist Report.

To obtain the recommended volume requirements for the AxSYM AUSAB Standard Calibrators and Controls, hold the bottles vertically and dispense 11 drops of each Calibrator or 9 drops of the Positive or Negative Control into each respective sample cup.

For sample volume requirements in primary or aliquot tubes and calibrator and control volume requirements for multiple AxSYM AUSAB reagent lots, refer to the AxSYM System Operations Manual, Sections 5 and 6.

AxSYM AUSAB PROCEDURE

Materials Required

- 7A39-22 AxSYM AUSAB Reagent Kit, containing:
 - AxSYM AUSAB REAGENT PACK
 - 100 REACTION VESSELS
 - 100 MATRIX CELLS
- 7A39-10 AxSYM AUSAB Controls
- 7A39-01 AxSYM AUSAB Standard Calibrators
- 7A39-50 AxSYM AUSAB DILUTION REAGENT
- 8A47-04 SOLUTION 1 RMP
- 8A81-04 SOLUTION 2 MATRIX CELL WASH
- 8A46 SOLUTION 4 LINE DILUENT
- 9A35-05 AxSYM POSITIVE CHARGED SPUTUM
- 8A76-01 SAMPLE CUPS

Materials Required But Not Provided

- Pipettes or pipette tips
- Cotton-tipped applicators

CAUTION:

- When manually dispensing samples, verify that dispensing equipment does not introduce cross contamination and that it delivers the specified sample volume. Use a separate pipette or pipette tip for each sample.
- For optimal performance, it is important to follow the routine maintenance procedures defined in the AxSYM System Operations Manual, Section 9. If your laboratory requires more frequent maintenance, follow those procedures.

Assay Procedure

CAUTION: The System status must be WARMING, PAUSED, READY or STOPPED before adding or removing sample segments, reagent packs or reaction vessels.

The AxSYM system "Automatic Sample Repeat" feature must not be used due to the AxSYM AUSAB assay requirement to centrifuge all samples prior to repeat testing.

1. Check for sufficient on-board inventory of matrix cells and bulk solutions, and for sample segment availability.
2. Check for sufficient waste collection capacity.

CAUTION: Do not open the Interior Waste Door or the AxSYM Processing Center Cover while any test is in progress. If opened, all processing will stop. All tests will be terminated and must be repeated.

3. Order the AUSAB Calibrators, AUSAB Controls, and/or patient samples as required. Assign or modify the sample segment position (S/P) for each sample, as necessary.

Refer to the Quality Control Procedures section in this package insert for calibration and control requirements.

Calibration:

Dispense 11* drops of the A - F Calibrators into individual sample cups.

- * When more than one AxSYM AUSAB reagent lot is on-board the AxSYM System, multiply calibrator and control volumes by the number of lots.

Controls:

Perform quality control by testing Positive and Negative Controls (one test each). Dispense 9* drops each of the Positive and Negative Controls into individual sample cups.

- * When more than one AxSYM AUSAB reagent lot is on-board the AxSYM System, multiply calibrator and control volumes by the number of lots.

Patient Samples:

Ensure that sufficient volume is present in the sample cups or tubes. The sample cup minimum volume is 210 µL for the first AUSAB test plus 150 µL for each additional AUSAB test. For volume requirements in primary or aliquot tubes, refer to the AxSYM System Operations Manual, Section 5.

NOTE: The operator may obtain an Orderlist Report by pressing PRINT. The printout contains sample placement information and minimum sample cup volume requirements for all tests ordered. When using Host Order Query, the Order screen information and the Orderlist Report is not available. Refer to the AxSYM System Operations Manual, Section 5: Operating Instructions, Subsection: Ordering Patient Samples, for a description of the Host Query Option.

4. Place the sample segments containing the ordered samples into the Sample Carousel.
5. Open Reagent Bottle 4 containing the Dilution Reagent. Remove any droplets of Dilution Reagent on the inside of the cap with a cotton-tipped applicator. Failure to do so may result in contamination of the Reagent Pack Actuator.
6. Place the AUSAB Reagent Pack into the Reagent Pack Carousel.
7. Ensure that reaction vessels (RVs) are present on the RV Carousel. Additional RVs may be added as needed.
8. Press RUN. All entries on the Orderlist screen are transferred to the Order Status screen for sample processing.
9. Review the results to determine whether dilution of the sample is required. See the Sample Dilution Procedures section of this package insert for more detailed information on the dilution of samples with concentrations greater than 1,000.0 mIU/mL.
10. When testing is completed, close the Reagent Bottle 4, remove the samples and the AxSYM AUSAB Reagent Pack from the Sampling Center. Store at 2-8°C.

NOTE: When using the on-board reagent stability tracking feature, the operator must perform a scan when removing any pack from the system in order to maintain the validity of the reagent stability timer.

Refer to Sections 5 and 6 of the AxSYM System Operations Manual for a detailed explanation of performing assay calibration and sample testing procedures.

SAMPLE DILUTION PROCEDURES

Automated Dilution Protocol

Patient samples with anti-HBs concentrations reported as greater than 1,000.0 mIU/mL (>1000.0 mIU/mL) may be diluted using the Automated Dilution Protocol. A sample volume of 150 µL is required unless the test is performed STAT. The minimum volume for a STAT AUSAB dilution test is 94 µL. For every additional AUSAB dilution performed from the same container, an additional 44 µL of sample will be required. The AxSYM System automatically calculates the concentration of the diluted sample and reports the result. Refer to Section 5 of the AxSYM System Operations Manual for additional information on ordering sample dilutions.

Manual Dilution Protocol

Patient samples with anti-HBs concentrations reported as greater than 25,000.0 mIU/mL (>25000.0 mIU/mL) by the Automated Dilution Protocol may be diluted using a manual dilution of 1:25. Add 10 µL of the patient sample to 240 µL of the AxSYM AUSAB Dilution Reagent. Repeat the Automated Dilution Protocol using this manually diluted sample. The concentration reported by the AxSYM System must be multiplied by the manual dilution factor to obtain the final sample concentration.

$$\text{Final Sample Concentration} = \text{Reported Concentration} \times \text{Manual Dilution Factor}$$

$$\text{Manual Dilution Factor} = \frac{(\text{Volume of Sample} + \text{Volume of Dilution Reagent})}{\text{Volume of Sample}}$$

QUALITY CONTROL PROCEDURES

Calibration

The AxSYM AUSAB assay must be calibrated using a Standard Calibration (5-point) procedure.

Standard Calibration

To perform an AxSYM AUSAB Standard Calibration, test Standard Calibrators A, B, C, D, E, and F in duplicate. A single sample of both the Positive and Negative Controls must be tested as a means of evaluating the assay calibration.

Once the AxSYM AUSAB calibration is accepted and stored, all subsequent samples may be tested without further calibration unless:

- A reagent pack with a new lot number is used for an assay.
- Either of the AxSYM AUSAB Control values is out of its specified range.

Refer to the AxSYM System Operations Manual, Section 6, for additional information.

The operator must verify that the AxSYM AUSAB control values are within the acceptable ranges specified in this package insert (see Controls section).

The AxSYM System verifies that the results of an assay calibration meet the specifications assigned to selected validity parameters. An error code message occurs when the calibration fails to meet a specification. Refer to the AxSYM System Operations Manual, Section 10, for an explanation of the corrective actions for the error code. Refer to the AxSYM System Operations Manual, Appendix E, for an explanation of the calibration validity parameters that may be used by the AxSYM System.

Quality Control

The minimum control requirement for an AxSYM AUSAB assay is a single sample of each of the Positive and Negative Controls tested once every 24 hours, each day of use. Controls may be placed in any position in the Sample Carousel.

The AxSYM AUSAB Control values must be within the acceptable ranges specified in this package insert (see Controls section). If a control value is out of its specified range, the associated test results are invalid and must be retested. Recalibration may be indicated.

If the quality control procedures in your laboratory require more frequent use of controls, follow those procedures.

Fluorescence Background Acceptance Criteria

Quality control with regards to the MUP substrate blank is automatically determined by the instrument and checked under Assay Parameter 64 Max Intercept-Max MUP Intercept each time a test result is calculated. If the MUP Intercept value is greater than the maximum allowable value, the result is invalid. The test request will be moved to the Exceptions List where it will appear with the message "1064 Invalid test result, Intercept too high" and the calculated Intercept value. Refer to the AxSYM System Operations Manual, Section 10, when this error message is obtained.

Refer to AxSYM System Operations Manual, Section 2, for further information on parameter files.

RESULTS

Calculations

AxSYM AUSAB generates a calibration curve using a 4-parameter logistic curve fit. The amount of anti-HBs in samples is determined using the calibration curve.

Flags

Some results may contain information in the Flags field. For a description of the flags that may appear in this field, refer to the AxSYM System Operations Manual, Sections 1 and 2.

INTERPRETATION OF RESULTS

- Samples with concentrations less than 10.0 mIU/mL are nonreactive by the AxSYM AUSAB assay.
- Samples whose concentrations are greater than or equal to 10.0 mIU/mL are reactive.

Refer to the Sample Dilution Procedures section of this package insert for calculation of diluted sample results.

Nonspecific reactivities may be obtained with this, or any other highly sensitive immunoassay. The most common source of nonspecific reactivities is particulate matter in the patient specimen, particularly fibrin clots and cellular material.

For indications following vaccination, national recommendations should be followed.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- For the diagnosis of acute or chronic hepatitis B viral infection, AxSYM AUSAB reactivity should be correlated with patient history and other hepatitis markers.
- Performance has not been established using cadaver samples or body fluids such as urine, saliva, semen or amniotic fluid.
- Do not use heat-inactivated samples.
- Frozen samples and those containing particulate matter or red blood cells must be centrifuged prior to running the assay.
- The AxSYM System "Automatic Sample Retest" feature must not be used due to the AxSYM AUSAB assay requirement to centrifuge all samples prior to repeat testing.
- Samples from heparinized patients may be partially coagulated. Erroneous results could occur due to the presence of fibrin. To prevent this phenomenon, draw the sample prior to heparin therapy.

NOTE: Quantitative values obtained using alternate assays (i.e. RIA, EIA or MEIA) may not be equivalent and cannot be used interchangeably. A new baseline using AxSYM AUSAB should be established when monitoring vaccinees.

EXPECTED VALUES

In a random population of 721 blood donor samples, 46 (6.4%) were reactive (≥ 10.0 mIU/mL) by AxSYM AUSAB. In a population reactive for anti-HBs (≥ 10.0 mIU/mL by IMx AUSAB), AxSYM AUSAB detected anti-HBs in 204/204 (100%).

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Precision

Assay reproducibility was determined during the clinical evaluation of AxSYM AUSAB. The five member panel was run in replicates of three, four times per day, over two days on each of three clinical lots. Calculations were made with a variance component analysis, using a nested analysis of variance model.² The results from these three clinical lots are summarized in Table 1.^{**}

TABLE 1
Reproducibility of AxSYM AUSAB

Reproducibility of HsCRP Results										
Panel Member	N	Mean [mIU/mL]	Deviation from Mean*		Intra-Run SD %CV	Inter-Run SD %CV	Total SD %CV			
			[mIU/mL]	%			SD	%CV		
1	72	4.0	± 1.5	± 37.5	0.3	6.9	0.3	7.2	0.5	11.7
2	72	27.7	± 5.4	± 19.5	1.2	4.5	1.5	5.5	1.8	6.3
3	72	155.2	± 26.4	± 17.0	6.7	4.3	7.6	4.9	8.8	5.7
4	72	294.0	± 65.7	± 22.1	18.8	6.4	19.8	6.7	21.9	7.5
5	72	698.8	± 148.2	± 24.7	38.7	6.5	48.3	8.1	49.4	8.2
Positive Control	48	72.9	± 10.5	± 14.5	3.2	4.4	3.2	4.4	3.5	4.8

* based on a 99.73% (± 3 SD) Confidence Interval

** Representative performance data are shown. Results obtained at individual laboratories may vary.

Applying a confidence interval of ± 3 standard deviations, 9,973 of 10,000 replicates of e.g. panel member 3 would be expected to be within $\pm 17.0\%$ of the mean.

Measuring Range

The AxSYM AUSAB measuring range is 2 mIU/mL - 1000 mIU/mL (defined by the limit of detection and the maximum of the calibration curve).

For samples exceeding the measuring range refer to the SAMPLE DILUTION PROCEDURE section.

Correlation

AxSYM AUSAB was compared to IMx AUSAB during the clinical evaluation. The results of these tests are shown in Table 2.^{*}

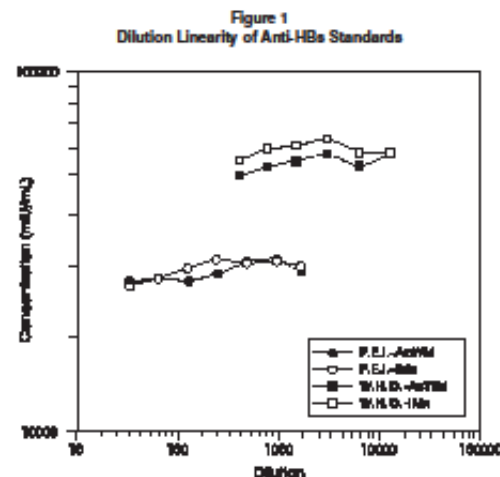
TABLE 2
Comparison of AxSYM AUSAB with IMx AUSAB

Method	Number of Observations	Intercept			Correlation Coefficient
		Slope			
IMx AUSAB	204	-9.90	1.18		0.986

* Representative performance data are shown. Results obtained at individual laboratories may vary.

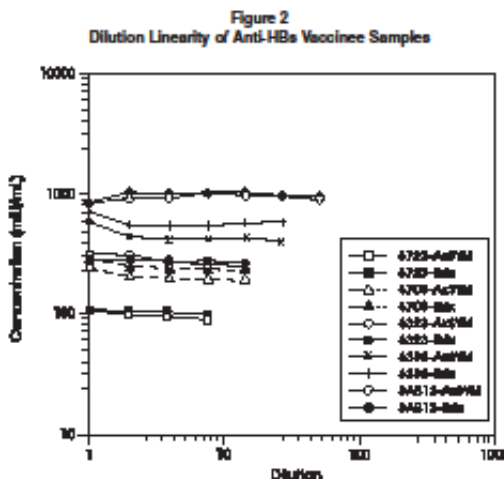
Dilution Linearity

The PEI and WHO Reference Standards were diluted serially in AxSYM AUSAB Dilution Reagent. Each dilution was tested in duplicate by AxSYM AUSAB and IMx AUSAB. The original concentration of each standard was calculated by multiplying the result for each dilution in the range of 10 mIU/mL to 1000 mIU/mL by the dilution factor. The result for each dilution is plotted in Figure 1.*



* Representative performance data are shown. Results obtained at individual laboratories may vary.

Samples from five individuals vaccinated with hepatitis B vaccine were diluted serially in AxSYM AUSAB Dilution Reagent. The dilutions were tested in duplicate by AxSYM AUSAB and IMx AUSAB. The original concentration of each sample was calculated by multiplying the result of each dilution in the range of 10 mIU/mL to 1000 mIU/mL by the dilution factor. The result for each dilution is shown in Figure 2.*



* Representative performance data are shown. Results obtained at individual laboratories may vary.

Specificity

The specificity of AxSYM AUSAB was determined by testing samples from three blood bank populations. Of 673 donor samples previously found nonreactive for anti-HBs by IMx AUSAB, 673 (100%) were nonreactive by AxSYM AUSAB. (Representative performance data are shown. Results obtained at individual laboratories may vary).

BIBLIOGRAPHY

1. Wainwright RB, McMahon BJ, Bulkow LR, Parkinson AJ, Harpster AP and Hadler SC. Duration of Immunogenicity and Efficacy of Hepatitis B Vaccine in a Yupik Eskimo Population - Preliminary Results of an 8-Year Study. In: Hollinger FB, Lemon SM and Margolis HS, editors. *Viral Hepatitis and Liver Disease*. Baltimore: Williams & Wilkins, 762-766, 1991.
2. Ambrosch F, Frisch-Niggemeyer W, Kramers P, Kurz C, André F, Safary A and Wiedemann G. Persistence of Vaccine-Induced Antibodies to Hepatitis B Surface Antigen and the Need for Booster Vaccination in Adult Subjects. *Postgrad. Med. J.* 53(S2):129-135, 1987.
3. Krugman S, Giles JP and Hammond J. Viral Hepatitis Type B (MS-2 Strain): Studies on Active Immunization. *JAMA* 212:41-45, 1971.
4. Jilg W, Schmidt M and Deinhardt F. Immune Response to Hepatitis B Revaccination. *J. Med. Virol.* 24:377-384, 1988.
5. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29 CFR Part 1910.1030, Bloodborne pathogens.
6. US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office; January 2007.
7. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*. 3rd ed. Geneva: World Health Organization; 2004.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline—Third Edition*. CLSI Document M29-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
9. *Statistics for Experiments: An Introduction to Design, Data Analysis, and Model Building*. Box GEP, Hunter WG and Hunter JS. Wiley J and Sons, Inc., 571-583, 1978.

AxSYM and IMx are trademarks of Abbott Laboratories in various jurisdictions.

ABBOTT
Max-Planck-Ring 2
66205 Wiesbaden
Germany
+49-6122-580



March 2010
© 1998, 2010 Abbott Laboratories