



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS E BIOLOGIA
CELULAR

**O IMPACTO DA IMPLANTAÇÃO DO TESTE NAT-HBV NA FUNDAÇÃO
CENTRO DE HEMOTERAPIA E HEMATOLOGIA DO ESTADO DO PARÁ
(HEMOPA), NA REGIÃO NORTE DO BRASIL**

ANGELITA SILVA DE MIRANDA CORRÊA

BELÉM-PA

2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS E BIOLOGIA
CELULAR

**O IMPACTO DA IMPLANTAÇÃO DO TESTE NAT-HBV NA FUNDAÇÃO
CENTRO DE HEMOTERAPIA E HEMATOLOGIA DO ESTADO DO PARÁ
(HEMOPA), REGIÃO NORTE DO BRASIL**

ANGELITA SILVA DE MIRANDA CORRÊA

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em
Neurociências e Biologia Celular da UFPA como
requisito final para obtenção do grau de Doutor em
Biologia Celular.

Orientador: Prof. Dr. Rommel Rodríguez Burbano

BELÉM-PA

2019

ANGELITA SILVA DE MIRANDA CORRÊA

**O IMPACTO DA IMPLANTAÇÃO DO TESTE NAT-HBV NA FUNDAÇÃO
CENTRO DE HEMOTERAPIA E HEMATOLOGIA DO ESTADO DO PARÁ
(HEMOPA), NA REGIÃO NORTE DO BRASIL**

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Rommel Mario Rodríguez Burbano
UFPA (orientador)

Dra. Letícia Martins Lamarão
HEMOPA - NAT (membro)

Profa. Dra. Patrícia Danielle Lima de Lima
UEPA (membro)

Prof. Dr. Marcelo de Oliveira Bahia
UFPA (membro)

Dra. Priscilla Cristina Moura Vieira
(Membro Suplente)

FONTES FINANCIADORAS E INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES

Universidade Federal do Pará - UFPA

Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará (HEMOPA)

AGRADECIMENTOS

Hoje meu coração está transbordando de felicidade e quero agradecer as pessoas que me ajudaram na realização deste trabalho. Com certeza, fazem parte desta conquista.

Agradeço a Deus acima de tudo, que me deu forças para retornar ao Doutorado superar as adversidades e para prosseguir até o fim.

Aos meus pais, Raimundo e Graça, por me ensinarem a valorizar os estudos e lutar pelos meus sonhos, por fazerem de mim quem sou, por tornarem tudo isto possível e pelo exemplo de coragem, superação e apoio incondicional sempre.

Ao meu guerreiro e amado marido, Daniel Corrêa, meu cúmplice, meu incentivador, sempre presente em qualquer situação. Você sabe o quanto sonhei com este dia, e o quanto foi difícil chegar até aqui. Sou muito grata, por ter acreditado em mim, e me incentivado a tentar outra vez o doutorado. Obrigada amor, pela sua compreensão sem fim, pelo seu amor verdadeiro, pela paciência inesgotável durante todo tempo. Juntos, construímos sem dúvidas, nossa melhor obra que é nossa família. Amor absoluto e blindado, sempre!

Aos meus filhos, Ana Gabrielly, Matheus e Maria Eduarda, vocês me ajudaram a superar minhas limitações e acreditar que seria possível, por vocês, fui forte. Obrigada por todos os momentos juntos, por me permitirem sentir um amor tão sublime e infinito. E, nos momentos de tristezas e dificuldades, saibam que vocês foram e serão sempre, o principal motivo de coragem, esperança e alegria; Tudo por vocês, para vocês e de vocês!

Aos meus irmãos, Ianês, Sara, Igor, Jaqueline e Juliano pelo apoio, incentivo, orações e por todo o amor em todos os momentos que passamos juntos. Aos meus cunhados e cunhada, pelos momentos de alegria e descontração.

Ao meu orientador Dr. Rommel Burbano, pela oportunidade e confiança. Por ter me estendido a mão, me ajudado a realizar um sonho, serei eternamente grata por todos os ensinamentos, pela orientação e atenção ao longo desses anos. Por ter me estimulado a estudar e aprender cada vez mais, sobretudo pela amizade que construímos. É uma grande honra ser sua aluna!

À minha amiga de infância, melhor amiga e co-orientadora, Dra. Letícia Lamarão pelo apoio, pelas explicações incansáveis, por acreditar em mim, pelo estímulo, pelos longos desabafos, nossos cafés com longas conversas, pela amizade que perdura. Sem saber, você me tirou de uma tristeza que parecia não ter fim, foi você quem me devolveu a

esperança em seguir no doutorado, amo você minha amiga-irmã.

Aos meus sogros, Artur e Nazaré pelo apoio e incentivo, por compreenderem algumas ausências em reuniões familiares. Aos meu cunhados por todo apoio e carinho.

À Priscilla, pelos conhecimentos compartilhados, por toda ajuda dispensada em várias etapas deste trabalho. Por sua companhia e amizade. Tenho orgulho de você.

À minha querida Salete, por sempre me incentivar, pela amizade, apoio e pelas conversas descontraídas.

Aos membros da banca por terem aceitado colaborar com esse trabalho pelo interesse e disponibilidade.

À Dra. Patrícia Lima que desde 2010, em minha primeira tentativa para ingressar no doutorado, depositou confiança e acreditou em mim. Obrigada pela amizade e incentivo. É uma honra sua presença na banca.

Ao Dr. Marcelo Bahia, pela honra em aceitar o convite para compor a banca. Agradeço ainda, pela paciência e compreensão como meu orientador em 2010, durante o período difícil que passei, pois precisei desistir momentaneamente do meu sonho. Obrigada por depositar confiança em mim.

À Renata pela oportunidade, carinho e apoio.

À Patrícia pelo carinho, amizade e incentivo.

À Angel, por sua alegria diária, por sua colaboração no setor NAT.

Às amigas Oade e Talita, que moram longe, mas que sempre me sustentaram em oração.

À todos os funcionários da FUNDAÇÃO HEMOPA, pelo apoio aos pós-graduandos.

À Netteh Silva, por sua atenção e carinho, sempre tão solícita.

À Socorro Andrade, por toda ajuda dispensada a mim, desde 2010. Você, faz toda diferença.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, à Fundação HEMOPA e à Universidade Federal do Pará (UFPA) por todo o suporte para a realização desse trabalho.

E a todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, com toda certeza, sem a colaboração de cada uma delas não teria chegado ao fim.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS, SÍMBOLOS E UNIDADES	x
LISTA DE FIGURAS E TABELAS	xiii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	16
1.1. HISTÓRICO DO VÍRUS DA HEPATITE B	16
1.2. O VÍRUS DA HEPATITE B (HBV)	17
1.2.1. Classificação e estrutura do HBV	17
1.2.2. Organização do Genoma do HBV	18
1.2.3. Transmissão do HBV	19
1.2.4. Aspectos Clínicos da Hepatite B	20
1.3. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA HEPATITE B	21
1.3.1. Marcadores sorológicos da infecção pelo vírus da Hepatite B	21
1.3.2. HBsAg- Antígeno de Superfície do HBV	21
1.3.3. HBcAg- Antígeno “core” do HBV	22
1.3.4. HBeAg- Antígeno “e” do HBV	22
1.3.5. Anti-HBs- Anticorpo contra o antígeno de Superfície do HBV	22
1.3.6. Anti-HBc- Anticorpo contra o antígeno “core” do HBV	23
1.3.7. Anti-HBe- Anticorpo contra o antígeno “e” do HBV	23
1.3.8. Técnicas de Amplificação de Ácido Nucléico (NAT)	23
1.4. EPIDEMIOLOGIA DO HBV	25
1.4.1. HBV no mundo	25
1.4.2. HBV no Brasil	25
2. HEMOTERAPIA	27
2.1. Histórico	27
2.2. Hemoterapia no Brasil	30

2.3. O ciclo do sangue e tipos de doadores	31
2.4. Segurança Transfusional	36
2.5. Implantação do teste NAT	38
2.6. Avaliação do impacto do teste NAT na redução do risco residual de transmissão do HBV	40
3. OBJETIVOS	42
3.1. OBJETIVO PRINCIPAL	42
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
4. MATERIAIS E MÉTODOS	43
4.1. DADOS DOS DOADORES	44
4.2. TRIAGEM SOROLÓGICA	44
4.3. TRIAGEM MOLECULAR	44
4.3.1. Preparação das amostras	45
4.3.2. Extração e purificação de ácidos nucleicos	45
4.3.3. Amplificação e detecção de ácidos nucleicos	46
4.4. CÁLCULOS DA PREVALÊNCIA, INCIDÊNCIA E RISCO RESIDUAL	47
4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	48
5. RESULTADOS	50
5.1 ARTIGO CIÊNTIFICO	50
6. DISCUSSÃO	66
7. CONCLUSÃO	70
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
9. ANEXO	89

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
Anti-HBc	Anticorpo contra o antígeno “core” do HBV
Anti-HBe	Anticorpo contra o antígeno “e” do HBV
Anti-HBs	Anticorpo contra o antígeno de Superfície do HBV
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOR	Razão de chance ajustada ^[1] _{SÉP}
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CGSH	Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados ^[1] _{SÉP}
CMIA	Quimioluminescência
CMV	Citomegalovírus ^[1] _{SÉP}
CNH	Comissão Nacional de Hemoterapia
DST	Doença sexualmente transmissível
EIA	Enzyme Immuno Assay
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
Fita L	Fita longa do vírus da hepatite B
Fita S	Fita curta do vírus da hepatite B ^[1] _{SÉP}
FPS	Fundação Pró-Sangue
FT	Doadores de primeira vez (do inglês First time donors)
HB	Hemoglobina
HBcAg	Antígeno central (core) da hepatite B
HBeAg	Antígeno “e” do HBV
HBsAg	Antígeno de superfície da hepatite B
HBV	Vírus da Hepatite B (do inglês Hepatitis B vírus)
HBxP	Proteína “x” do vírus da hepatite B ^[1] _{SÉP}
HCV	Vírus da hepatite C (do inglês Hepatitis C virus ^[1] _{SÉP})
Hemoes	Hemocentro do Espírito Santo ^[1] _{SÉP}
Hemoiba	Hemocentro da Paraíba ^[1] _{SÉP}
Hemominas	Hemocentro de Minas Gerais ^[1] _{SÉP}

Hemonorte	Hemocentro do Rio Grande do Norte ^{[1][2]} _[SEP]
Hemopa	Hemocentro do Pará
Hemope	Hemocentro de Pernambuco ^{[1][2]} _[SEP]
Hemorgs	Hemocentro do Rio Grande do Sul
Hemorio	Hemocentro do Rio de Janeiro ^{[1][2]} _[SEP]
Hemosantos	Hemonúcleo de Santos ^{[1][2]} _[SEP]
Hemosc	Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina
HT	Hematócrito
HTLV	Vírus Linfotrópico da Célula T Humana ^{[1][2]} _[SEP]
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IBMP	Instituto de Biotecnologia do Paraná ^{[1][2]} _[SEP]
ICS	Intervalos de confiança
ID	individual
ITTs	Infecções transmitidas por transfusão sanguínea
MS	Ministério da Saúde do Brasil ^{[1][2]} _[SEP]
MP6	<i>Minipool</i> de seis amostras
NAT	Nucleic Acid Test (técnica de amplificação de ácidos nucleicos)
NEG	Negativo ^{[1][2]} _[SEP]
OMS	Organização Mundial da Saúde ^{[1][2]} _[SEP]
PAI	Pesquisa de anticorpos irregulares
PCR	Polimerase Chain Reaction (reação em cadeia da polimerase)
PCR-RT	Polimerase Chain Reaction-Real Time (reação em cadeia da polimerase em tempo real) ^{[1][2]} _[SEP]
POS	Positivo
PPT	Plasma preparation tube ^{[1][2]} _[SEP]
PRÓ-SANGUE	Programa Nacional de Sangue e Hemoderivados ^{[1][2]} _[SEP]
Py	pessoa ano
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada ^{[1][2]} _[SEP]
Região P	Região de codificação da polimerase do DNA ^{[1][2]} _[SEP]
Região pré-S1	Sequência entre o primeiro e o segundo códon de iniciação da região S ^{[1][2]} _[SEP]
Região pré-S2	Sequência entre o segundo e o terceiro códon de iniciação da região S ^{[1][2]} _[SEP]

Região S	Região de codificação das proteínas do envelope ^[L]_{SEP}]
Região X	Região de codificação do antígeno X ^[L]_{SEP}]
RP	Doadores de repetição
RR	Risco Residual
SINAN/SVS/MS	Sistema Nacional de Notificação de Agravos/Secretaria de Vigilância à Saúde/Ministério da Saúde
SIT-NAT	Sítio Testador
SNVS	Sistema Nacional de Vigilância Sanitária
SUS	Sistema Único de Saúde ^[L]_{SEP}]
TC	Triagem clínica
UCA	Unidade Coletadora de Amostras
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro ^[L]_{SEP}]
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
URA	Unidade Referenciadora de Amostras
VDRL	Veneral Disease Research Laboratory
HBV	Vírus da Hepatite B ^[L]_{SEP}]
VHC	Vírus da hepatite C
WP	Período de janela (do inglês window period)

^[L]_{SEP}]

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1 Esquema da partícula de Dane.	18
Figura 2 Representação esquemática do genoma do HBV.	19
Figura 3 Proporção de Casos de hepatite B segundo provável fonte ou mecanismo de infecção e ano de notificação	20
Figura 4 Representação esquemática dos eventos clínicos e sorológicos na Hepatite B aguda.	24
Figura 5 Representação esquemática dos eventos clínicos e sorológicos na Hepatite B crônica.	24
Tabela 1 Interpretação dos resultados Sorológicos e molecular da Hepatite B	25
Figura 6 Taxa de detecção do HBV por 100 mil habitantes segundo região, por ano de diagnóstico.	26
Figura 7 Taxa de incidência de casos de hepatite B segundo UF e capital de residência.	27
Figura 8 Fluxograma do Ciclo do Sangue.	32
Figura 9 Cursos de tempo aproximados para detecção dos marcadores virais do HBV; HBsAg, anti-HBc e DNA- NAT.	38
Tabela 2 Estimativa do Risco Residual para transmissão por transfusão do HBV a nível mundial (antes e/ou após o NAT).	41
Figura 10 Fluxo metodológico do NAT.	45

RESUMO

O teste de ácidos nucleicos (NAT) para detecção de vírus durante a triagem de sangue ajudou a prevenir infecções transmitidas por transfusão em todo o mundo. No norte do Brasil, o NAT foi implementado em 2012 para os vírus HIV e HCV e, em janeiro de 2015, a triagem para HBV foi incluída e atualmente usada concomitantemente com testes sorológicos (HBsAg e anti-HBc). Este estudo teve como objetivo avaliar a prevalência e a incidência de infecção pelo HBV entre doadores voluntários de sangue em dez hemocentros regionais da Fundação HEMOPA no estado do Pará e comparar o risco residual da infecção pelo HBV transmitida por transfusão antes e após a implementação do HBV-NAT no Brasil. A prevalência restrita a doadores de primeira vez (FT) e a incidência restrita a doadores de repetição (RP) do HBV foram calculadas com base nas taxas de amostras positivas confirmadas. O risco residual foi baseado na incidência e no modelo WP descritos por Schreiber e coautores. A regressão logística e de Poisson foram utilizadas na análise estatística pelo SPSS v20.0. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. A prevalência do HBV nos períodos antes e após a implantação do HBV-NAT foi de 247 e 251 por 100.000 doações, respectivamente. As taxas de soroconversão foram 114 e 122 por 100.000 doações nos dois períodos, respectivamente. O risco residual (RR) para HBV diminuiu significativamente no período posterior à implementação do HBV-NAT, com redução de 1: 144,92 para 1: 294,11 doações ($p < 0,001$), aumentando significativamente a segurança transfusional na Fundação HEMOPA, na região Norte do Brasil.

Palavras-chave: NAT, HBV, doadores de sangue, segurança transfusional, período de janela, prevalência, incidência, risco residual.

ABSTRACT

Nucleic acid testing (NAT) for virus detection during blood screening has helped to prevent transfusion-transmitted infections worldwide. In northern Brazil, NAT was implemented in 2012 for HIV and HCV and more recently, in January 2015, the screening for HBV was included and currently used concomitant with serological tests (HBsAg and anti-HBc). This study aims to evaluate the prevalence and the incidence of HBV infection among voluntary blood donors at ten regional blood centers of HEMOPA Foundation in Pará state and to compare the residual risk of transfusion-transmitted HBV infection before and after the Brazilian HBV-NAT implementation. The prevalence (restricted to FT donors) and incidence (restricted to RP donors) of HBV were calculated based on rates of confirmed positive samples. Residual risk was based on the incidence and WP model described by Schreiber and coauthors. Logistic and Poisson regression were used in the statistical analysis by SPSS v20.0. A p value <0.05 was considered statistically significant. HBV prevalence in the periods before and after the implementation of HBV-NAT were 247 and 251 per 100,000 donations, respectively. Seroconversion rates were 114 and 122 per 100,000 donations in the two periods, respectively. The residual risk (RR) for HBV decreased significantly in the period after the implementation of HBV-NAT, with a reduction of 1: 144.92 to 1: 294.11 donations ($p < 0.001$), significantly increasing transfusion safety at HEMOP Foundation, in the Northern Region of Brazil.

Key words: NAT, HBV, blood donors , transfusion safety, window period, prevalence , incidence, residual risk.

1. INTRODUÇÃO

1.1. HISTÓRICO DO VÍRUS DA HEPATITE B

A história das hepatites virais remonta a milhares de anos. Registros históricos de civilizações antigas já descreviam a ocorrência de doenças, que atualmente são denominadas hepatites. Exemplo disso são os primeiros relatos de surtos de icterícia epidêmica que ocorreram na China e na Babilônia (Reuben, 2002).

A existência da transmissão, por via parenteral de uma icterícia, foi documentada cientificamente em 1883, registrado como o primeiro surto de hepatite B. A doença foi detectada em 191 trabalhadores do porto de Bremen (Alemanha), dois a oito meses após a administração de uma vacina contra a varíola (via parenteral) preparada com linfa humana (Schmid, 2001). Provavelmente, pelo período de incubação, o agente transmissor seria o ainda não descoberto HBV (Reuben, 2002; Fonseca, 2010).

Blumberg et al., 1963, demonstraram que alguns pacientes hemofílicos, politransfundidos, possuíam anticorpos que reagiam com partículas antigênicas provenientes de um aborígine australiano. Este antígeno foi denominado antígeno Austrália (AgAu), de fundamental importância para a caracterização da etiologia da hepatite B (Blumberg et al., 1965).

Em 1967, foi sugerido pela primeira vez que a alta frequência do AgAu no soro de pacientes com hepatite aguda poderia estar relacionada com um suposto vírus introduzido entre humanos por transfusões de sangue (Blumberg et al., 1967; Reuben, 2002).

No Japão, foi relacionada a presença desse antígeno em doadores de sangue, com o desenvolvimento de hepatite pós-transfusional nos receptores de sangue também positivos para o referido antígeno (Okochi & Murakami, 1968). Finalmente, em 1969, Blumberg et al., associaram o antígeno Austrália às hepatites agudas e crônicas, sendo proposta a sua detecção na triagem dos doadores de sangue.

Em 1970, Dane et al., demonstraram por microscopia eletrônica em soropositivos para o AgAu, uma partícula viral esférica, identificada como partícula de Dane, medindo cerca de 42 nm a qual foi relacionada ao pacote viral completo do vírus da hepatite B (HBV) (Dane et. al., 1970). Entretanto, a descoberta do HBV é creditada a Blumberg, pela identificação do AgAu, o que fez com que recebesse o prêmio Nobel de Medicina em 1976

(Fonseca, 2006).

Em 1971, Almeida et al., caracterizaram o antígeno Austrália como constituinte da superfície do vírus originando sua denominação recente – antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg).

Kaplan, em 1973 detectou um ácido desoxirribonucléico (DNA) endógeno dependente de uma DNA polimerase encontrado no interior das partículas, confirmando dessa forma a sua natureza viral. Com base nesses achados, Robinson pôde definir o genoma do vírus da hepatite B em 1974 (Mendes & Pittella, 1994).

A caracterização do HBV corresponde a um dos acontecimentos mais importantes da medicina no último século. Entretanto, ainda há muito que se progredir, já que o número de portadores crônicos do HBV continua muito elevado, embora a vacina para este agente exista há mais de vinte anos (Magnius et al., 1972; Fonseca, 2010).

1.2. O VÍRUS DA HEPATITE B (HBV)

1.2.1. Classificação e estrutura do HBV

O HBV é um vírus hepatotrópico pertencente à família *Hepadnaviridae*, gênero *Orthohepadnavirus* e espécie *Hepatitis B virus* (ICTV, 2014). Apresenta características comuns a outros hepadnavírus, como o tropismo por células hepáticas, presença de partículas virais envelopadas, nucleocapsídeo icosaédrico, genoma formado por DNA de fita circular parcialmente duplicada, produção de partículas subvirais, geração de infecção e um mecanismo exclusivo de replicação por transcrição reversa dentre os vírus de DNA que infectam animais (Kidd-Ljunggren, 2002).

A partícula completa do HBV é esférica, com diâmetro de aproximadamente 42 nm, composta de um envelope externo lipoprotéico, que contém o principal determinante antigênico, o antígeno de superfície, o HBsAg; e internamente por um *core* ou nucleocapsídeo icosaédrico, medindo de 25 a 27 nm, constituído pelo antígeno do *core* do vírus da hepatite B (HBcAg); o genoma viral e a DNA-polimerase (Figura 1) (Tiollais & Pourcel, 1995; Kao & Chen, 2002; Liang, 2009).

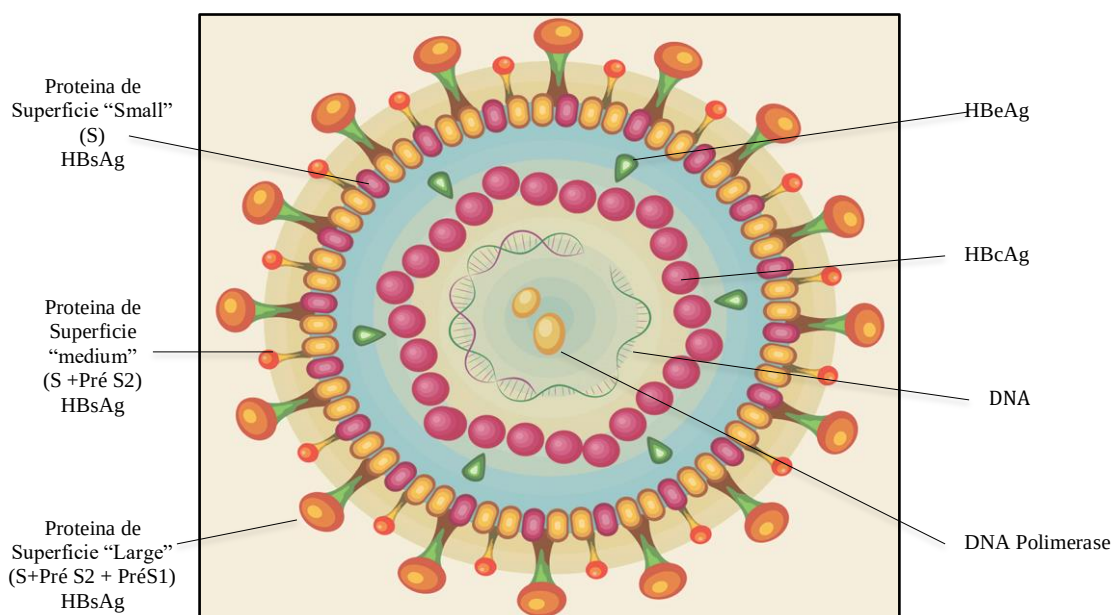


Figura 1 – Esquema da partícula de Dane. Fonte: <https://br.depositphotos.com/cart.html> (Adaptado)

O HBeAg, outro antígeno associado ao core viral, apesar de não compor a estrutura da partícula viral, pode ser encontrado apenas em forma solúvel no soro de indivíduos infectados e sua detecção é indicativa de altos níveis de replicação viral (Glebe & Bremer 2013).

1.2.2. Organização do Genoma do HBV

O genoma do HBV é um dos menores dentre os vírus que infectam o homem. Consiste de uma molécula de DNA circular, de fita dupla incompleta, de aproximadamente 3,2 kilobases (Kb) de comprimento (Karayiannis, 2003; Ganem & Prince 2004; Hatzakis et al., 2006).

O genoma do HBV é constituído por quatro genes: C, composto pelas regiões "core" que codifica o antígeno HBcAg e "pré-core", que codifica o antígeno HBeAg; O gene S (Antígeno de Superfície), constituído pelas regiões pré-S1, pré-S2 e S, codifica três formas do antígeno de superfície (HBsAg) que variam em tamanho, denominados "Large", "Middle" e "Small", respectivamente; P (Polimerase) e X (que codifica a proteína HBx (HBxP), possivelmente associada à regulação da replicação e do estabelecimento da infecção por HBV (Figura 2) (Vyas & Yen, 1999; Kew, 2011, Balmasova et al., 2014).

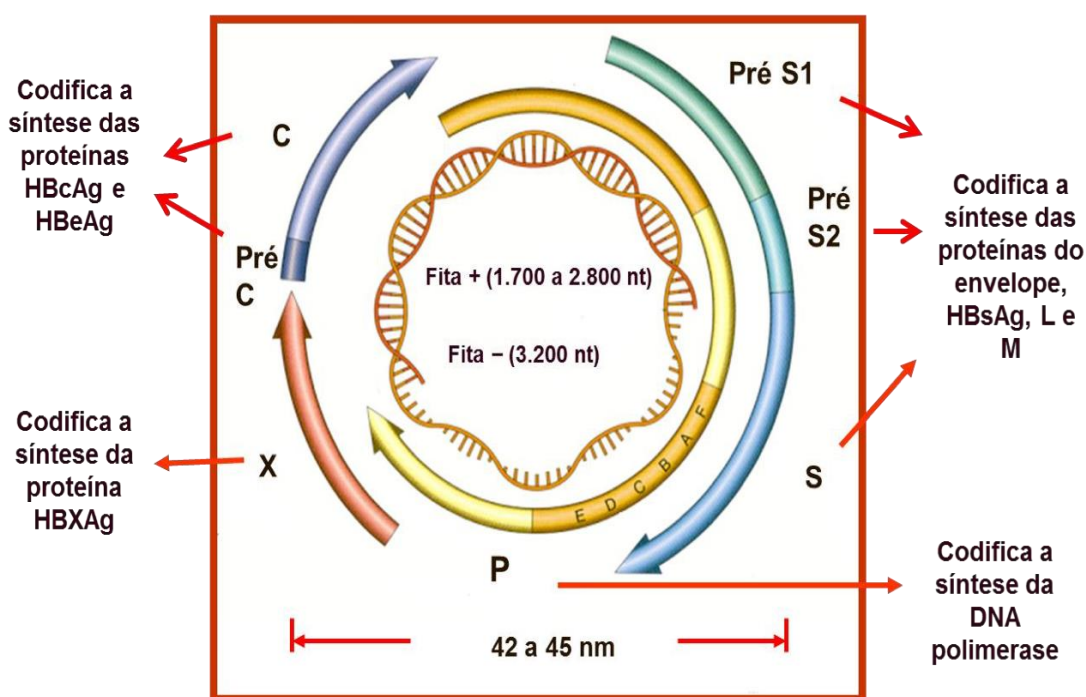


Figura 2: representação esquemática do genoma do HBV. Fonte: Hunt et al., 2000 (adaptado).

1.2.3. Transmissão do HBV

O HBV apresenta um alto potencial infectante, uma única partícula viral é capaz de infectar o ser humano. O risco de transmissão da hepatite B é 100 vezes maior do que o risco de infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) além de ser dez vezes mais infectante que o vírus da hepatite C (HCV) após um acidente perfurocutâneo por agulha contaminada (Mandell et al., 2010). Apresenta estabilidade e resistência ao meio ambiente, sobrevivendo até uma semana fora do corpo humano, facilitando a transmissão por meio do contato e de fomites (McMahon, 2005; Lok et al., 2007).

A transmissão do HBV pode ocorrer por via vertical (da mãe para o filho, no nascimento), por via sexual, por meio de ferimentos cutâneos, por compartilhamento de seringas e agulhas entre usuários de drogas, por transfusão de sangue ou hemoderivados e em acidentes com material biológico contaminado. Qualquer exposição da mucosa ou parenteral a sangue contaminado representa um risco potencial para aquisição de hepatite B, logo há risco de transmissão do HBV em tatuagens, piercings, uso compartilhado de utensílios cortantes contaminados utilizados por portadores do HBV (como barbeadores, navalhas, lâminas de depilação, tesouras, alicates de unha entre outros) (Shapiro, 1993;

Hou et al., 2005; Ferreira, 2007; Mandell et al., 2010; Kwon & Lee, 2011; Melo & Isolani, 2011; Locarnini et al., 2015). No Brasil, a transmissão do vírus ocorre sobretudo pela via sexual, a qual é uma das principais causas de infecção pelo vírus da hepatite B (Figura 3) (Brasil, 2008; Pereira et al., 2009; Brasil, 2017).

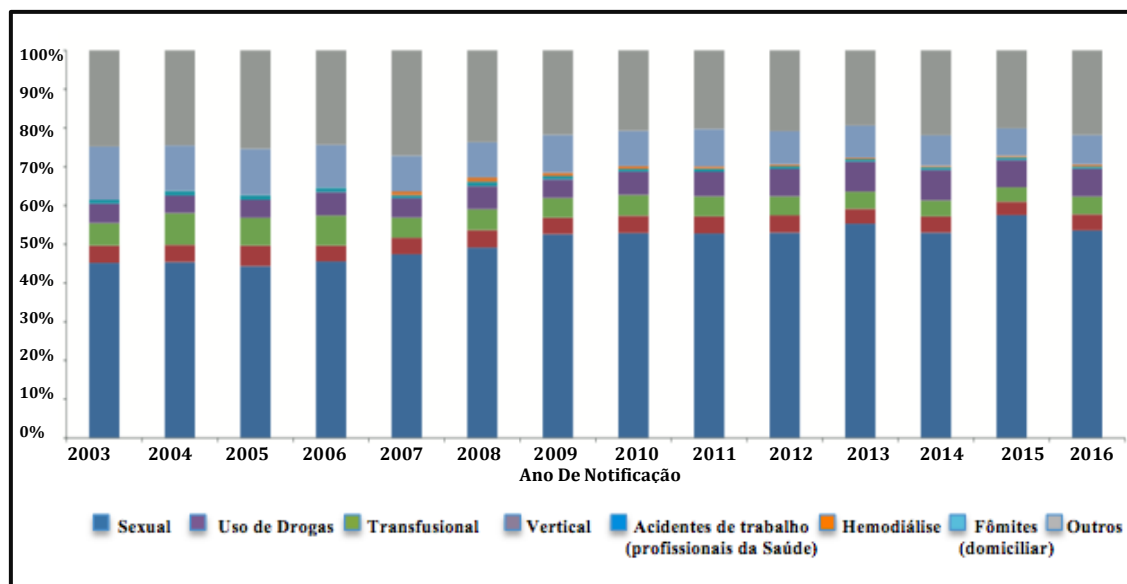


Figura 3: Proporção de Casos de hepatite B segundo provável fonte ou mecanismo de infecção e ano de notificação. Brasil, 2003 a 2016. Fonte : Sinan/SVS/MS.

1.2.4. Aspectos Clínicos da Hepatite B

O HBV pode causar uma ampla gama de manifestações clínicas, desde o estado de portador assintomático até outras formas de doença, como hepatite aguda, fulminante ou crônica, cirrose hepática e carcinoma hepatocelular (Nebbia et al., 2012).

O período de incubação da hepatite B varia de 45 a 180 dias (tempo médio 60 dias), sendo que 60% a 80% dos casos de doença aguda são assintomáticos ou apresentam quadro subclínico, sendo os lactentes e crianças, em sua maioria, assintomáticos. Nos indivíduos que desenvolvem doença clínica, os sintomas mais frequentes são fadiga, náuseas, dor abdominal e, em alguns casos, icterícia (Lopes & Schinoni, 2011; Trépo et al., 2014).

O prognóstico da infecção depende de fatores imunológicos, das características do vírus e também da idade em que ocorre a infecção (Tran, 2011). Aproximadamente 1% dos adultos com infecção aguda progride para hepatite fulminante, sendo esta uma forma grave

da doença aguda; caracterizada por evolução rápida para insuficiência hepática com desenvolvimento de icterícia, febre, dor abdominal, desorientação, confusão mental, encefalopatia e coma, cuja taxa de mortalidade é cerca de 80% quando não há a possibilidade de transplante de fígado (Dény & Zoulim, 2010). Cerca de 90% dos neonatos e 10% dos adultos infectados não conseguem eliminar o vírus com seis meses de evolução, tornando-se os chamados portadores crônicos (Elgouhari et al., 2008; Jindal et al., 2013).

Entre portadores crônicos, metade não apresenta doença hepática, sendo portadores assintomáticos, porém outros mostram sinais de atividade inflamatória no fígado, variando a intensidade, podendo desenvolver cirrose hepática ou hepatocarcinoma nas fases tardias, sendo estas, com altas taxas de morbidade e mortalidade (Ferreira et al., 2007).

1.3. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA HEPATITE B

1.3.1. Marcadores sorológicos da infecção pelo vírus da Hepatite B

O diagnóstico definitivo para a infecção do HBV depende dos testes sorológicos, pois os sintomas clínicos da infecção são de difícil distinção das outras formas de hepatites virais (Rotman et al., 2009). Por meio de testes sorológicos como por exemplo o ensaio imunoenzimático (ELISA) e/ou quimioluminescência (CMIA) são detectados no soro os antígenos do HBV (HBsAg e HBeAg) e anticorpos (anti-HBs, anti-HBe e anti-HBc). Esses marcadores sorológicos são normalmente utilizados para distinguir o quadro de infecção aguda, crônica ou resolvida (Figuras 4 e 5 e Tabela 1) (Villar et al., 2015).

1.3.2. HBsAg- Antígeno de Superfície do HBV

É o primeiro marcador a surgir após a infecção pelo HBV. O HBsAg, aparece no soro entre a 1ª e 10ª semanas após a exposição ao HBV, e aproximadamente 2 a 6 semanas antes do início dos sintomas de hepatite ou elevação das aminotransferases (Arraes, 2003; Brasil, 2005).

O HBsAg torna-se geralmente indetectável, depois de seis meses do seu surgimento e, passado o período de janela imunológica, surge tardiamente o seu anticorpo correspondente, o anti-HBs, o qual indica imunidade contra HBV. Havendo a persistência do HBsAg por mais de seis meses é indicativo de evolução para doença hepática crônica (Shiffman, 2010; Pondè, 2013). Geralmente, indivíduos portadores de hepatite B crônica

apresentam positividade para marcadores HBsAg, anti-HBc e anti-HBe (Villar et al., 2015).

1.3.3. HBcAg- Antígeno “core” do HBV

O HBcAg, antígeno do *core* central, é um antígeno intra-celular que está presente no nucleocapsídeo ou, as vezes, no citoplasma dos hepatócitos, e por isso não é encontrado livre na circulação, apesar deste ativar a produção de anticorpos específicos - o anti-HBc (Coelho, 2001).

1.3.4. HBeAg- Antígeno “e” do HBV

O HBeAg aparece logo após o surgimento do HBsAg, na fase aguda da doença, sendo indicativo de replicação viral, portanto, de alta infectividade. No entanto, ainda que o antígeno esteja indetectável na circulação, isto não caracteriza a ausência de replicação viral, podendo este fato ser justificado pela presença de mutações na região pré-core ou do core promoter, já que nessas situações o HBeAg não é secretado em alguns pacientes. Pode persistir por cerca de 10 semanas na hepatite B aguda. Sua presença geralmente está associada com a positividade do DNA viral no soro. Em pacientes crônicos esse marcador é associado a um mau prognóstico, refletindo a persistência de replicação viral, com uma maior taxa de transmissão e com probabilidade aumentada em evoluir para cirrose hepática. A soro-conversão para anti-HBe é associada a um bom prognóstico, com diminuição de replicação viral e o início da resposta imune protetora (Sintra, 2003; Vaz et al., 2007).

1.3.5. Anti-HBs- Anticorpo contra o antígeno de Superfície do HBV

O aparecimento do anti-HBs marca a recuperação da hepatite B. Em muitos pacientes o anti-HBs persiste toda a vida conferindo assim imunidade em longo prazo e quando surge concomitante ao desaparecimento do HBsAg, significa bom prognóstico (Arraes, 2003; Brasil, 2005).

O desenvolvimento do anti-HBs pode ser ocasionalmente retardado após o desaparecimento do HBsAg, originando um período de janela imunológica que pode demorar semanas ou meses. A coexistência de HBsAg e anti-HBs é evento raro, podendo ser encontrado em portadores crônicos, com anticorpos específicos contra o antígeno S, incapazes de neutralizar o vírus circulante (Coelho, 2001). Em indivíduos vacinados contra

hepatite B, esse marcador é encontrado isoladamente (Shiffman, 2010; Pondè, 2013).

1.3.6. Anti-HBc- Anticorpo contra o antígeno “core” do HBV

O Anti-HBc total é formado pelo Anti-HBc IgM e Anti-HBc IgG. São anticorpos contra o antígeno do núcleo do HBV (AgHBc) (Arraes et al., 2003; Brasil, 2005).

Na infecção aguda pelo HBV, o anti-HBc é o primeiro anticorpo a surgir. A detecção da fração IgM do anti-HBc, junto com o HBsAg e HBeAg, na maioria das vezes, indica infecção aguda. Havendo a evolução da infecção para cura, os níveis de anticorpos anti-HBc IgM tornam-se praticamente indetectáveis. Contudo, o marcador anti-HBc pode permanecer detectável por toda a vida do indivíduo à custa da fração IgG. O anti-HBc não confere imunidade vacinal contra o HBV (Kao, 2008; Aspinall et al., 2011; Pondè, 2013; Villar et al., 2015).

A interpretação do anti-HBc positivo depende da presença concomitante de outros marcadores. Quando associado à positividade do HBsAg indica infecção viral. Quando associado à positividade do anti-HBs configura o perfil de imunidade contra hepatite B devido à infecção passada. Em alguns casos há indivíduos que apresentam anti-HBc como único marcador de infecção, chamados de indivíduos com anti-HBc total isolado. Este padrão sorológico é o segundo mais frequente em infecção pelo HBV, ocorrendo em cerca de 30% dos pacientes infectados pelo HBV (Weber et al., 2001; Piroth et al., 2002; Shire et al., 2004).

1.3.7. Anti-HBe- Anticorpo contra o antígeno “e” do HBV

O anti-HBe é detectado de 1 a 4 semanas após o desaparecimento do HBeAg (Guia de vigilância epidemiológica, 2009). Sua detecção é indicativa de redução da replicação viral, logo o primeiro sinal de resolução da doença (Miguel, 2005).

1.3.8. Técnicas de Amplificação de Ácido Nucléico (NAT)

As técnicas moleculares para detecção do DNA do HBV, são de suma importância na avaliação do nível de replicação, progressão da doença, necessidade de terapia antiviral, bem como o monitoramento do tratamento (Tabela 1). Assim, testes qualitativos e quantitativos, como a reação em cadeia pela polimerase (PCR), PCR em tempo real, têm sido cada vez mais empregados no diagnóstico da infecção pelo HBV por apresentarem

alta sensibilidade e especificidade (Chevaliez et al., 2009; Liang, 2009; Dén et al., 2010; Datta et al., 2014).

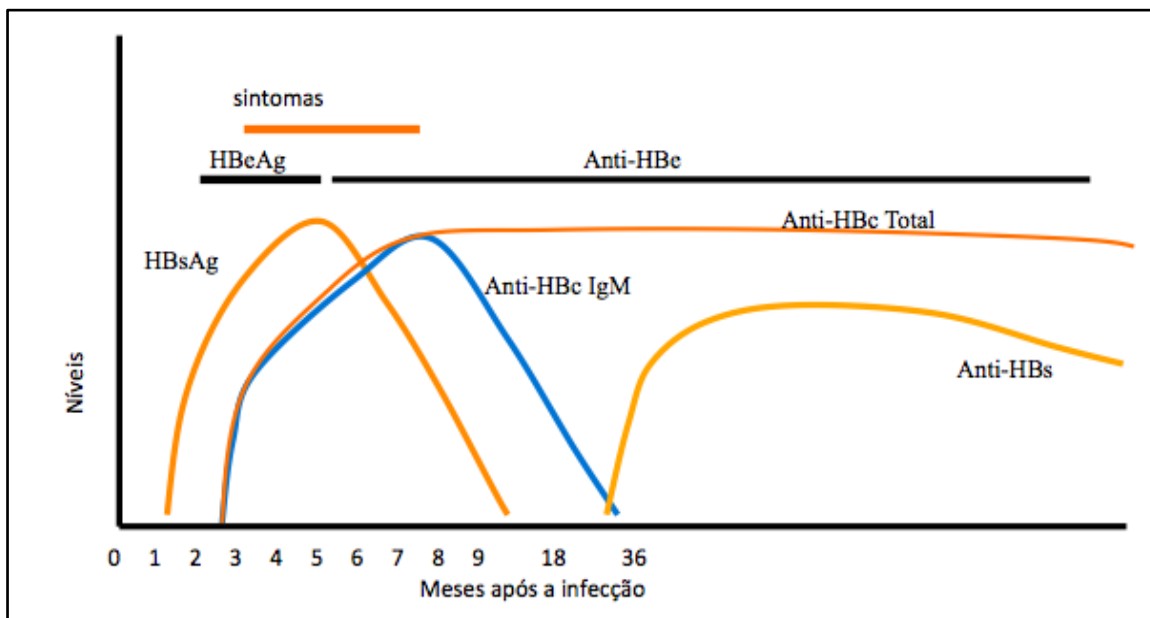


Figura 4: Representação esquemática dos eventos clínicos e sorológicos na Hepatite B aguda. Fonte: www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/figures/r708a1f1.gif. (Adaptado).

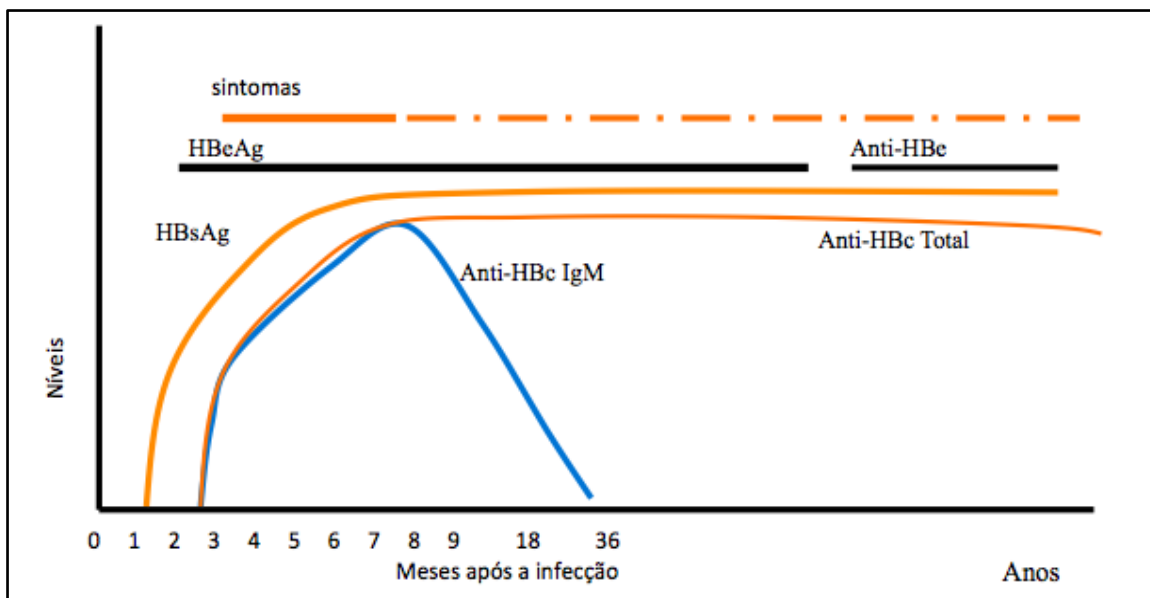


Figura 5: Representação esquemática dos eventos clínicos e sorológicos na Hepatite B crônica. Fonte: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/figures/r708a1f2.gif> (Adaptado).

HBsAg	Anti-HBs	Anti-HBC Total	Anti-HBC IgM	HBeAg	Anti HBe	HBV DNA	Interpretação
POS	NEG	POS	POS	POS	NEG	POS	Primeira Fase da infecção aguda
NEG	POS	POS	NEG	NEG	POS/NEG	NEG	Recuperação com imunidade
NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	Imunizado por vacinação
POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS	Infecção crônica com replicação ativa
POS	NEG	POS	NEG	NEG	POS	NEG	Infecção crônica na fase inativa
NEG	NEG	POS	NEG	NEG	POS/NEG	NEG	Recuperação, falso resultado POS ou infecção crônica

Tabela 1 - Interpretação dos resultados Sorológicos e molecular da Hepatite B Fonte: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/figures/r708a1t1.gif> (adaptado).

1.4. EPIDEMIOLOGIA DO HBV

1.4.1. HBV no mundo

A hepatite B apresenta uma distribuição mundial bastante heterogênea e continua a ser um importante problema de saúde pública a nível mundial, sendo responsável por 470.000 mortes por ano. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que aproximadamente dois bilhões de indivíduos tiveram contato com o HBV. A prevalência global da infecção pelo HBV em 2016, na população geral foi de 3,5%. No geral, 257 milhões de pessoas viviam com infecção por HBV em 2016. A prevalência foi mais alta nas regiões africanas (6,1%) e no Pacífico Ocidental (6,2%) (WHO, 2017).

Dados da OMS mostraram que embora tenha havido uma evolução na situação global da hepatite, ainda há muito a ser feito para alcançar a erradicação até 2030. Não obstante, na Região do Mediterrâneo Oriental, na Região Sudeste da Ásia e na Região Europeia, cerca de 3,3%, 2,0% e 1,6% da população geral estão infectadas, respectivamente. Na Região das Américas 0,7% da população está infectada, segundo dados recentes (WHO, 2017).

1.4.2. HBV no Brasil

A OMS classifica o Brasil como área endêmica. A epidemiologia da hepatite B não é homogênea no cenário nacional (Lopes et al., 2011); as áreas em que há dificuldade de

acesso aos serviços de saúde são desproporcionalmente afetadas (Paraná et al., 2008; de Katsuragawa et al., 2010; Oliveira et al., 2011; Souto, 2016).

De acordo com o Boletim Epidemiológico das Hepatites Virais (Brasil, 2017), as taxas de detecção de hepatite B, no Brasil, desde 2011, vêm apresentando poucas variações, atingindo 6,9 casos para cada 100 mil habitantes no país em 2016 (Brasil, 2017). Segundo o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan/SVS/MS), em 2016 foram notificados no Brasil 14.199 casos de hepatite B, com uma taxa de detecção de 6,9/100.000 habitantes. Na Região Sul 4.823 casos foram notificados com taxa de detecção 16,6/100.000 habitantes, na Região Sudeste 4.719 casos com taxa de detecção 5,5/100.000, na Região Nordeste 1.401 casos e taxa de detecção de 2,5/100.000, na Região Centro Oeste 1.379 casos com 8,8/100.000 de taxa de detecção. Na Região Norte, 1.873 casos foram notificados e a taxa de detecção foi de 10,6/100.000 habitantes (Figura 6) (Brasil, 2017).

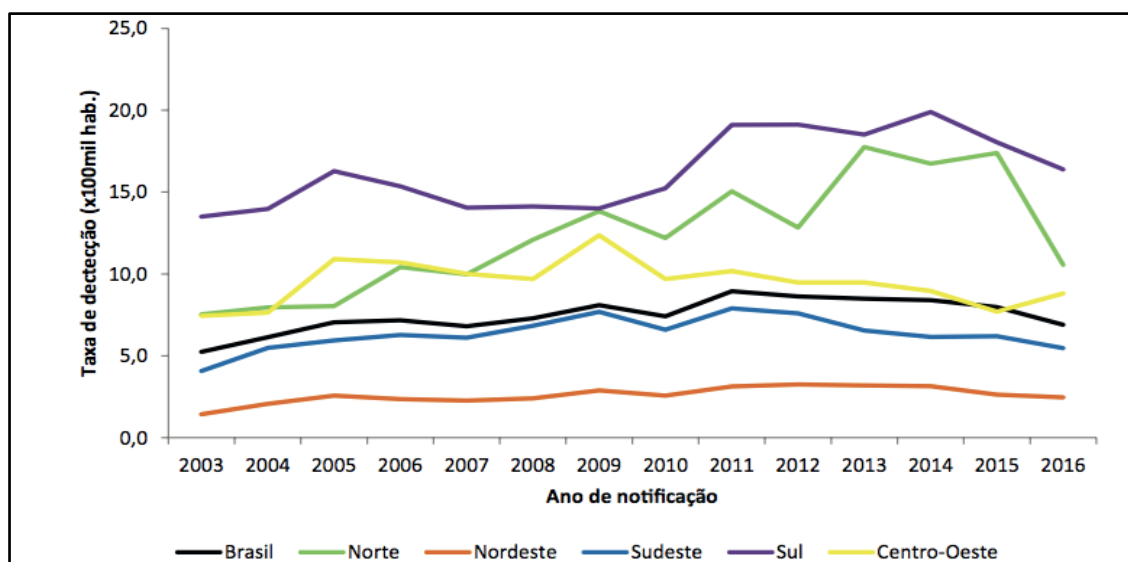


Figura 6: Taxa de detecção do HBV por 100 mil habitantes segundo região, por ano de diagnóstico. Brasil, 2003 a 2016 (Fonte: Brasil, 2017).

No ranking da taxa de detecção de hepatite B segundo as capitais, de acordo com dados do Sinan/SVS/MS, observou-se que, três das cinco capitais com maiores taxas pertencem à Região Norte (Porto Velho-RO, Rio Branco-AC e Boa Vista-RR). No Pará, em 2016, a ocorrência observada foi de 258 casos, com taxa de detecção de 3,1/100.000 habitantes e sua capital Belém, com 30 casos (2,1/100.000) (Figura 7) (Brasil, 2017).

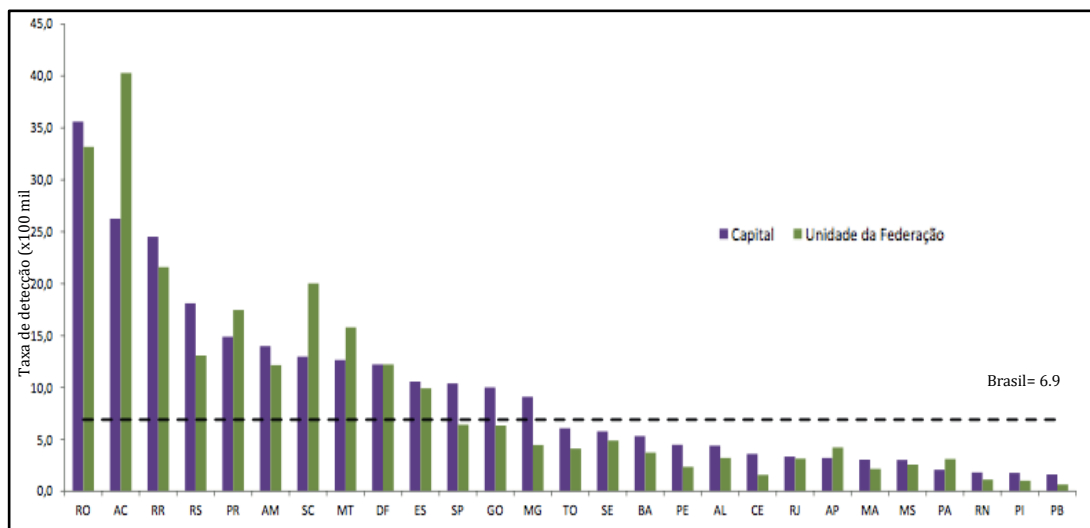


Figura 7: Taxa de incidência de casos de hepatite B segundo UF e capital de residência. Fonte: Brasil, 2016

2. HEMOTERAPIA

2.1. HISTÓRICO

O fascínio pelo sangue sempre esteve presente na história da humanidade. Os antigos egípcios banhavam-se e bebiam o sangue de pessoas ou de animais, com objetivos diversos, acreditando, sobretudo, que assim poderiam curar certas doenças ou fortalecer o seu organismo. O sangue sempre esteve associado ao conceito de vida, fluído vital, baseado na idéia tradicional de sangue como sendo a "força viva" do corpo, provavelmente por estar associado à fraqueza e à morte com a perda do mesmo (Rossi et al., 1991; Pereima et al, 2010).

A evolução da transfusão sanguínea no mundo teve dois períodos: um empírico, que vai até 1900, e outro científico, de 1900 em diante (Junqueira et al., 2005). O primeiro relato que se tem conhecimento em relação à doação de sangue data de 1492, quando um médico na tentativa de salvar a vida do Papa Inocêncio VIII, no seu leito de morte, retirou todo o sangue de três crianças com 10 anos de idade e o transfundiu no Papa, mais tarde, evidências mais plausíveis dizem que o sangue foi ingerido pela boca e não transfundido, de qualquer forma o procedimento falhou, e o Papa e as três crianças faleceram (Lindeboom, 1954; Brown, 1971; Rossi, 1991; Harmening-Pittiglio et al., 1992; Santos, 2002).

Ainda no primeiro período, em 1628, William Harvey descreveu a teoria da

circulação do sangue, em seu trabalho, defendia a ideia de que o sangue era bombeado pelo coração das artérias para as veias, em circuito fechado para o corpo e retornava para o coração, sua descoberta representou a pedra fundamental para a prática de transfusão (Greenwalt, 1999; Volpato et al., 2009).

Nascia o período pré-científico da hemoterapia e os primeiros experimentos com transfusão de sangue foram feitas de um animal para outro, em seguida transfusões de animais para o homem. A primeira transfusão sanguínea da história, bem sucedida, foi realizada em 1665 em um experimento quando Richard Lower ligou a artéria carótida do cão doador à veia jugular do cão receptor. Este experimento forneceu as bases para a primeira transfusão sanguínea animal-homem, realizada pelo médico francês, Jean Baptiste Denys, que em junho de 1667 fez transfusões de sangue ovelha-homem (Ellis, 2007).

Contudo, o número de insucessos era enorme e, em virtude do fracasso de muitas doações por questões de cunho religioso, e por deliberações do Parlamento Francês, em 1668 o Vaticano junto a Sociedade da Realeza Britânica proibiram a realização de transfusões de sangue (Junqueira, 1979; Florizano & Fraga, 2007). Com essa proibição, a evolução das transfusões sanguíneas ficou paralisada por 150 anos (Nunes, 2010).

No século XIX, os experimentos voltaram e em 1818, James Blundell relata a transfusão de sangue de um homem para outro. O paciente era um homem de 30 anos, extremamente magro, em razão de uma obstrução pilórica secundária a um carcinoma gástrico. Apresentou uma aparente melhora inicial, porém faleceu após dois dias. Em 1825, Blundell transfundiu com sucesso uma mulher com hemorragia pós-parto. Em suas publicações declarou que somente o sangue humano pode ser transfundido em humanos e seu relato serviu de base para as indicações racionais das transfusões (Blundell, 1828; Junqueira, 1979; Rossi, 1991; Greenwalt, 1999; Ellis, 2007).

No século XX, teve início a era científica quando a transfusão passou a ter mais êxito, após a descoberta da existência dos grupos sanguíneos do sistema ABO por Karl Landsteiner, em 1900. Os estudos caminharam para uma nova fase deixando de lado o empirismo e adentrando no período científico. Com esta descoberta, vários pesquisadores conseguiram avanços na identificação desses grupos sanguíneos e na introdução dos testes de compatibilidade, portanto, dessa maneira, foi possível diminuir as incompatibilidades observadas em transfusões (Cairutas, 2001; Almeida & Dos Anjos, 2008; Pereima et al,

2010; Gonzaga & Veran, 2012).

Em 1917 Francis Peyton et al., demonstram o uso de anticoagulantes e preservantes, o que permitiu o início do processo de armazenamento e de estocagem do sangue. Outras descobertas aconteceram nesse século, como o advento de seringas e tubos específicos. A transfusão passou a ter maior aceitação, e em 1926 surge o primeiro banco de sangue no mundo em Moscou. Na década de 30, centros de transfusões haviam sido instalados por todo o mundo. Posteriormente, em 1939 Landsteiner et al., descrevem o Sistema Rh, constituindo uma base sólida para a compatibilidade transfusional (Brasil, 2004; Fidlarczyk & Ferreira, 2008).

A evolução do processo de doação sanguínea pode ser dividida em quatro momentos. No período de 1945 a 1950 realizavam-se transfusões braço a braço, em que se transfundia sangue diretamente do doador para o receptor, e ainda se permitia a utilização de sangue total fresco (Santos et al., 1991).

No período de 1945/49 a 1965, a época do frasco, que permitia a utilização de sangue total conservado, na qual o sangue de um doador era armazenado em recipientes de vidro com a solução citrato-dextrose. Depois de 1965 a época da bolsa plástica que permite a separação ou fracionamento físico do sangue e transfusão mais seletiva (Genetet et al., 1984).

Em 1967, começaram a ser adotadas máquinas fracionadoras de sangue, que permitiam a separação dos componentes do sangue durante a própria doação (aférese). A partir dessa época, desenvolve-se a noção de transfusão seletiva, ou seja, o uso de cada componente para um fim específico, e não mais o sangue total, até então utilizado. Os anos 80 e 90 marcaram o desenvolvimento nos conhecimentos da oncologia, assim como o avanço na tecnologia de cultura de células, dentre outros (Santos et al., 2002).

A hemoterapia passa a contar com novos componentes importantes para a ampliação do arsenal terapêutico (Santos et al., 2002). Na década de 80 a descoberta da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS/SIDA) tornou a diminuição dos riscos uma necessidade premente, fortalecendo posteriormente a segurança transfusional e favorecendo importantes mudanças nas políticas de sangue, principalmente em relação ao controle e segurança das práticas transfusionais (Pimentel, 2006).

2.2. HEMOTERAPIA NO BRASIL

No Brasil, a hemoterapia começou a ser utilizada no início da década de 40, com a criação do primeiro Banco de Sangue em Porto Alegre, seguido de Pernambuco e Rio de Janeiro. Em 1950, profissionais da área se mobilizaram criando organizações com o propósito de contribuir para o desenvolvimento da hematologia e da hemoterapia brasileira. A recém-organizada Associação de Doadores Voluntários de Sangue do Rio de Janeiro (tornando-se posteriormente nacional) se contrapunha à remuneração de doadores, prática que já era utilizada pelos recém-criados serviços de hemoterapia (Santos et al., 1991; Cairutas, 2001).

Em 1964, o Ministério da Saúde através do decreto nº 54.494 de 16 de outubro de 1964, cria e organiza uma equipe a qual seria responsável por estudar a regulação disciplinadora da Hemoterapia no Brasil e institui ainda a Comissão Nacional de Hemoterapia (CNH), fundamentada por portarias e resoluções observando a necessidade e importância de criar medidas que protegessem os doadores e receptores, sendo responsável pela “[...] publicação de normas básicas para atendimento aos doadores e para prestação de serviço transfusional e a determinação da obrigatoriedade dos testes sorológicos necessários para segurança [...]” dos serviços (Junqueira et al., 2005).

No ano de 1979, um fato que marcou o setor hemoterápico brasileiro: o reconhecimento, por parte do governo, da necessidade de uma política que coordenasse as atividades hemoterápicas. O surgimento da AIDS, na década de 1980, e o crescente número de casos de contaminação pelo HIV devido a transfusões repercutiram na sociedade afetando consideravelmente a situação da hemoterapia brasileira, e levou as principais mudanças no sistema hemoterápico brasileiro (Brasil, 1980; Santos et al., 1991; Carneiro & Lopes, 2002; Barreto et al., 2005).

O governo brasileiro através da Portaria Interministerial nº 7/1980, criou o Programa Nacional de Sangue e Hemoderivados (Pró- Sangue). O Pró-sangue passou a constituir o instrumento básico de implementação da política governamental para o setor, através de ações de disciplinamento. Os principais objetivos do programa eram: adotar a doação voluntária de sangue, organizar a rede de instituições responsáveis pela distribuição do sangue e hemoderivados; normalizar a distribuição e a utilização do sangue e

hemoderivados; disciplinar a industrialização, a comercialização, controlar a qualidade e fiscalizar atividades que envolvam hemoderivados e promover a pesquisa e o desenvolvimento tecnológico no setor (Santos et al., 1991; Barreto et al., 2005).

Entre os anos de 1985 e 1987, as questões de sangue e hemoderivados no Brasil eram críticas. Preocupado com isso, impulsionado pelo avanço da AIDS, o Ministério da Saúde do Brasil, estabeleceu novas normas para o funcionamento de Serviços de Hemoterapia, através da lei nº7649, de 25/01/1988, adotando os princípios da moderna Hemoterapia como a substituição da doação sem cadastro do doador, pela personalizada, exigindo o cadastramento do doador, uso racional do sangue, através da avaliação de riscos/custos/benefícios além da obrigatoriedade de testes sorológicos (hepatite B, Sífilis, Doença de Chagas, AIDS e malária para zonas endêmicas) garantindo a qualidade e segurança da população (Brasil, 1998; Saraiva, 2005; Junqueira et al., 2005; Pereima et al., 2010). Somente em 1993, os testes para hepatite C e para o vírus linfotrópico T Humano I e II (HTLV I/II) tornaram-se obrigatórios, através da portaria nº 1.376 de 19/11/93 (Brasil, 1993).

Atualmente, no Brasil, os serviços de hemoterapia são regidos pelas normas técnicas contidas na Portaria nº158, de 4 de fevereiro de 2016 e pela resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 75, de 02 de maio de 2016 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). A primeira redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos e tem o objetivo de regulamentar a atividade hemoterápica no país, no que se refere à captação, proteção ao doador e ao receptor, coleta, processamento, estocagem, distribuição e transfusão do sangue, de seus componentes e derivados, originados do sangue humano venoso e arterial, para diagnóstico, prevenção e tratamento de doenças; e a segunda determina os requisitos de boas práticas a serem cumpridas pelos serviços de hemoterapia que desenvolvam atividades relacionadas ao ciclo produtivo do sangue e componentes, pelos serviços de saúde que realizem procedimentos transfusionais, a fim de que seja garantida a qualidade dos processos e produtos, a redução dos riscos sanitários e a segurança transfusional (Brasil, 2013 d; 2014; 2016).

2.3. O CICLO DO SANGUE E TIPOS DE DOADORES

A legislação recomenda que a doação de sangue seja um ato voluntário, altruísta e não remunerado, direta ou indiretamente além de ser anônimo, isto é, o receptor não deve

saber quem foi o doador e o doador não deve saber quem foi, ou foram os receptores dos componentes extraídos do sangue que doou. Todas as informações contidas no cadastro do doador, devem ser mantidas sob sigilo. A obtenção e fornecimento dos hemocomponentes envolvem uma série de procedimentos que compõe o chamado “Ciclo do Sangue”, o qual compreende as etapas de captação do doador, conscientização, cadastro, triagem clínica, triagem hematológica, coleta de sangue, triagem laboratorial das amostras de sangue, distribuição e procedimentos transfusionais (Figura 8) (Brasil, 2001; Brasil, 2013).

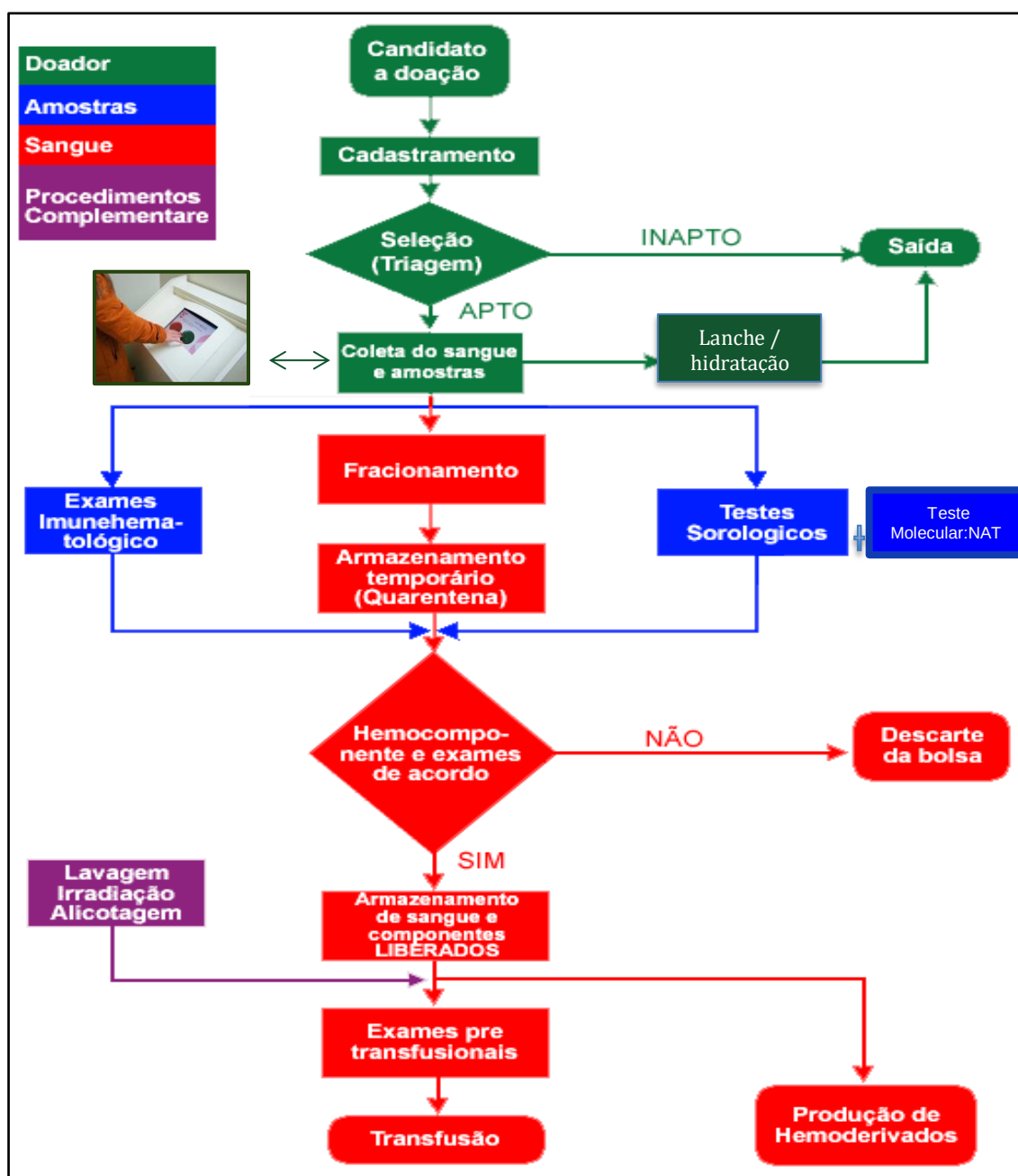


Figura 8: Fluxograma do Ciclo do Sangue. Fonte: Adaptado de Brasil (2004).

A captação de doadores é o início propriamente dito do Ciclo do Sangue, a qual envolve um conjunto de ações desenvolvidas para planejar, executar, monitorar e avaliar estratégias capazes de sensibilizar, conscientizar e educar a população para a doação voluntária, responsável e habitual com finalidade em evitar o direcionamento de candidatos à doação que possam estar sob risco de infecção de alguns agentes passíveis de transmissão pelo sangue (Amorim, 1992; Anvisa, 2003).

Para se cadastrar, o voluntário deve ter idade entre 18-69 anos 11 meses e 29 dias e o peso mínimo é de 50Kg. Poderão ser aceitos candidatos com idade de 16 e 17 anos, com o consentimento formal de seu responsável legal, o limite superior de idade para a primeira doação é de 60 anos, 11 meses e 29 dias (Brasil, 2007; Brasil, 2013; Brasil, 2016). O candidato deve comparecer ao Hemocentro portando um documento de identificação com fotografia, emitido por órgão oficial, para realizar o cadastro, que compreende o preenchimento de uma ficha com os dados necessários que permitam identificá-lo inequivocadamente (Gontijo et al., 2010; Brasil, 2013c).

O candidato cadastrado é direcionado à triagem clínica, constituída por um exame físico onde são verificados: temperatura (deve ser abaixo de 37°C), pulso (características normais, entre 50 e 100 batimentos por minuto); pressão arterial sistólica não deve ser maior do que 180mmHg e sua pressão diastólica não deve ser superior a 100mmHg. A concentração de hemoglobina (Hb) ou o hematócrito (Ht) do candidato à doação deverá ser avaliada em amostra de sangue de punção digital ou venosa, sendo os valores mínimos aceitáveis de Hb=12,5g/dl ou Ht=38%, para mulheres e Hb=13,0g/dl ou Ht=39%, para homens (Gontijo, 2010; Brasil, 2013c; Fundação Hemominas, 2013d, 2013f).

Após esta etapa há uma segunda avaliação, a entrevista clínica-epidemiológica, realizada por um profissional da saúde capacitado sempre sob a supervisão de um médico, onde serão feitas análises de suas respostas ao questionário visando avaliar sua história médica atual e prévia, seus hábitos e a existência de fatores de risco para doenças transmissíveis pelo sangue (Brasil, 2004; Gontijo, 2010).

Os serviços de hemoterapia se respaldam em critérios legais para classificações do doador. O resultado do processo de seleção do doador irá defini-lo como: apto (atende os requisitos técnicos e normativos para doação de sangue), inapto temporariamente (não atende, naquele momento, os requisitos para doação de sangue), inapto definitivo (tem um

impedimento definitivo para doação de sangue) e inapto por tempo indeterminado (encontra-se impedido de doar sangue para outra pessoa por período indefinido de tempo, obedecendo aos conhecimentos e normas vigentes). O Doador pode ser de repetição (aquele que realiza duas ou mais doações no período de 12 meses), de primeira vez (aquele que está doando pela primeira vez naquele serviço de hemoterapia) e esporádico (aquele que doou uma única vez no período de 12 meses) (Brasil, 2011; Brasil, 2015).

O candidato considerado apto nesta fase é encaminhado para a coleta. O candidato considerado inapto, temporária ou definitivamente, será dispensado do serviço. O motivo de recusa é registrado em sua ficha. Como medida adicional de segurança, é dada ao doador a oportunidade de solicitar de maneira confidencial, o descarte de sua bolsa, essa medida é chamada de voto de auto-exclusão, em que a pessoa pode excluir a sua doação da finalidade transfusional. O voto de auto-exclusão, tem como objetivo, dar mais uma oportunidade ao doador, que não referiu ou omitiu, alguma situação que comprometa a segurança transfusional (Rached et al., 1992; Brasil, 2001).

A coleta do sangue pode se realizada de duas formas, sendo a mais comum a coleta do sangue total. A outra forma, mais específica e de maior complexidade, realiza-se por meio de aférese. O sangue total deve ser coletado em uma bolsa descartável, estéril e múltipla (a tripla é a mais comumente utilizada). O volume coletado varia entre 405 e 495 ml. Durante a coleta, a bolsa deve ser constantemente movimentada a fim de permitir que o sangue coletado seja homogeneizado com o anticoagulante nela contido. Simultaneamente, são coletadas, em tubos adequados, as amostras de sangue para a realização dos exames imunohematológicos e sorológicos (Brasil, 2004, Brasil, 2016).

É de fundamental importância garantir a segurança e conforto do doador, com a finalidade de prevenir reações adversas à doação. Antes e após a coleta, deve ser oferecida ingestão de líquidos a todos os doadores e lanche leve àqueles que estiverem em jejum. Além disso, é obrigatório que exista pessoal treinado para dar atendimento ao doador, caso venha a apresentar algum efeito secundário e indesejável, assim como, um local de recuperação do doador com disponibilidade de material e medicamento para essa finalidade. O ideal é que o doador fique em observação por no mínimo 15 minutos (Brasil 2007; Brasil 2013c).

Ao final da doação, a bolsa de sangue será encaminhada para o processamento e as

amostras de sangue serão destinadas a triagem laboratorial, onde são feitos os testes imunohematológicos, exames sorológicos e moleculares obrigatórios (Brasil, 2016).

Após o fracionamento, os hemocomponentes são armazenados adequadamente, e permanecem em quarentena até a conclusão/liberação dos exames laboratoriais sem os quais nenhuma bolsa poderá ser liberada para utilização (Saraiva & Otta, 2007; Nunes, 2010; Brasil, 2013c).

O Ministério da Saúde (MS) determina que, para cada doação efetivada, sejam realizados exames imunohematológicos tais como; tipagem sangüínea ABO (direta e reversa); determinação do Fator Rh (pesquisa do antígeno D fraco, se necessário); pesquisa de anticorpos irregulares (PAI). Além desses, os testes sorológicos para os seguintes patógenos: HIV 1 e 2, HTLV I e II, *Trypanosoma cruzi* (Chagas), *Treponema palladium* (Sífilis), HBV, HCV e, em casos específicos, a realização de sorologia para Citomegalovírus (CMV) e em áreas endêmicas de malária a pesquisa do *Plasmodium*. Atualmente também são feitos testes moleculares para pesquisa de HIV, HCV e HBV. Para que hemocomponentes sejam liberados, todos os testes sorológicos e moleculares devem ter resultados negativos/não reagentes. Após liberação, os hemocomponentes são armazenados em locais específicos, sendo possível efetuar a distribuição para a rede conveniada conforme solicitação. No entanto, as bolsas que apresentam resultados sorológicos e/ou moleculares positivos/reagentes são descartadas (Carrazzzone et al., 2004; Brasil, 2004; Gontijo, 2010; Brasil, 2013c; Fundação Hemominas, 2013e; 2013c, 2013d, 2016).

2.4. SEGURANÇA TRANSFUSIONAL

No último século, a hemoterapia, no Brasil e no mundo, caracterizou-se por um considerável avanço e adoção de novas tecnologias. De igual modo, houve o aumento da preocupação em garantir uma maior segurança na transfusão. Entende-se por segurança transfusional o conjunto de medidas quantitativas e qualitativas aplicadas, que visam minimizar os riscos aos doadores e receptores de sangue, além da garantia de estoques estratégicos de sangue que sejam suficientes para atender à demanda transfusional (Regan et al., 2002; Caetano & Beck, 2006).

A transfusão sanguínea é utilizada para fins terapêuticos e salva milhares de vidas em todo mundo (WHO Expert Group, 2012). A demanda por transfusão de sangue vem aumentando e a cada segundo estima-se que alguém no mundo necessite de hemocomponentes ou derivados sanguíneos seja para suporte; em cirurgias, em situações de emergência, como acidentes, conflitos, catástrofes naturais, partos, como também, coadjuvante no tratamento de anemias severas e de doenças oncológicas variadas que necessitam de transfusão frequentemente. Outros pacientes, necessitam de transfusões periódicas desde o nascimento, como os hemofílicos e portadores de anemias hereditárias, entre elas a Falciforme e a Talassemia (Moura et al., 2006; WHO, 2008).

Os serviços de hemoterapia visam o atendimento dessas necessidades, o objetivo é garantir um suprimento de sangue adequado, seguro e efetivo para a população. O ideal, é que 3 a 5 % da população de cada país sejam doadores voluntários de sangue, para que a demanda seja atendida. No entanto, no Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde, menos de 1,8% da população é doadora voluntária de sangue (Moura et al., 2006 ; Ferreira et al., 2007; Brener et al., 2008; OMS, 2017).

Todo processo transfusional traz riscos, como reações imediatas ou tardias (Neto, 2011). É necessário buscar parâmetros eficazes que minimizem os riscos em todo o processo transfusional sendo, portanto, imprescindível o cumprimento do ciclo do sangue com eficiência (Lopes et al., 2000; Pereira & Nascimento, 2004; Carrazzone et al., 2004; Araújo & Barone, 2008; Almeida et al., 2012; Silva, 2014).

Apesar de todo o avanço na segurança transfusional, não existe transfusão isenta de riscos. Uma das maiores preocupações concernentes à segurança transfusional é a

possibilidade de transmissão de doenças por transfusão sanguínea (Carrazzone et al., 2004; Eustáquio et al., 2009). O método tradicional, conhecido como imunoensaio (ou sorologia) é a base da triagem laboratorial de doadores de sangue. No entanto, nos testes de imunoensaios, existe um intervalo entre a exposição do doador ao vírus e a produção/detecção dos anticorpos contra o vírus, conhecido como o "período de janela" (WP), e ocorre quando o doador se encontra na fase inicial da infecção antes da detecção do antígeno/anticorpo, no caso da Hepatite B, antes dos marcadores HBsAg e anti-HBc total no sangue. É durante este período que amostras contaminadas podem passar despercebidas por testes sorológicos, e essa não detecção de infecções no WP é a principal causa de infecções transmitidas por transfusões (ITTs) (Stramer, 2004; Bhatia, 2005; Kuhns & Busch, 2006; Sommense, 2014; Chigurupati & Murthy, 2015).

Na medicina transfusional um agente infeccioso é considerado um risco quando apresenta uma fase assintomática, curta ou prolongada, em seu ciclo de vida na corrente sanguínea de um indivíduo, além da capacidade de sobreviver ou persistir nas condições de armazenamento e de produção dos hemocomponentes e hemoderivados sanguíneos e de causar a infecção quando inoculado por via intravenosa (Candotti & Allain, 2013).

Dentro deste contexto, o HBV é uma das infecções com maior risco de transmissão por transfusão sanguínea. O primeiro relato de transmissão de doença infecciosa (hepatite B) pelo sangue foi descrito em 1943, porém a testagem das amostras de doadores de sangue para o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) teve início apenas em 1969 nos Estados Unidos levando a uma significativa redução na incidência da hepatite pós-transfusional (Fattovich, 2003; Salles et al., 2003; Dwyre et al., 2011).

Embora o risco de ser infectado pelo HBV pós-transfusão tenha apresentado queda significativa, este risco ainda persiste (Allain, 2004). A implementação de tecnologias que detectem a presença dos agentes virais durante o estágio inicial da infecção, antes do surgimento dos anticorpos (soroconversão) é uma das estratégias dos serviços de hemoterapia que garantem um aumento na segurança transfusional. Uma das tecnologias disponíveis é a pesquisa dos ácidos nucleicos dos agentes infecciosos que utilizam técnicas de biologia molecular, introduzidas no final da década de 1990 (Vermeulen et al., 2011).

2.5. IMPLANTAÇÃO DO TESTE NAT

O NAT é um método altamente sensível, o qual detecta diretamente o material genético viral (DNA ou RNA), antes do aparecimento do anticorpo/antígeno no soro, ou seja, no período de janela (WP) (Figura 9). Este período, torna os doadores de sangue, suscetíveis de serem potencialmente infecciosos, devido a elevada carga viral, para os receptores de transfusão (Cardoso et al., 1998; Stramer et al., 2004; Brojer et al., 2006; Satake et al., 2007; Tabuchi et al., 2008; Reesink et al., 2008; Vermeulen et al., 2009; Stolz et al., 2010; Zou et al., 2010).

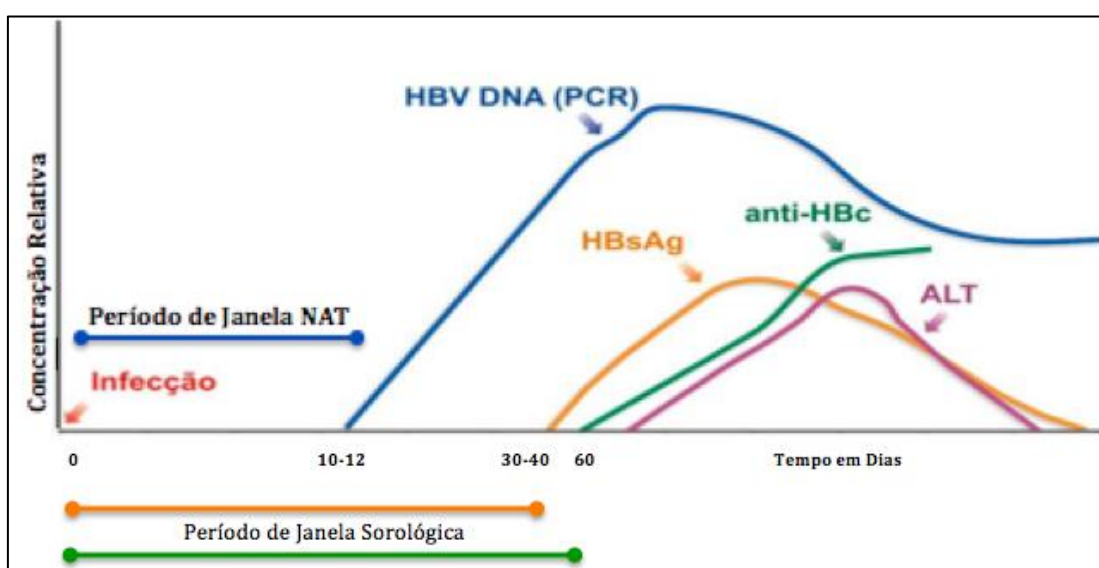


Figura 9: Cursos de tempo aproximados para detecção dos marcadores virais do HBV ; HBsAg, anti-HBc e DNA- NAT. Fonte: Vermeulen, 2011 (Adaptado).

No início dos anos 90, o NAT foi implementado em diferentes partes do mundo a partir da Europa. O NAT expandiu-se rapidamente e os centros de sangue começaram a testar unidades de sangue utilizando ensaios moleculares. A Alemanha foi o primeiro país a introduzir a triagem de NAT em 1997 de forma rotineira, com resultados negativos de NAT necessários antes da liberação dos componentes do sangue. Vários outros países seguiram a Alemanha e introduziram a triagem de NAT principalmente para o HCV e depois para os genomas do HIV-1 (Biswas et al., 2003; Roth et al., 2012).

O Japão e a Áustria foram os primeiros países que implementaram testes obrigatórios de NAT para o HBV em 1999. Depois de 2004, sua implementação para

triagem de rotina de doação de sangue foi estendida em todo o mundo, quando ensaios comerciais de multiplexação NAT de alto rendimento, que incluíram a detecção de DNA do HBV em adição aos RNAs de HIV e HCV, foram desenvolvidos e licenciados (Roth et al., 2012).

A ampliação do teste NAT para o HBV em escala mundial ressalta a importância de que novos microrganismos sejam aderidos a essa nova técnica, agregando mais qualidade à segurança transfusional (Yang et al., 2013).

No Brasil, a introdução do NAT foi marcada por impedimentos financeiro e tecnológico, sendo regulamentado em 2004, com atraso em relação a outros países (Gaudy, 2004). Esse elevado custo mobilizou o desenvolvimento de um conjunto diagnóstico (kit) nacional, viável para a realidade brasileira, através de um consórcio entre a Bio-Manguinhos/FIOCRUZ e o Ministério da Saúde (Brasil, 2013).

O início do desenvolvimento da plataforma NAT brasileira ocorreu em 2004, devido às ações conjuntas do Departamento de Reativos de Bio-Manguinhos®/FIOCRUZ, juntamente com o Departamento de Virologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), e o Instituto de Biotecnologia do Paraná (IBMP) (CGSH, 2009).

Após o desenvolvimento técnico-científico do kit NAT, por Bio-Manguinhos/e parceiros, foi realizado no ano de 2008 o *Estudo Piloto* no hemocentro de Santa Catarina (Hemosc). O *Estudo Piloto* possibilitou a implantação de melhorias na utilização do kit e plataformas NAT em etapa posterior, denominada Estudo Multicêntrico, ocorrido entre 2010 e 2011, que objetivou a avaliação do desempenho do conjunto de análise de Bio-Manguinhos na rotina de trabalho dos hemocentros de Santa Catarina (Hemosc), Pernambuco (Hemope), Rio de Janeiro (Hemorio), Fundação Pró-Sangue de São Paulo (FPS) – estes identificados como Sítios Testadores NAT (SIT-NAT), além dos hemocentros do Rio Grande do Sul (Hemorgs), Rio Grande do Norte (Hemonorte), Paraíba (Hemoiba), Espírito Santo (Hemoes) e Hemonúcleo de Santos (Hemosantos), como Unidades Referenciadoras e Coletoras de Amostras (respectivamente, URA e UCA) (Brasil, 2013).

A metodologia foi aprovada e incorporada à triagem de bolsas de sangue para HIV e HCV no Sistema Nacional de Sangue, Componentes e Derivados (SINASAN) e no

Sistema Único de Saúde (SUS) através da portaria nº 25 de 12 de Junho de 2013.

Finalmente em 2016 essa segurança se amplia com a introdução da detecção do HBV nos bancos de sangue nacionais, através da publicação da RDC nº 75 em 02/05/16, que altera a resolução da RDC nº 34 de 11/06/14 e passa então a considerar o NAT-HBV obrigatório, nos hemocentros brasileiros que seguem as orientações do Ministério da Saúde quanto as ações referentes às amostras e doadores (Anexo 1) (Brasil, 2016).

2.6. AVALIAÇÃO DO IMPACTO DO TESTE NAT NA REDUÇÃO DO RISCO RESIDUAL DE TRANSMISSÃO DO HBV.

Na hemoterapia, a estimativa do cálculo do risco residual é uma ferramenta estatística de suma importância para monitorar a segurança transfusional, sendo empregada também para avaliar o rendimento/produtividade ou efeito potencial de novos ensaios de rastreio com maior sensibilidade para a detecção precoce das infecções transmitidas por transfusões (ITTs) (Schreiber et al., 1996; Glynn et al., 2000; Busch, 2001; Seed et al., 2002; Fiebig et al., 2003). A estimativa do risco residual, representa a probabilidade de contrair determinada infecção através de uma transfusão de sangue potencialmente infeccioso, com resultados laboratoriais negativos, o que geralmente ocorre com doações realizadas durante período de janela (Schreiber et al., 1996; Korelitz et al., 1997).

O modelo de incidência e janela e suas adaptações é o modelo mais difundido para estimar os riscos de transfusão e tem sido aplicado com sucesso em todo o mundo para fornecer estimativas de ITTs (Schreiber et al., 1996; Alvarez et al., 2002; Kupek 2004; Pillonel et al., 2005; Sabino et al., 2012; Wang et al., 2013; De Almeida-Neto et al., 2013; Kupek et al., 2014). A primeira introdução didática do modelo de incidência/período de janela imunológica e o cálculo do risco residual apareceram em 1998 (Canutti et al., 1998).

Em países desenvolvidos as estimativas de risco residual para ITTs embora representem alguma variação, são uniformemente baixas (Tabela 02). Os EUA lideram a pesquisa de risco residual (Kleinman et al., 2012). Um estudo realizado nos Estados Unidos em 2005 por Kleinman et al., avaliando o impacto do NAT-HBV, demonstrou que

a implantação do NAT poderia evitar a transmissão de 56 casos por ano do HBV através de transfusão de hemocomponentes.

Entre os países em desenvolvimento, o continente africano mostrou a situação mais dramática em relação ao risco residual para o HBV (Owusu-Ofori et al., 2005). Na América Latina, o Brasil tem sido o principal país em pesquisas de risco residual, incluindo o HBV (Tabela 02).

Região	RR para o HBV sem o NAT	RR para HBV com o NAT	Referências
EUA	1: 86.000	1: 357.00	Zou, 2009; 2012
França	1: 640.000	1: 1.886.792	Barrio et al., 2005; Gonzalez, 2006
Inglaterra	1:260.000	1: 8.000.000	Soldan et al., 2003; 2005
Continente Africano	1: 1000	1: 43,666	Loua et al., 2004/ Vermeulen et al., 2009
Brasil-SP	1:20.000 -1:50.000	-----	Levi et al., 2011
Brasil- SC	1.10.700	-----	Maresch et al., 2008
Brasil – SC	1:62.482	-----	Kupek et al., 2011

Tabela 02- Estimativa do Risco Residual para transmissão por transfusão do HBV a nível Mundial (antes e/ou após o NAT).

Ressalta-se que na Região Norte não existem estudos que avaliam o impacto da implementação do NAT-HBV de Bio-Manguinhos® na segurança transfusional, assim como estimativas do cálculo do risco residual para HBV no norte do Brasil, antes e pós a implantação do NAT-HBV. Em face à ausência de estudos que analisem este impacto, fomos motivados a realizar esta pesquisa pioneira na Fundação HEMOPA.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO PRINCIPAL: Avaliar o impacto da implantação da plataforma NAT-HBV Bio-Manguinhos[®] na triagem de doadores de sangue do estado do Pará, na Fundação HEMOPA.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar as taxas de Prevalências do HBV entre os doadores de sangue da Fundação HEMOPA nos anos pré (2013-2014) e pós (2015-2016) implantação do NAT-HBV Bio-Manguinhos[®];
- Estimar as taxas de Incidências do HBV entre os doadores de sangue da Fundação HEMOPA nos anos pré (2013-2014) e pós (2015-2016) implantação do NAT-HBV Bio-Manguinhos[®];
- Estimar e Comparar o Risco Residual de transmissão de HBV por transfusão nos anos pré (2013-2014) e pós (2015-2016) implantação do NAT-HBV Bio-Manguinhos[®];
- Descrever casos de janela imunológica em doadores de sangue.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. DADOS DOS DOADORES

Todas as doações coletadas entre 01.07.2013 e 30.06.2016 foram incluídas neste estudo. Os dados incluíram o número de doações de sangue em dez unidades da Fundação HEMOPA, localizados nas seguintes regiões do estado do Pará: norte (cidades de Belém, Ananindeua e Castanhal), oeste (cidade de Santarém), sudeste (cidades de Marabá, Redenção e Tucuruí) sudoeste (cidade de Altamira) e nordeste (cidades de Abaetetuba e Capanema). O período de estudo foi dividido em dois para realização das análises: antes (01.07.2013 - 31.12.2014) e após (01.01.2015 - 30.06.2016) a implementação da plataforma NAT Bio-Manguinhos[®]. Os dados utilizados para realização do estudo, foram obtidos do banco de dados da fundação HEMOPA (Programa SBS). Os dados extraídos incluem: idade, sexo, raça, nível educacional, resultados dos ensaios de triagem e número de doadores soroconvertidos. Os doadores foram classificados como primeira vez (doadores sem doação prévia) e doadores de repetição (doadores com uma ou mais doações por ano). As doações foram classificadas como reposição (se os doadores de sangue doassem em nome de um amigo ou parente) ou como comunitária (se sua doação não fosse direcionada a uma pessoa específica). O presente estudo foi realizado no principal centro de sangue da Fundação HEMOPA (cidade de Belém) e foi revisado e aprovado pelos comitês locais de ética e pesquisa humana (número: 1.982.903 - CAAE: 65760817.0.0000.5634).

4.2. TRIAGEM SOROLÓGICA

Testes sorológicos (automatizados), foram realizados na rotina para triagem de HBV em amostras de sangue. A triagem sorológica para o HBsAg e anti-HBc foi aplicada em doações individuais (ID), por ensaios de quimioluminescência (CMIA) usando a plataforma Architect (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Alemanha).

O ensaio qualitativo ARCHITECT HBsAg é um imunoenensaio de um passo para a detecção qualitativa de HBsAg em soro e plasma humanos usando tecnologia CMIA com protocolos de ensaio flexíveis, designados Chemiflex. No ensaio ARCHITECT HBsAg qualitativo II, a mostra, as micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpo anti-HBs e o conjugado de anticorpo anti-HBs combinações marcado com acridínio são combinadas para criar uma mistura de reação.

O HBsAg presente na amostra se liga às micropartículas revestidas com anti-HBs e ao conjugado marcado com acridio anti-HBs. Após a lavagem, o tampão de lavagem auxilia é adicionado à mistura de reação. Depois de outro ciclo de lavagem, soluções pré-ativadora e ativadora são adicionados à mistura de reação.

A reação quimioluminescente resultante é medida como unidades de luz relative (RLUs). Existe uma relação direta entre a quantidade de HBsAg na amostra, e as unidades de luz relativas (RLUs) detectadas pela ótica do Sistema ARCHITECT *i*. A presença ou ausência de HBsAg na amostra é determinada pela comparação entre o sinal do corte determinado a partir de uma curva de calibração ativa. Se o sinal quimioluminescente da amostra é maior ou igual ao sinal de corte, a amostra é considerado reativo para HBsAg.

O ensaio ARCHITECT Anti-HBc II é um imunoensaio de dois passos para a determinação qualitativa de anticorpo anti-HBc em soro e plasma humanos utilizando tecnologia CMIA com protocolos de ensaio flexíveis, conhecida como Chemiflex.

No primeiro passo, amostra, diluente de ensaio, diluente de amostra e as micropartículas paramagnéticas revestidas rHBcAg são combinadas. Os anticorpos Anti-HBc presentes na amostra ligam-se às micropartículas revestidas de rHBcAg e à mistura reacional é lavada.

No segundo passo, o conjugado anti-humano marcado com acridínio é adicionado. Após outro ciclo de lavagem, as soluções de pré-ativação e ativação são adicionados à mistura reacional. A reação quimioluminescente resultante é medido em unidades de luz relativa (RLUs). Existe uma relação direta entre a quantidade de anti-HBc na amostra e as RLU detectadas pelo o sistema ótico ARCHITECT *i*.

A presença ou ausência de anti-HBc na amostra é determinada por comparar o sinal quimioluminescente na reação ao corte sinal determinado a partir de uma calibração ativa do ARCHITECT Anti-HBc II. Se o sinal quimioluminescente na amostra é maior ou igual ao sinal de corte, a amostra é considerada reativa para anti-HBc.

4.3. TRIAGEM MOLECULAR

A Triagem molecular foi realizada pela Platafoma NAT Bio-Manguinhos[®]. A Plataforma Nat HIV/HCV/HBV de Bio-Manguinhos[®], possui tecnologia totalmente brasileira, com capacidade de realizar 96 reações simultâneas, sendo 4 controles (2 negativos e 2 positivos), possuindo assim 92 reações para as amostras em teste. Cada

“poço” de reação é composto por um minipool de 6 amostras caracterizando então dosagem de, no máximo, 552 amostras por placa. Em casos de positividade de um poço, deve-se realizar novos testes, individualizando as 6 amostras inicialmente contidas no pool, a fim de detectar quais amostras estão positivando o teste (Brasil, 2013). O desenvolvimento desse tipo de tecnologia favorece a sua introdução no mercado brasileiro devido ao custo muito reduzido quando comparado a tecnologias importadas (DIACM, Bio-Manguinhos, 2011; 2016).

A triagem molecular para o HBV foi realizada pelo Kit NAT fabricado pela Bio-Manguinhos - limite de detecção para 50 UI / mL (FIOCRUZ, Brasil) de acordo com os passos da Figura 10. A triagem molecular foi realizada em mini-pool (MP) de seis amostras. O ID NAT foi aplicado para identificar as amostras positivas no MP do HBV detectado. Todos os Kits foram aplicados de acordo com as recomendações do fabricante e todos os testes em amostras de sangue foram realizados no laboratório central do principal hemocentro do HEMOPA, em Belém.



Figura 10: Fluxo metodológico do NAT.

4.3.1. Preparação das amostras

A etapa de preparo do pool foi realizada através do pipetador automático Janus[®] (Perkin Elmer). As amostras foram processadas em protocolos de mini-pools de 6 amostras (MP6), onde em um tubo secundário, foram adicionados 100µl de cada uma das amostras, em seguida adicionado um controle interno de reação, a partícula calibradora (Módulo Controle – Kit NAT HIV/HCV/HBV BioManguinhos).

4.3.2. Extração e purificação de ácidos nucleicos

A extração e a purificação são totalmente automatizadas, realizadas pelo biorobot MDx[®] (Qiagen), utilizando tecnologia com alta recuperação de ácidos nucleicos, baseada nas propriedades de ligação seletiva da membrana de sílica.

Os tubos secundários contendo as amostras de plasma, os controles negativos e positivos (Módulo Controle – Kit NAT HIV/HCV/HBV BioManguinhos) e os reagentes da extração (preparados de acordo com as orientações do fabricante - Módulo Extração - Kit NAT HIV/HCV/HBV BioManguinhos[®]) foram introduzidos no extrator.

Nesta etapa as amostras são lisadas utilizando tampões de lise e protease em condições desnaturantes (temperatura de 56°C). O material genético é absorvido pela membrana de sílica por vácuo. As condições de sal e pH do tampão de lavagem garantem que impurezas e inibidores de PCR não se liguem a membrana. O ácido nucleico ligado a membrana passa por três etapas de lavagem a vácuo. O resultado da reação, uma placa com volume final de extração de 60 µl em cada poço, é congelada e descongelada para a etapa seguinte.

4.3.3. Amplificação e detecção de ácidos nucléicos

Os reagentes da PCR para o HBV (Módulo Amplification – Kit NAT HBV BioManguinhos) foram realizados em protocolo separado do HIV/HCV (Módulo Amplification – Kit NAT HIV/HCV BioManguinhos[®]).

Os reagentes após centrifugados foram montados no equipamento Janus sob refrigeração, para a realização do Mix de PCR, distribuição na placa óptica e aplicação das amostras extraídas da placa Qiagen. Após estes procedimentos a placa óptica é selada e centrifugada para total retirada de bolhas em seguida colocada no equipamento 7500 Real-Time PCR Systems (AppliedBiosystems[®]) que realiza as etapas de amplificação e detecção em tempo real do HBV com programa estabelecido pelo fabricante.

A metodologia de amplificação específica do alvo utiliza sondas TaqMan marcadas com fluoróforos que emitem fluorescência de comprimentos de ondas diferentes para a partícula calibradora, tornando possível a detecção discriminatória dos agentes. O resultado é considerado detectável quando detectada fluorescência acima da linha Threshold. Quando o resultado detectável é referente a amostras em pool, na rotina

seguinte as seis amostras compostas são realizadas individualmente (*single*).

4.4. CÁLCULOS DA PREVALÊNCIA, INCIDÊNCIA E RISCO RESIDUAL

A prevalência do HBV foi restrita aos doadores de primeira vez (FT). O cálculo é baseado nas taxas de doações positivas confirmadas de HBsAg entre os anos de 2013 e 2014, bem como do HBV-NAT entre os anos de 2015 e 2016, divididas pelo número de doações antes e depois da implementação do NAT.

$$\text{Taxa de Prevalência} = \frac{\text{Número de Doadores confirmados Positivos (FT)}}{\text{Número de Doações (antes/Pós NAT)}}$$

O marcador HBsAg (CMIA) foi utilizado para calcular as taxas de prevalência no período entre 2013 e 2014. Apenas casos confirmados pela presença simultânea do marcador anti-HBc total (CMIA) foram incluídos, e nos casos sem essa confirmação sorológica a presença do antígeno viral foi confirmada pelo ensaio de PCR (Roche Molecular Diagnostics).

No período de 2015 a 2016, o HBV-NAT foi elegível para o cálculo da prevalência quando concomitantemente com teste sorológico (marcadores anti-HBc ou HBsAg) ou teste de carga viral positivo para os casos janela imunológica, realizado por Bio-Manguinhos (FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil).

A taxa de incidência (taxa de soroconversão) foi restrita aos doadores de repetição (RP) e foi definida como o número de soroconversores confirmados (anti-HBc)/número total de doações. O marcador anti-HBc foi considerado confirmado quando simultaneamente apresentou HBsAg (CMIA) no período pré-NAT-HBV, ou HBV-NAT, no período pós NAT-HBV, ou pela presença do anti-HBs por kit de imunoensaio enzimático (EIA- Abbot Laboratório).

Ambas as taxas foram obtidas pelo tipo de doador, tipo de doação, região do banco de sangue e características do doador.

$$\text{Taxa de Soroconversão} = \frac{\text{Doadores Soroconvertidos confirmados}}{\text{Número de Doações (antes/Pós NAT)}}$$

Uma outra taxa de incidência foi estimada para ser usada na estimativa do risco residual: incidência pessoa-ano (py).

A incidência pessoa-ano (py), foi calculada dividindo o número de doadores de RP (com presença confirmada de antígeno viral para o HBV sendo; HBsAg ou HBV-NAT), dividido pelo número total de py em risco. O número de py em risco foi obtido pela soma dos dias dos intervalos de intervenção entre a primeira e a última doação para cada doador de RP. O tempo em risco para um doador não infectado é o tempo da primeira à última doação no intervalo de estimativa e o tempo em risco para um doador seroconversor é o tempo desde a primeira doação no intervalo de estimativa até a metade entre as duas últimas doações. Este cálculo pressupõe que o risco de conversão é igualmente distribuído pelos intervalos; portanto, seu ponto médio é a melhor estimativa imparcial desse grupo.

As estimativas da incidência py e do risco residual de infecção viral \WP descrito por Schreiber et al., 1996.

$$\text{Taxa de incidência (py)} = \frac{\text{Número de doadores soroconvertidos confirmados (RP)}}{\text{pessoas-ano}}$$

O risco residual é obtido pela multiplicação da incidência py pela fração WP dividido por 365 dias, de acordo com a seguinte fórmula: RR = incidência py x (teste de triagem WP / 365 dias). O WP sorológico foi utilizado para calcular o risco residual antes da implementação HBV-NAT (38,3 dias - de acordo como descrito por O'Brien et al., 2007; Zou et al., 2009) e após a implementação do HBV-NAT foi utilizado 12 dias (de acordo com o fabricante).

$$\text{RR} = \text{Taxa de incidência (py) da infecção} \times \frac{\text{Período de janela do teste (WP)}}{365 \text{ dias}}$$

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Inicialmente, foi utilizado o teste do qui-quadrado de Pearson para avaliar a associação entre as diferenças nas variáveis categóricas quanto a prevalência e taxas de soroconversão. Em seguida, o modelo de regressão logística multivariada foi ajustado. A ausência de multicolinearidade entre as variáveis foi examinada por meio do fator de inflação de variância (VIF), e o valor de corte adotado para a existência de multicolinearidade foi $VIF \geq 4$. Os testes exatos de Fisher e qui-quadrado de Pearson foram utilizados para a comparação dos HBV positivos confirmados e pessoa-anos antes e depois da implementação do HBV-NAT.

A regressão de Poisson foi utilizada para avaliar as diferenças de incidência e risco residual, e os intervalos de confiança ICs assumiram que os casos incidentes são distribuídos por Poisson e as estimativas de risco residuais foram calculadas com uma aproximação de Taylor às estimativas de erro padrão de risco residual.

Os dados foram analisados por meio do pacote estatístico SPSS v20.0 (SPSS, Chicago, IL, EUA). Um valor de p inferior a 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

5. RESULTADOS

ARTIGO

Prevalence, incidence and residual risk of transfusion-transmitted HBV infection before and after the implementation of HBV-NAT in northern Brazil.

Corrêa ASM, Lamarão LM, Vieira PCM, Castro RBH, Almeida NCC, Castro JAA, de Lima MSM, Palmeira MK, Ana Luiza Langanke Pedroso Meireles ALLP, Burbano RMR

O artigo foi publicado na revista *PLOS ONE* (2018).

RESEARCH ARTICLE

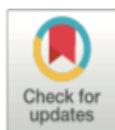
Prevalence, incidence and residual risk of transfusion-transmitted HBV infection before and after the implementation of HBV-NAT in northern Brazil

Angelita Silva de Miranda Corrêa^{1,2*}, Letícia Martins Lamarão¹, Priscilla Cristina Moura Vieira^{1,2}, Renata Bezerra Hermes de Castro¹, Núbia Caroline Costa de Almeida¹, Jairo Augusto Américo de Castro¹, Maria Salete Maciel de Lima¹, Mauricio Koury Palmeira¹, Ana Luíza Langanke Pedrosa Meireles¹, Rommel Rodríguez Burbano³

1 Laboratory of Nucleic Acid Test (NAT), Foundation Center for Hemotherapy and Hematology of Pará (HEMOPA), Belém, Pará, Brazil, **2** Laboratory of Human Cytogenetics, Institute of Biological Sciences, Federal University of Pará, Belém, Pará, Brazil, **3** Laboratory of Molecular Biology, Ophir Loyola Hospital, Belém, Pará, Brazil

* These authors contributed equally to this work.

* angelitamcorrea@gmail.com



OPEN ACCESS

Citation: Corrêa ASdM, Lamarão LM, Vieira PCM, de Castro RBH, de Almeida NCC, de Castro JAA, et al. (2018) Prevalence, incidence and residual risk of transfusion-transmitted HBV infection before and after the implementation of HBV-NAT in northern Brazil. PLoS ONE 13(12): e0208414. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208414>

Editor: Yuri E. Khudiyakov, Centers for Disease Control and Prevention, UNITED STATES

Received: March 4, 2018

Accepted: November 18, 2018

Published: December 19, 2018

Copyright: © 2018 Corrêa et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data have been uploaded to Figshare at the following web address: <https://figshare.com/s/0d72537252c926529902>.

Funding: The authors received no specific funding for this work.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Abstract

Background

Nucleic acid testing (NAT) for virus detection during blood screening has helped to prevent transfusion-transmitted infections worldwide. In northern Brazil, NAT was implemented in 2012 for HIV and HCV and more recently, in January 2015, the screening for HBV was included and currently used concomitant with serological tests (HBsAg and anti-HBc). This study aims to evaluate the prevalence and the incidence of HBV infection among voluntary blood donors at ten regional blood centers of HEMOPA Foundation in Pará state and to compare the residual risk of transfusion-transmitted HBV infection before and after the Brazilian HBV-NAT implementation.

Methods

The prevalence (restricted to first time donors- FT) and seroconversion rate (restricted to repeat donors- RP) of HBV were calculated based on rates of confirmed positive samples. Residual risk was based on the incidence and window period (WP) model described by Schreiber and coauthors. Logistic and Poisson regression were used in the statistical analysis by SPSS v20.0. A p value <0.05 was considered statistically significant.

Results

HBV prevalence in the periods before and after the implementation of HBV-NAT were 247 and 251 per 100,000 donations, respectively. Seroconversion rates were 114 and 122 per 100,000 donations in the two periods, respectively. The residual risk (RR) for HBV decreased significantly in the posterior period to the HBV-NAT implementation, when

compared to RR before implementation, with a reduction of 1:144,92 to 1:294,11 donations ($p < 0,001$).

Conclusions

The RR to HBV decreased after the implementation of HBV-NAT, increasing significantly the transfusional security in the North region of Brazil at HEMOPA Foundation.

Introduction

Hepatitis B remains a major public health problem worldwide according to the World Health Organization approximately 240 million people have chronic hepatitis B and 470,000 deaths occur per year due to the consequences of hepatitis B such as cirrhosis and hepatocellular carcinoma [1].

Currently Brazil has approximately 207,000,000 inhabitants and the distribution of HBV is quite heterogeneous in the 8,516,000 km² of country territorial extension. According to the Ministry of Health the incidence in the northern area is above the national average (11 vs. 6.5/100,000 inhabitants) [2]. However, southeast and south region concentrated the most cases of hepatitis B [3]. Although hepatitis B vaccine has been recommended nationwide since 2000 for newborns and individuals up to 49 years of age and vaccine coverage has had satisfactory results, there are still several barriers to reach the target population, such as regions with difficult access and lack of adherence to the complete vaccination schedule (three doses) [2,3].

Over the past decade, Brazilian hemotherapy has been characterized by the development of laboratorial technologies and by the adoption of standard protocols for donor screening. The set of quantitative and qualitative measures adopted improved the transfusion safety by minimizing transfusion risks, especially related to transfusion safety in transmissible infections. Nucleic acid testing (NAT) for virus detection during blood screening has helped to prevent transfusion-transmitted infection worldwide [4,5,6,7]. However, the risk of infection persists due to blood donations collected during the window period (WP) and the high prevalence of the disease in the source population, therefore some mathematical models are used to estimate the residual risk (RR) of transfusion-transmitted infections in several countries [8,9,10].

Brazilian technical regulations on hemotherapeutic procedures are determined by the Ministry of Health. The managing policies of blood products prohibit the monetary incentives to blood donors. The candidates go through an interview and medical evaluation where they answer a clinic and epidemiologic questionnaire. From the analysis of the candidate's answers, the ones who demonstrate sexual behaviour with higher risks to sexual transmitted diseases will be excluded of the donation, following the American Association of Blood Banks (AABB) [11].

In Brazil, the importance of knowing and monitoring the risk of HBV transmission during a blood transfusion was due to the recent implementation of the national NAT platform for HIV, HCV and HBV detection, by Bio-Manguinhos (FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil) and Ministry of Health, in all Blood Centers of country. In the Center for Hemotherapy and Hematology of Pará (HEMOPA) Foundation—responsible for the most blood and hemocomponents transfused in the State of Pará (northern Brazil with approximately eight million inhabitants), it has been implemented in 2012 for HIV and HCV. Afterwards, in January 2015, the screening for HBV was included and now is currently used concomitant with serological test: HBV surface antigen (HBsAg) and antibodies to HBV core antigen (anti-HBc) [12].

Previous studies have reported a heterogeneous prevalence of the HBsAg marker between blood donors in different regions of Brazil, lower rates in the southern region, intermediate rates in the Northeast and Southeast, and higher rates in the Amazon region [10]. Prevalence and incidence data are important to have knowledge about the regional characteristics of HBV infection in blood donors and to assist in the development of public health policies. An accurate estimate of the risk of transfusion-transmitted HBV infection will help to monitor blood transfusion safety and will establish measures to minimize risk as well as assess the value of screening for HBV-NAT in Brazil. To our knowledge, this article is the first to evaluate the impact of HBV NAT implementation for blood screening in northern Brazil. The aim of this study was to determine the prevalence and incidence rates of HBV among voluntary blood donors of HEMOPA Foundation and to compare the residual risk of transfusion-transmitted HBV infection before and after the HBV-NAT implementation.

Materials and methods

Donors' database

The present study was conducted at the main HEMOPA blood center (Belém city) and it was reviewed and approved by the Federal University of Pará Ethics and Human Research Committees number: 1.982.903 (CAAE: 65760817.0.0000.5634). This study included all the donations collected between 07/01/2013 and 06/30/2016 in the ten blood centers of the HEMOPA Foundation distributed in the north (Belém, Ananindeua and Castanhal cities), west (Santarém city), southeast (Marabá, Redenção and Tucuruí cities), southwest (Altamira city) and northeast (Abaetetuba and Capanema cities) of the state of Pará. The study period was divided in two to perform the analyses: before (07.01.2013–12.31.2014) and after (01.01.2015–06.30.2016) NAT implementation. The donor database includes age, sex, ethnicity, school level, results of the screening assays and number of seroconvertors for the anti-HBc and HBsAg markers. The donors were classified as first time (FT—donors without previous donation) and repeat donor (RP—donors with one or more donation per year). Donations were classified as replacement if blood donors were donating on behalf of a friend or relative or as community if their donation was not targeted to a specific person.

HBV serological and molecular screening

Serological screening for HBsAg and anti-HBc markers were performed on all blood donations by the chemiluminescent assay (CMIA) using the Architect platform (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Germany). Molecular screening for HBV was performed by NAT Kit manufactured by Bio-Manguinhos—detection limit of 50 IU/mL (FIOCRUZ, Brazil). The serological screening was applied in individual donations (ID) and the molecular screening was performed in a six-sample mini-pool (MP). NAT ID was applied to identify the positive samples in detected HBV MP. All Kits were applied according to the manufacturer's recommendations and all tests on blood samples were performed in the central laboratory at the main HEMOPA blood center, in Belém.

Serological and molecular HBV confirmatory tests

The HBsAg marker (CMIA) was used to calculate prevalence rates in the period between 2013–2014. Only confirmed cases by the simultaneous presence of the total anti-HBc marker (CMIA) were included, and in the cases without this serological confirmation the presence of the viral antigen was confirmed by the PCR assay (Roche Molecular Diagnostics). In the period of 2015–2016, HBV-NAT was eligible for the prevalence calculation when concomitant

multivariate logistic regression model was applied. The absence of multicollinearity between the variables was examined by means of the variance inflation factor (VIF), and the cutoff value adopted for the existence of multicollinearity was $VIF \geq 4$. Fisher's exact tests and Pearson's chi-square were used for comparison of Confirmed HBV Positive and Person-years before and after HBV-NAT implementation. Poisson regression was used to evaluate the *py* incidence and residual risk differences, and CIs assumed that incident cases are Poisson distributed and residual risk estimates were computed with a Taylor series approximation to the residual risk standard error estimates. Data were analyzed using a statistics package SPSS v20.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). A *p* value of less than 0.05 was considered statistically significant.

Results

During the period from July 1, 2013, to June 30, 2016, a total of 294,881 consecutive blood donations were collected at the ten Blood Centers of the HEMOPA Foundation. In the period before HBV-NAT implementation, 141,514 samples (which correspond to 47.9%) were screened for HBsAg and anti-HBc and after the implementation of HBV-NAT, 153,367 samples (52%) were tested concomitant by NAT and serological tests. A total of 208,780 (70.8%) of all donations came from repeat donors and was observed a predominance of community type donation (67.7%). The main donor group was composed by male (65.4%), aged between 16 and 39 years old (62.48%), high school level (59.24%) and mixed ethnicity (76.5%). Across all donations, 71.5% were from the North region of the state (Belém, Ananindeua and Castanhal cities) (Table 1).

In the previous period to the implementation of HBV-NAT (2013–2014), 101 from the total of 108 FT donors detected by HBsAg were confirmed and included in this study. From these 101 included cases, 100 (99%) presented simultaneously anti-HBc and one presented the profile HBsAg+, anti-HBc- and PCR+. At the same period, 115 out of a total of 178 RP donors who seroconverted to anti-HBc were confirmed and included in this study. From these cases, 5 (4.3%) also presented the HBsAg and 100 presented the profile anti-HBc+, HBsAg- and confirmatory anti-HBs+.

In the period after the implantation of HBV-NAT (2015–2016), 114 FT donors were detected by the HBV-NAT. All of these cases were confirmed and included in this study. From this total, anti-HBc was also positive in 100% of the cases. HBsAg had coexisted in 108 of the cases (95%) and in 6 cases (5%) the occult hepatitis were confirmed (HBV-NAT+, anti-HBc+ e HBsAg-). At the same time, 132 out of the total of 206 RP donors that seroconverted by anti-HBc were confirmed and included in the study. From these, 5 donors (3.8%) presented simultaneously HBsAg and HBV-NAT and the remaining 127 (96.2%) presented the profile anti-HBc+, HBsAg-, HBV-NAT+ and anti-HBs+ confirmatory. There were no occult hepatitis cases in RP donors in this period.

In Table 2 the prevalence per 100,000 donations in the period before and after HBV-NAT implementation were 247 and 251 respectively. In both periods, donations from male donors were more prevalent than donations from female, replacement donations showed higher prevalence than community donations, as the donor age group 40–69. In the period before HBV-NAT implementation, the Metropolitan region of the Pará State (North) presented low prevalence when compared to other regions. In the period after HBV-NAT implementation the Southwest blood center (Altamira city) presented the higher prevalence. There was no difference observed in the ethnicity group in both periods. After adjusted multivariate logistic regression analyses, the variables sex, donation type, age group, blood center and school level remained associated with HBV prevalence rate on blood donor in both periods.

with serological test (anti-HBc or HBsAg markers) or positive viral load test for those immunological window cases, performed by Bio-Manguinhos (FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil). The seroconversion rate was defined by the presence of anti-HBc in donors with negative prior donations. In a period before and after HBV-NAT implementation, the presence of anti-HBc was confirmed by the simultaneous presence of viral antigen (HBsAg in 2013–2014 and HBV-NAT in 2015–2016) or by the presence of anti-HBs by the enzyme immunoassay kit (EIA—Abbott Laboratories).

Prevalence and seroconversion rate per 100,000

The HBV prevalence was restricted to FT donors. The calculation was based on positive donations for HBsAg between the years 2013 and 2014, and between the years 2015 and 2016 on donations detected by HBV-NAT. Positive donations were divided by the total number of donations before and after HBV-NAT implementation. The seroconversion rate was restricted to RP donors and it was defined as the number of confirmed seroconverters (anti-HBc total) divided by the number of donations before and after the NAT implementation. The HBV prevalence and seroconversion rate were calculated by the type of donor, type of donation, blood bank region and donor characteristics.

Estimates of incidence person-year and residual risk

The study period was divided in before (18 months) and after (18 months) HBV-NAT implementation to perform the analyses. The incidence person-year (*py*) was calculated by dividing the number of RP donors who had the confirmed presence of HBV viral antigen (HBsAg or HBV-NAT) divided by the total number of *py* at risk. The number of *py* at risk was obtained by summing the days of the interdonation intervals between first and last donation for each RP donors. The time at risk for an uninfected donor is the time from first to last donation in the estimation interval and the time at risk for a seroconverting donor is the time from first donation in the estimation interval to half way between the last two donations. This calculation assumes that the risk of conversion is equally spread over the intervals; therefore their midpoint is the best unbiased estimate on this group.

The *py* incidence was adjusted considering that seroconversion to the hepatitis B surface antigen (HBsAg) will underestimate the incidence due to the transient nature of the antigenemia. In the period before HBV-NAT, the correction factor for HBsAg was estimated considering the positivity time of the 63-day HBsAg and the observed distribution of interdonation intervals among the study group, according to reports by Korelitz and co-authors [13]. In the period after HBV-NAT, the correction factor was estimated considering the mean of the seroconversion interval among the study group and the estimated period for detection of transient DNA of 94.5 days as suggested by Vermeulen and co-authors [5].

The estimates of the residual risk (RR) of transfusion-transmitted viral infection were based on the incidence *py* adjusted and WP estimates model described by Schreiber and coauthors [14]. The residual risk is obtained by multiplying the incidence *py* for the WP expressed as a fraction of the year, according to the following formula: $RR = \text{incidence } py \times (\text{WP screening test}/365 \text{ days})$. The serological WP was used to calculate the RR before the HBV-NAT implementation (38.3 days—obtained from previous report [15,16]) and the after the HBV-NAT implementation was used 12 days (according to the manufacturer's).

Statistical analysis

Initially, the Pearson's chi-square test was used to evaluate the association between the differences in the categorical variants of prevalence and seroconversion rates. Next, the adjusted

multivariate logistic regression model was applied. The absence of multicollinearity between the variables was examined by means of the variance inflation factor (VIF), and the cutoff value adopted for the existence of multicollinearity was $VIF \geq 4$. Fisher's exact tests and Pearson's chi-square were used for comparison of Confirmed HBV Positive and Person-years before and after HBV-NAT implementation. Poisson regression was used to evaluate the *py* incidence and residual risk differences, and CIs assumed that incident cases are Poisson distributed and residual risk estimates were computed with a Taylor series approximation to the residual risk standard error estimates. Data were analyzed using a statistics package SPSS v20.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). A *p* value of less than 0.05 was considered statistically significant.

Results

During the period from July 1, 2013, to June 30, 2016, a total of 294,881 consecutive blood donations were collected at the ten Blood Centers of the HEMOPA Foundation. In the period before HBV-NAT implementation, 141,514 samples (which correspond to 47.9%) were screened for HBsAg and anti-HBc and after the implementation of HBV-NAT, 153,367 samples (52%) were tested concomitant by NAT and serological tests. A total of 208,780 (70.8%) of all donations came from repeat donors and was observed a predominance of community type donation (67.7%). The main donor group was composed by male (65.4%), aged between 16 and 39 years old (62.48%), high school level (59.24%) and mixed ethnicity (76.5%). Across all donations, 71.5% were from the North region of the state (Belém, Ananindeua and Castanhal cities) (Table 1).

In the previous period to the implementation of HBV-NAT (2013–2014), 101 from the total of 108 FT donors detected by HBsAg were confirmed and included in this study. From these 101 included cases, 100 (99%) presented simultaneously anti-HBc and one presented the profile HBsAg+, anti-HBc- and PCR+. At the same period, 115 out of a total of 178 RP donors who seroconverted to anti-HBc were confirmed and included in this study. From these cases, 5 (4.3%) also presented the HBsAg and 100 presented the profile anti-HBc+, HBsAg- and confirmatory anti-HBs+.

In the period after the implantation of HBV-NAT (2015–2016), 114 FT donors were detected by the HBV-NAT. All of these cases were confirmed and included in this study. From this total, anti-HBc was also positive in 100% of the cases. HBsAg had coexisted in 108 of the cases (95%) and in 6 cases (5%) the occult hepatitis were confirmed (HBV-NAT+, anti-HBc+ e HBsAg-). At the same time, 132 out of the total of 206 RP donors that seroconverted by anti-HBc were confirmed and included in the study. From these, 5 donors (3.8%) presented simultaneously HBsAg and HBV-NAT and the remaining 127 (96.2%) presented the profile anti-HBc+, HBsAg-, HBV-NAT+ and anti-HBs+ confirmatory. There were no occult hepatitis cases in RP donors in this period.

In Table 2 the prevalence per 100,000 donations in the period before and after HBV-NAT implementation were 247 and 251 respectively. In both periods, donations from male donors were more prevalent than donations from female, replacement donations showed higher prevalence than community donations, as the donor age group 40–69. In the period before HBV-NAT implementation, the Metropolitan region of the Pará State (North) presented low prevalence when compared to other regions. In the period after HBV-NAT implementation the Southwest blood center (Altamira city) presented the higher prevalence. There was no difference observed in the ethnicity group in both periods. After adjusted multivariate logistic regression analyses, the variables sex, donation type, age group, blood center and school level remained associated with HBV prevalence rate on blood donor in both periods.

Table 1. Donation characteristics.

Characteristics	Number	(%)
All Period	294,881	
Before HBV-NAT	141,514	47.99
After HBV-NAT	153,367	52.01
Type of donor		
First Time	86,101	29.20
Repeat	208,780	70.80
Sex		
Male	192,918	65.42
Female	101,963	34.58
Donation type		
Replacement	95,125	32.26
Community	199,756	67.74
Age group (years)		
16–39	184,258	62.48
40–69	110,623	37.52
Blood Center		
North	210,952	71.53
West	19,608	6.64
Southeast	39,301	13.32
Southwest	9,037	3.06
Northeast	15,983	5.42
School Level		
Illiterate	291	0.1
Middleschool	48,566	16.47
High school	174,681	59.24
University	71,343	24.19
Ethnicity		
Black	10,720	3.63
Mixed	225,789	76.58
White	58,372	19.79

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208414.t001>

Table 3 shows the results of seroconversion rate of HBV infection in the period before and after HBV-NAT implementation, which were estimated at 114 and 122 *per* 100,000 donations, respectively. The age group 16–39 showed a higher seroconversion rate in the period before HBV-NAT implementation, however, in the period after HBV-NAT implementation was observed the higher seroconversion rate in the age group 40–69. Southwest blood center (Altamira city) and the blood centers of Metropolitan region of the Pará State (North region) presented the higher seroconversion rate in the period before HBV-NAT implementation, however, in following period, the Southwest and the Southeast region presented higher rate. Only in the period after HBV-NAT implementation, donor attending high school level showed a higher seroconversion rate of HBV. After adjusted multivariate logistic regression analyses, the variables age group and blood center, remained associated with HBV seroconversion rate in blood donor in both periods.

A total of 5 RP donors were converted to HBsAg in the period before the implementation of HBV-NAT, all 5 cases also had simultaneously seroconversion to anti-HBc (Table 4). The person time during this period among all repeat donors was 103,376, presenting an HBV incidence rate of 4.83 (95% CI 2.06–11.32) *per* 100,000 *py*. The incidence *py* adjusted was 6.65

Table 2. Prevalence rate of HBV infection per 100,000 donations in Pará state of Brazil, before and after HBV-NAT implementation.

Variables	BEFORE HBV-NAT (2013–2014)						AFTER HBV-NAT (2015–2016)					
	FT donations	N. HBsAg positive	Prevalence rate (95% CI)	p value	AOR (95% CI)	p value	FT donations	N. HBV-NAT Positive	Prevalence rate (95% CI)	p value	AOR (95% CI)	p value
N. donations	40,769	101	247 (203–300)				45,332	114	251 (209–301)			
Sex												
Male	22,837	69	302 (238–382)		1		24,805	78	314 (252–392)		1	
Female	17,932	32	178 (126–251)	0.01	0.58 (0.38–0.89)	<0.001	20,527	36	175 (126–241)	0.003	0.55 (0.37–0.82)	0.004
Donation type												
Replacement	12,496	41	328 (241–444)		1		15,386	54	350 (269–457)		1	
Community	28,273	60	212 (164–273)	0.025	0.64 (0.43–0.96)	0.04	29,946	60	200 (155–257)	<0.001	0.57 (0.39–0.82)	0.004
Age group												
16–39	30,316	63	207 (162–265)		1		33,700	70	207 (164–262)		1	
40–69	10,453	38	363 (264–498)	0.005	1.75 (1.17–2.62)	0.04	11,632	44	378 (281–507)	0.002	1.82 (1.25–2.66)	0.004
Blood Center												
North	29,122	37	127 (92–175)		1		32,471	50	153 (116–202)		1	
West	2,711	16	590 (363–956)		4.66 (2.59–8.40)		3,014	8	265 (134–522)		1.69 (0.80–3.56)	
Southeast	5,536	33	596 (424–835)	<0.001	4.71 (2.94–7.54)	0.002	5,931	35	590 (424–819)	<0.001	3.84 (2.49–5.93)	<0.001
Southwest	1,182	10	846 (460–1,550)		6.70 (3.32–13.51)		1,455	20	1,374 (891–2,113)		9.03 (5.36–15.21)	
Northeast	2,218	5	225 (96–526)		1.77 (0.69–4.52)		2,461	1	40 (7–229)		0.26 (0.03–1.90)	
School level												
Illiterate	42	1	2,380 (421–12,321)		4.4 (0.59–32.77)		44	1	2,272 (402–11,807)		3.44 (0.46–25.55)	
Middle school	7,815	43	550 (408–740)		1		6,709	45	670 (501–896)		1	
High school	23,813	51	214 (162–281)	<0.001	0.38 (0.26–0.58)	<0.001	27,313	52	190 (145–249)	<0.001	0.28 (0.18–0.42)	<0.001
University	9,099	6	65 (30–143)		0.12 (0.05–0.28)		11,266	15	133 (80–219)		0.19 (0.11–0.35)	
Ethnicity												
Black	1,532	8	522 (264–1,027)		1		1,604	7	436 (211–898)		1	
Mixed	31,442	77	244 (196–305)	0.10	0.46 (0.22–0.97)	0.095	34,406	91	264 (215–324)	0.23	0.60 (0.28–1.30)	0.1
White	7,795	16	205 (126–333)		0.39 (0.16–0.91)		9,322	16	171 (105–278)		0.39 (0.16–0.95)	

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208414.t002>

(95% CI 3.38–13.14). Using 38.3 days for the infectious WP, the RR of transfusion-transmitted HBV infection was estimated in 0.69 per 100,000 donations (95% CI 0.63–0.74) or 1:144,92 donations.

In the period after the implementation of HBV-NAT, 10 RP donors were detected with the presence of viral DNA, all of these cases were confirmed and included in this study. The number of confirmed cases of HBV was higher in this period (10 vs. 5 cases, $p < 0.001$). Out of the total, 4 cases (40%) presented at the same time the marker HBsAg. Three cases (30%)

Table 3. Seroconversion rate of HBV infection per 100,000 donations in Pará state of Brazil, before and after HBV-NAT implementation.

Variables	BEFORE HBV-NAT (2013–2014)						AFTER HBV-NAT (2015–2016)					
	RP donations	N. anti-HBc positive	Seroconversion rate (95% CI)	p value	AOR (95% CI)	p value	RP donations	N. Anti-HBc positive	Seroconversion rate (95% CI)	p value	AOR (95% CI)	p value
N. donations	100,745	115	114 (95–137)				108,035	132	122 (103–145)			
Sex												
Male	71,100	88	124 (100–152)		1		74,176	95	128 (105–157)		1	
Female	29,645	27	91 (63–132)	0.8	0.73 (0.48–1.13)	0.13	33,859	37	109 (79–151)	0.82	0.85 (0.58–1.25)	0.33
Donation type												
Replacement	30,576	38	124 (91–171)		1		36,667	45	122 (91–164)		1	
Community	70,169	77	110 (88–137)	0.97	0.88 (0.60–1.30)	0.69	71,368	87	121 (98–150)	0.7	0.99 (0.69–1.42)	0.92
Age group												
16–39	41,315	71	171 (136–216)		1		78,927	81	103 (83–127)		1	
40–69	59,430	44	74 (55–99)	<0.001	2.32 (1.60–3.38)	0.04	29,108	51	175 (133–230)	0.002	1.70 (1.20–2.42)	0.004
Blood Center												
North	71,974	95	131 (108–161)		1		77,385	69	89 (70–113)		1	
West	6,699	2	29 (8–109)		0.29 (0.07–1.17)		7,184	7	97 (47–201)		1.09 (0.50–2.37)	
Southeast	13,681	12	88 (50–153)	0.03	0.66 (0.36–1.21)	0.025	14,153	43	304 (225–409)	<0.001	3.41 (2.33–4.99)	<0.001
Southwest	2,921	4	137 (53–351)		1.03 (0.38–2.82)		3,479	11	316 (177–565)		3.55 (1.87–6.72)	
Northeast	5,470	2	37 (10–133)		0.27 (0.06–1.12)		5,834	2	34 (9.4–125)		0.38 (0.09–1.56)	
School level												
Illiterate	101	0	0		0		104	0	0		0	
Middle school	17,768	24	135 (91–201)		1		16,274	19	117 (75–182)		1	
High school	59,706	70	117 (93–148)	0.78	0.87 (0.55–1.38)	0.64	63,849	91	142 (116–175)	0.04	1.22 (0.74–2.00)	0.99
University	23,170	21	91 (59–138)		0.67 (0.37–1.20)		27,808	22	79 (52–120)		0.67 (0.37–1.25)	
Ethnicity												
Black	3,760	9	239 (126–454)		1		3,824	4	105 (41–269)		1	
Mixed	77,823	83	107 (86–132)	0.07	0.44 (0.22–0.88)	0.5	82,118	111	135 (112–163)	0.3	1.29 (0.48–3.5)	0.08
White	19,162	23	120 (79–180)		0.50 (0.23–1.08)		22,093	17	77 (48–123)		0.73 (0.24–2.19)	

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208414.t003>

presented two serological markers (HBsAg and anti-HBc) and the last three cases (30%) were considered WP cases. In this period the total person-years at risk was 110,747, producing an incidence rate of HBV of 9.02 (95% CI: 4.9–16.62) per 100,000 *py*. The adjusted incidence was 10.43 per 100,000 *py* (95% CI 6.99–18.71). This period also presented a higher incidence rate than the period before HBV-NAT implementation (10.43 vs. 6.65, $p = 0.027$). Estimated WP was reduced to 12 days using HBV-NAT, thus, the RR of transfusion-transmitted HBV infection was significantly reduced to 0.34 per 100,000 donations (95% CI 0.28–0.39) or 1:294,11 donations ($p < 0.001$).

Table 4. *Py* incidence rates and residual risks for HBV before (2013–2014) and after (2015–2016) HBV-NAT implementation.

	Before HBV-NAT	After HBV-NAT	
	2013–2014	2015–2016	p value
Window period (days)	38.3 [*]	12 [†]	
Confirmed HBV Positive	5	10	<0.001
Person-years	103,376	110,747	0.68
Incidence <i>py</i> adjusted (CI 95%)	6.65 (3.38–13.14)	10.43 (6.99–18.71)	0.027
Residual risk per 100,000 (CI 95%)	0.69 (0.63–0.74)	0.34 (0.28–0.39)	<0.001
Residual risk (1 in)	144,92	294,11	<0.001

^{*} Window period obtained from previous report [15,16].

[†] Window period obtained according to the HBV-NAT kit manufacturer.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208414.t004>

Discussion

This study describes the prevalence and the incidence of HBV infection by serological and molecular markers and residual risk of transfusion-transmitted HBV among voluntary blood donations in northern Brazil.

Serological markers in the period of 2013–2014 and molecular markers in the period of 2015–2016 showed similar prevalence in both periods (247 and 251/100,000). The general prevalence of HBV among blood donors in this study was very high compared with other previous blood services in developed countries like Canadian Blood Services (97/100,000, 2001–2005) [16], and American Red Cross (70/100,000, 2001–2002) [17]. In Argentina the most current prevalence of HBV in voluntary blood donors was 198/100,000, lower rate than those found in our study [18].

In Brazil, the prevalence rates of HBV infection markers in blood donors shows significant numbers and varies according to the serological marker: 0.14%–0.68% for HBsAg and 2.05%–6.12% for anti-HBc [19,20]. A study conducted in three blood banks located in different cities of the country showed differences in the prevalence of HBV (HBsAg and anti-HBc reactivity) infection in FT donors. In Recife (northeast), a higher prevalence of infected donors was observed (419/100,000), followed by Belo Horizonte (270/100,000) and São Paulo (213/100,000), both cities in the southeast region [10]. Our study presented a lower prevalence in relation to the cities of Recife and Belo Horizonte and a higher prevalence than that found in the city of São Paulo. This data is important and it is a warning to local authorities to strengthen prevention, protection and treatment of Hepatitis B.

In Brazil, according to the Ministry of Health, the prevalence rate (in the presence of symptoms) in 2016 was estimated at 6.9 per 100,000 inhabitants in the general population. In the period from 1999 to 2016, 212,031 confirmed cases of HBV were reported, with the majority of these cases (HBsAg and anti-HBc reactivity) concentrated in the Southeast (35.5%) and South (31.4%) regions, followed by the North (14.3%), the Northeast (9.4%) and the Central West regions (9.3%) [2]. This same report showed in the last two years a growing notification of cases mainly in the north region [21]. However, the absence of notification cases of HBV infection, especially in less developed regions of the state, can become an important bias in northern region data.

In our study a higher prevalence of HBV infection was observed in male donors aged over 40 years and with low school level. This data is in agreement with other studies in blood donors worldwide [6,10,15,22]. The highest prevalence among male donors may be correlated with the behavioral aspects adopted by these donors. In Brazil, the low school level may be associated with poor socioeconomic conditions and more restricted access to health services. In

older ages, this association may be a reflection of a cumulative effect of behavioral risks. The highest prevalence in replacement donations is in agreement with results found in other Brazilian studies [22].

Despite the increasing rate of anti-HBs reactive subjects due to the successful immunization program in Brazil the adoption of NAT for hepatitis B screening in Brazilian Blood Centers has helped to prevent transfusion-transmitted infection. In the state of São Paulo, at Sírío Libanês hospital, there were HBV-infected (through blood transfusion) patients, which happened through WP and HBV-NAT and it could have interdicted this infectious unit [23]. The first Brazilian case of the immunological window for HBV was identified through individual HBV-NAT screening that identified one first-time donor as having hepatitis B in WP, which was not released for transfusion [24].

It was observed in the HEMOPA Foundation that after the introduction of HBV-NAT in donor screening, the *py* incidence increased significantly, probably due to the greater sensitivity of HBV-NAT that detected 3 cases of HBV in donors in WP, strengthening the effectiveness of HBV-NAT in relation to the serological methods as well as the importance that this technique has added to the strategies to increase transfusion safety in our region.

The introduction of HBV-NAT test also allowed the detection of 6 occult hepatitis cases among the 45,332 FT donor samples in the period of 2015–2016. It is appropriated the data supply of prevalence of this clinic entity in blood donors in order to do an evaluation of the viral persistence state, nevertheless, occult hepatitis can be transmitted through transfusion mainly in those countries that did not adopt the anti-HBc test in serological triage.

In relation to the seroconversion rate of HBV in RP donors was observed that only during before HBV-NAT period (2013–2014) there was a bigger rate of donors who were among 16–29 (the lowest prevalence in FT donors to HBV), these data can reflect the necessity to invest in prevention and vaccine campaigns (as this age group shows more active sexual behavior), therefore being the most common infection through HBV.

The residual risk is a very important statistical tool applied in hemotherapy to analyze transfusion safety, it is expressed as the chance of contracting a certain infection through transfused blood. Therefore, the estimates of residual risk are critical to monitoring transfusion safety and assessing the potential effect of new screening tests in Blood Centers [13,25]. Our study estimated for the first time the residual risk of HBV transfusion-transmitted in Northern Brazil. The residual risk results showed a significant reduction, from 1: 144,92 to 1: 294,11, due to the fact that the WP of the HBV-NAT is shorter than the WP of serological tests. As a result, this data showed that there was an improvement in transfusion safety in our region.

In Brazil, before HBV-NAT implementation, Kupek and coauthors estimated in the south of the country the RR for HBV by different methods (stand-alone HBsAg, HBsAg yield method, and recent anti-HBc seroconversions). The RR estimated ranged from 1:30,821 to 1:62,482 [26].

The residual risk for HBV transfusion-transmitted found in our study is very high when compared to developed countries [15]. The countries of the Americas and European are considered by the WHO to be of low prevalence for HBV [1]. Blood services estimated the residual risk before HBV-NAT ranging from 1: 62,500 to 1: 640,000 and after HBV-NAT ranging from 1: 115,000 to 1: 8,000,000 [15,27,28,29,30,31]. Considered by WHO as regions of medium and high prevalence of HBV infection, respectively, the Republic of Korea and the African continent described the RR before HBV-NAT between 1: 121 and 1: 1,000 and after HBV-NAT, Republic of Korea and the South Africa, between 1: 39,956 and 1: 43,666 [32,33,34,35,36,37].

Blood transfusion is considered a potential risk factor for transmission of viral infections [38], therefore the first step for proper recruitment for blood safety is to reduce the risk of transfusion-transmitted infections, avoiding collecting blood from donors with higher risk

and preventing the waste of resources. Secondly, the effectiveness of the pre-donations interview to eliminate candidate donors who engage in risky sexual behavior. Therefore, an approach during clinical screening that could, above all, during the care, raise awareness, clarify and sensitize the donor about the importance of the act, can reduce these risks [39].

We recognized some limitations in our study. HBV seroconversion rate may have been underestimated since only donations with positive confirmatory tests were considered in the study. This criterion adopted in our study was able to avoid false-positive results. According to the literature, the genotype can influence WP [7]. Our study did not investigate which genotypes were circulating during this period in our region, however, a recent study revealed that the most frequent genotypes in Brazil are A (58.7%), D (23.4%) and F (11.3%) [40].

Conclusion

The safety of blood transfusion in northern Brazil has increased significantly with the deployment of HBV-NAT, contributing to greater safety of blood products produced at the HEMOPA Foundation. However, recruitment strategies and donor selection remain important tools that need to be improved to ensure, along with screening tests, a better transfusion safety. In addition, the Brazilian NAT platform aims to increase the sensitivity of the kit as well as the inclusion of new targets.

Author Contributions

Conceptualization: Angelita Silva de Miranda Corrêa, Letícia Martins Lamarão, Priscilla Cristina Moura Vieira, Rommel Rodríguez Burbano.

Data curation: Angelita Silva de Miranda Corrêa, Letícia Martins Lamarão, Priscilla Cristina Moura Vieira, Maria Salete Maciel de Lima, Mauricio Koury Palmeira.

Formal analysis: Angelita Silva de Miranda Corrêa, Letícia Martins Lamarão, Renata Bezerra Hermes de Castro, Mauricio Koury Palmeira, Ana Luiza Langanke Pedrosa Meireles, Rommel Rodríguez Burbano.

Investigation: Angelita Silva de Miranda Corrêa, Letícia Martins Lamarão, Priscilla Cristina Moura Vieira.

Methodology: Angelita Silva de Miranda Corrêa, Letícia Martins Lamarão, Núbia Caroline Costa de Almeida, Jairo Augusto Américo de Castro, Maria Salete Maciel de Lima.

Project administration: Angelita Silva de Miranda Corrêa, Letícia Martins Lamarão, Rommel Rodríguez Burbano.

Resources: Rommel Rodríguez Burbano.

Supervision: Angelita Silva de Miranda Corrêa, Letícia Martins Lamarão.

Validation: Angelita Silva de Miranda Corrêa, Letícia Martins Lamarão, Renata Bezerra Hermes de Castro, Rommel Rodríguez Burbano.

Visualization: Angelita Silva de Miranda Corrêa, Letícia Martins Lamarão, Renata Bezerra Hermes de Castro, Ana Luiza Langanke Pedrosa Meireles, Rommel Rodríguez Burbano.

Writing – original draft: Angelita Silva de Miranda Corrêa, Letícia Martins Lamarão, Priscilla Cristina Moura Vieira.

Writing – review & editing: Angelita Silva de Miranda Corrêa, Letícia Martins Lamarão, Priscilla Cristina Moura Vieira, Rommel Rodríguez Burbano.

References

1. World Health Organization (WHO). Guidelines for the prevention, care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection. WHO; 2017.
2. Ministério da Saúde. Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Boletim Epidemiológico: hepatites Virais. Brasília: Ministério da Saúde; 2012.
3. Ministério da Saúde. Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Boletim Epidemiológico: hepatites Virais. Brasília: Ministério da Saúde; 2016. ANO V- no. 01.
4. Taira R, Satake M, Momose S, Hino S, Suzuki Y, Murokawa H, et al. Residual risk of transfusion-transmitted hepatitis B virus (HBV) infection caused by blood components derived from donors with occult HBV infection in Japan. *Transfusion*. 2013; 53:1393–1404. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2012.03909.x> PMID: 23033944
5. Vermeulen M, Dickens C, Lelie N, Walker E, Coleman C, Keyter M, et al. Hepatitis B virus transmission by blood transfusion during 4 years of individual-donation nucleic acid testing in South Africa: Estimated and observed window period risk. *Transfusion*. 2012; 52:880–892. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2011.03355.x> PMID: 21981386
6. Li W1, Gao Z, Yang C, Li J, Li L, Lv R, et al. The Estimation of Prevalence, Incidence, and Residual Risk of Transfusion-Transmitted Human Hepatitis B Infection from Blood Donated at the Anhui Blood Center, China, from 2009 to 2011. *Plos One*. 2013; 8:e73472. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073472> PMID: 24058476
7. Tsoi WC, Lelie N, Lin CK. Enhanced detection of hepatitis B virus in Hong Kong blood donors after introduction of a more sensitive transcription-mediated amplification assay. *Transfusion*. 2013; 53:2477–88. <https://doi.org/10.1111/trf.12165> PMID: 23521050
8. O'Brien SF, Yi QL, Fan W, Scalia V, Fearon MA, Allain JP. Current incidence and residual risk of HIV, HBV and HCV at Canadian Blood Services. *Vox Sang*. 2012; 103:83–6. <https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.2012.01584.x> PMID: 22289147
9. Kim MJ, Park Q, Min HK, Kim HO. Residual risk of transfusion-transmitted infection with human immunodeficiency virus, hepatitis C virus, and hepatitis B virus in Korea from 2000 through 2010. *BMC Infectious Disease*. 2012; 12:160.
10. De Almeida-Neto C, Sabino EC, Liu J, Biaty PF, Mendrone-Junior A, Salles NA, et al. Retrovirus Epidemiology Donor Study-II (REDS-II), International Component. Prevalence of serologic markers for hepatitis B and C viruses in Brazilian blood donors, and incidence and residual risk of transfusion-transmission of hepatitis C virus. *Transfusion*. 2013; 53:827–34. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2012.03840.x> PMID: 22882510
11. ANVISA/Ministério da Saúde. Brasil. RDC N8 34, DE 11 DE JUNHO DE 2014. Dispõe sobre as Boas Práticas no Ciclo do Sangue. N113–16/06/14—Seção 1, p50.
12. Vieira PCM, Lamarão LM, Amaral CEM, Corrêa ASM, De Lima MSM, Barile KADS, Et Al. Residual Risk Of Transmission Of Human Immunodeficiency Virus And Hepatitis C Virus Infections By Blood Transfusion In Northern Brazil. *Transfusion*. 2017; 57:1968–1976. <https://doi.org/10.1111/trf.14146> PMID: 28589643
13. Korelitz JJ, Busch MP, Kleinman SH, Williams AE, Gilcher RO, Ownby HE, et al. A method for estimating hepatitis B virus incidence rates in volunteer blood donors. National Heart, Lung, and Blood Institute Retrovirus Epidemiology Donor Study. *Transfusion*. 1997; 37:634–40. PMID: 9191825
14. Schreiber GB, Busch MP, Kleinman SH, Korelitz JJ. The risk of transfusion-transmitted viral infections. The retrovirus epidemiology donor study. *N engl j med*. 1996; 334:1685–90. <https://doi.org/10.1056/NEJM199606273342601> PMID: 8637512
15. Zou S, Stramer SL, Notari EP, Kuhns MC, Krysztof D, Musavi F, et al. Current incidence and residual risk of hepatitis B infection among blood donors in the United States. *Transfusion*. 2009 Aug; 49(8):1609–20. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2009.02195.x> PMID: 19413732
16. O'Brien SF, Yi QL, Fan W, Scalia V, Kleinman SH, Vamvakas EC. Current incidence and estimated residual risk of transfusion-transmitted infections in donations made to Canadian Blood Services. *Transfusion*. 2007 Feb; 47(2):316–25. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2007.01108.x> PMID: 17302779
17. Wang B, Schreiber GB, Glynn SA, Kleinman S, Wright DJ, Murphy EL, et al. Does prevalence of transfusion-transmissible viral infection reflect corresponding incidence in United States blood donors? *Transfusion*. 2005; 45:1089–96. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2005.00178.x> PMID: 15987352
18. Flichman DM, Blejer JL, Livellara BI, Re VE, Bartoli S, Bustos JA, et al. Prevalence and trends of markers of hepatitis B virus, hepatitis C virus and human immunodeficiency virus in Argentine blood donors. *BMC Infect Dis*. 2014 Apr 23; 14:218. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-218> PMID: 24755089

19. Andrade AF, Oliveira-Silva M, Silva SG, Motta LJ, Bonvicino CR. Seroprevalence of hepatitis B and C virus markers among blood donors in Rio de Janeiro, Brazil, 1998-2005. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006; 101:673–676. PMID: 17072482
20. Nascimento MC, Mayaud P, Sabino EC, Torres KL, Franceschi S. Prevalence of hepatitis B and C serological markers among first-time blood donors in Brazil: a multi-center serosurvey. *J Med Virol*. 2008; 80(1):53–7. <https://doi.org/10.1002/jmv.21046> PMID: 18041005
21. Ministério da Saúde (Brasil). Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Boletim Epidemiológico: hepatites Virais. Brasília: Ministério da Saúde; 2016.
22. Patavino GM, de Almeida-Neto C, Liu J, Wright DJ, Mendrone-Junior A, Ferreira MI. Number of recent sexual partners among blood donors in Brazil: associations with donor demographics, donation characteristics, and infectious disease markers. *Transfusion*. 2012; Jan; 52(1):151–9. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2011.03248.x> PMID: 21756264
23. Wendel S, Levi JE, Biagini S, Candotti D, Allain JP. A probable case of hepatitis B virus transfusion transmission revealed after a 13-month-long window period. *Transfusion*. 2008; Aug; 48(8):1602–8. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2008.01723.x> PMID: 18466175
24. Levi JE, Pereira RA, Polite MB, Mota MA, Nunez SP, Pinho JR, et al. One window-period donation in two years of individual donor-nucleic acid test screening for hepatitis B, hepatitis C and human immunodeficiency virus. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2013; 35(3):167–70. <https://doi.org/10.5581/1516-8484.20130039> PMID: 23904804
25. Kleinman S, King MR, Busch MP, Murphy EL, Glynn SA; National Heart Lung Blood Institute Retrovirus Epidemiology Donor Study; Retrovirus Epidemiology Donor Study-II. The National Heart, Lung, and Blood Institute retrovirus epidemiology donor studies (Retrovirus Epidemiology Donor Study and Retrovirus Epidemiology Donor Study-II): twenty years of research to advance blood product safety and availability. *Transfus Med Rev*. 2012; Oct; 26(4):281–304, 304.e1-2. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2012.04.004> PMID: 22633182
26. Kupek E, Petry A. Comparison of epidemiological methods for estimation of hepatitis B incidence and residual risk for blood donors in southern Brazil. *J Transfus*. 2011; 2011:985383. <https://doi.org/10.4061/2011/985383> PMID: 25346858
27. Tosti ME, Solinas S, Prati D, Salvaneschi L, Manca M, Francesconi M, et al. An estimate of the current risk of transmitting blood-borne infections through blood transfusion in Italy. *Br J Haematol*. 2002 Apr; 117(1):215–9. PMID: 11918558
28. Gonzalez M, Règine V, Piccinini V, Vulcano F, Giampaolo A, Hassan HJ. Residual risk of transfusion-transmitted human immunodeficiency virus, hepatitis C virus, and hepatitis B virus infections in Italy. *Transfusion*. 2005 Oct; 45(10):1670–5. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2005.00576.x> PMID: 16181219
29. Niederhauser C, Schneider P, Fopp M, Ruefer A, Lévy G. Incidence of viral markers and evaluation of the estimated risk in the Swiss blood donor population from 1996 to 2003. *Euro Surveill*. 2005 Feb; 10(2):14–6. PMID: 15735314
30. Servant-Delmas A, Chuteau C, Lefort C, Piquet Y, Chevalere S, Betbeze V, et al. Two cases of transfusion-transmitted hepatitis B virus (HBV) infection in a low-endemic country before implementation of HBV nucleic acid testing. *Transfusion*. 2013 Feb; 53(2):291–6. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2012.03736.x> PMID: 22671296
31. Soldan K, Barbara JA, Ramsay ME, Hall AJ. Estimation of the risk of hepatitis B virus, hepatitis C virus and human immunodeficiency virus infectious donations entering the blood supply in England, 1993-2001. *Vox Sang*. 2003 May; 84(4):274–86. PMID: 12757501
32. Kim MJ, Park Q, Min HK, Kim HO. Residual risk of transfusion-transmitted infection with human immunodeficiency virus, hepatitis C virus, and hepatitis B virus in Korea from 2000 through 2010. *BMC Infect Dis*. 2012 Jul 20; 12:160. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-160> PMID: 22817275
33. Owusu-Ofori S, Temple J, Sarkodie F, Anokwa M, Candotti D, Allain JP. Predonation screening of blood donors with rapid tests: implementation and efficacy of a novel approach to blood safety in resource-poor settings. *Transfusion*. 2005 Feb; 45(2):133–40. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2004.04279.x> PMID: 15660820
34. Vermeulen M, Lelie N, Sykes W, Crookes R, Swanevelder J, Gaggia L, et al. Impact of individual-donation nucleic acid testing on risk of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and hepatitis C virus transmission by blood transfusion in South Africa. *Transfusion*. 2009 Jun; 49(6):1115–25. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2009.02110.x> PMID: 19309474
35. Touré-Fall AO, Diéye TN, Sall A, Diop M, Seck M, Diop S, et al. Residual risk of transmission of HIV and HBV, in Senegalese national blood bank from 2003 to 2005. *Transfus Clin Biol*. 2009 Nov-Dec; 16(5–6):439–43. <https://doi.org/10.1016/j.tracli.2009.09.005> PMID: 19926508

36. Ouattara H, Siransy-Bogui L, Fretz C, Diane KM, Konate S, Koidio A, et al. Residual risk of HIV, HVB and HCV transmission by blood transfusion between 2002 and 2004 at the National Blood Transfusion Center. *TransfusClin Biol*. 2006 Oct; 13(4):242–5.
37. Loua A, Sow EM, Magassouba FB, Camara M, Baldé MA. Evaluation of residual infectious risk among blood donors in National Center of Blood Transfusion in Conakry. *TransfusClin Biol*. 2004 Apr; 11(2):98–100.
38. Farshadpour F, Taherkhani R, Tajbakhsh S, Gholizadeh Tangestani M, Hajiani G, Sharifi N, Et Al. Prevalence And Trends Of Transfusion-Transmissible Viral Infections Among Blood Donors In South Of Iran: An Eleven-Year Retrospective Study. *Plos One*. 2016; 11(6): E0157615. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157615> PMID: 27309959
39. Busch MP. Transfusion-transmitted viral infections: building bridges to transfusion medicine to reduce risks and understand epidemiology and pathogenesis. *Transfusion*. 2006- Sep; 46(9):1624–40. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2006.00957.x> PMID: 16965593
40. Lampe E, Mello FCA, do Espírito-Santo MP, Oliveira CMC, Bertolini DA, Gonçalves NSL, et al. Nationwide overview of the distribution of hepatitis B virus genotypes in Brazil: a 1000-sample multicenter study. *J Gen Virol*. 2017; 98:1389–98. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000789> PMID: 28631602

6. DISCUSSÃO

O desenvolvimento de tecnologias de diagnóstico, tem importância fundamental no controle epidemiológico e clínico do HBV. Os testes moleculares são empregados atualmente como ferramentas de acompanhamento da doença, auxílio no planejamento e acompanhamento terapêutico.

No Brasil, uma proporção considerável de voluntários à doação sanguínea, considera os bancos de sangue lugares convenientes para obter testes gratuitos, e que é aceitável não responder verdadeiramente as perguntas da triagem clínica, uma vez que as infecções serão detectadas com precisão, e as unidades de bolsas infectadas, interditadas (Gonzalez *et al.*, 2010).

Este estudo descreve a prevalência e a incidência da infecção pelo HBV por marcadores sorológicos e moleculares e risco residual de HBV transmitido por transfusão entre doações voluntárias de sangue no norte do Brasil.

Marcadores sorológicos no período de 2013 a 2014 e marcadores moleculares no período de 2015 a 2016 apresentaram prevalências semelhantes nos dois períodos (247 e 251 / 100.000). A prevalência geral de HBV entre doadores de sangue neste estudo foi muito alta quando comparada com outros estudos feitos em serviços de sangue em países desenvolvidos como Canadian Blood Services (97 / 100.000, 2001-2005) (O'Brien *et al.*, 2007), e American Red Cross (70 / 100.000 , 2001-2002). Na Argentina, a prevalência mais atual de HBV em doadores voluntários de sangue foi de 198 / 100.000, taxa menor que a encontrada em nosso estudo (Flichman *et al.*, 2014).

No Brasil, as taxas de prevalência de marcadores de infecção pelo HBV em doadores de sangue mostram números significativos e variam de acordo com o marcador sorológico: 0,14% -0,68% para HBsAg e 2,05% - 6,12% para anti-HBc (Andrade *et al.*, 2006; Nascimento *et al.*, 2008). Um estudo realizado em três bancos de sangue localizados em diferentes cidades do país mostrou diferenças na prevalência da infecção pelo HBV (HBsAg e anti-HBc) em doadores de primeira vez (FT). Em Recife (Nordeste), observou-se maior prevalência de doadores infectados (419 / 100.000), seguida por Belo Horizonte (270 / 100.000) e São Paulo (213 / 100.000), ambas na Região Sudeste (De Almeida-Neto *et al.*, 2013).

Nosso estudo apresentou menor prevalência em relação às cidades do Recife e Belo Horizonte e prevalência maior que a encontrada na cidade de São Paulo. Estes dados são

importantes e alertam as autoridades locais para o fortalecimento da prevenção, proteção e tratamento da Hepatite B.

No Brasil, segundo o Ministério da Saúde, a taxa de prevalência (na presença de sintomas) em 2016 foi estimada em 6,9 por 100.000 habitantes na população geral. No período de 1999 a 2016, foram notificados 212.031 casos confirmados de HBV, sendo a maioria desses casos (HBsAg e anti-HBc) concentrados nas regiões Sudeste (35,5%) e Sul (31,4%), seguidos pelo Norte (14,3%), Região Nordeste (9,4%) e Região Centro-Oeste (9,3%) (Brasil, 2017). Este mesmo relatório mostrou nos últimos dois anos uma crescente notificação de casos principalmente na região norte (Brasil, 2017). No entanto, a ausência de casos de notificação de infecção por HBV, especialmente em regiões menos desenvolvidas do estado, pode se tornar um viés importante nos dados da Região Norte.

Em nosso estudo, foi observada uma maior prevalência de infecção pelo HBV em doadores do sexo masculino com idade superior a 40 anos e com baixo nível escolar. Estes dados estão de acordo com outros estudos em doadores de sangue em todo o mundo (Zou et al., 2009; Patavino et al, 2012; Li et al., 2013; De Almeida-Neto C et al., 2013). A maior prevalência entre doadores do sexo masculino pode estar correlacionada com os aspectos comportamentais adotados por esses doadores. No Brasil, o baixo nível de escolaridade pode estar associado a condições socioeconômicas precárias e acesso mais restrito aos serviços de saúde. Em idades mais avançadas, essa associação pode ser um reflexo de um efeito cumulativo dos riscos comportamentais. A maior prevalência nas doações de substituição está de acordo com resultados encontrados em outros estudos brasileiros (Patavino et al, 2012).

Apesar do aumento da taxa de indivíduos reativos anti-HBs devido ao bem sucedido programa de imunização no Brasil, a adoção do NAT para a triagem de hepatite B nos Centros de Sangue Brasileiros ajudou a prevenir a infecção transmitida por transfusão. No estado de São Paulo, no Hospital Sírio Libanês, havia pacientes infectados pelo HBV (por transfusão de sangue), o que aconteceu através do (período de janela)WP, o HBV-NAT poderia ter interditado essa unidade infecciosa (Wendel et al., 2008). O primeiro caso brasileiro da janela imunológica para o HBV foi identificado por meio de triagem individual do HBV-NAT que identificou um doador pela primeira vez como tendo hepatite B no WP, que não foi liberado para transfusão (Levi et al., 2013).

Foi observado na Fundação HEMOPA que, após a introdução do HBV-NAT na triagem de doadores, a incidência de py aumentou significativamente, provavelmente

devido à maior sensibilidade do HBV-NAT que detectou 3 casos de HBV em doadores em WP, fortalecendo a eficácia do HBV-NAT em relação aos métodos sorológicos, bem como a importância que essa técnica agregou às estratégias para aumentar a segurança transfusional em nossa região.

A introdução do teste de HBV-NAT também permitiu a detecção de 6 casos de hepatite oculta entre as 45.332 amostras de doadores de FT no período de 2015–2016. É apropriado o fornecimento de dados de prevalência desta entidade clínica em doadores de sangue para avaliação do estado de persistência viral, no entanto, a hepatite oculta pode ser transmitida por transfusão principalmente naqueles países que não adotaram o teste anti-HBc na triagem sorológica.

Em relação à taxa de soroconversão do HBV em doadores de RP observou-se que somente durante o período antes do HBV-NAT (2013-2014) houve uma maior taxa de doadores que estavam entre 16-29 anos (a menor prevalência de doadores de FT para o HBV), esses dados podem refletir a necessidade de investir em campanhas de prevenção e vacinação (já que essa faixa etária apresenta comportamento sexual mais ativo), sendo, portanto, a infecção mais comum por HBV.

O risco residual é uma ferramenta estatística muito importante aplicada na hemoterapia para analisar a segurança transfusional, é expressa como a chance de contrair uma certa infecção pelo sangue transfundido. Portanto, as estimativas de risco residual são críticas para monitorar a segurança das transfusões e avaliar o efeito potencial de novos testes de triagem nos Hemocentros (Korelitz et al., 1997; Kleinman et al., 2012). Nosso estudo estimou pela primeira vez o risco residual de transmissão de HBV por transfusão no Norte do Brasil. Os resultados do risco residual mostraram uma redução significativa, de 1: 144,92 para 1: 294,11, devido ao fato de o WP do HBV-NAT ser menor que o WP dos testes sorológicos. Como resultado, esses dados mostraram que houve uma melhora na segurança transfusional em nossa região.

No Brasil, antes da implementação do HBV-NAT, Kupek e co-autores estimaram no sul do país o RR para HBV por diferentes métodos (HBsAg independente, método de rendimento de HBsAg e soroconversões anti-HBc recentes). A RR estimada variou de 1: 30.821 a 1: 62.482 (Kupek et al., 2011).

O risco residual para transmissão por transfusão do HBV encontrado em nosso estudo é muito alto quando comparado aos países desenvolvidos (Zou et al., 2009). Os países das Américas e da Europa são considerados pela OMS como de baixa prevalência

para o HBV (WHO, 2017) Os serviços de sangue estimaram o risco residual antes do HBV-NAT variando de 1: 62.500 a 1: 640.000 e após o HBV-NAT variando de 1: 115.000 a 1: 8.000.000 (Tosti et al., 2002; Soldan et al., 2003; Gonzalez et al., 2005; Niederhauser et al., 2005; Zou et al., 2009; Servant-Delmas et al., 2013). Considerados pela OMS como regiões de média e alta prevalência de infecção pelo HBV, respectivamente, a República da Coreia e o continente africano descreveram o RR antes do HBV-NAT entre 1: 121 e 1: 1.000 e após o HBV-NAT, República da Coreia e a África do Sul, entre 1: 39.956 e 1: 43.666 (Loua et al., 2004; Owusu et al., 2005; Vermeulen et al., 2009; Touré-Fall et al., 2009; Kim et al., 2012; Ouattara et al., 2006).

A transfusão de sangue é considerada um fator de risco potencial para transmissão de infecções virais (Farshadpour et al., 2016) portanto, o primeiro passo para o recrutamento adequado para a segurança do sangue é reduzir o risco de infecções transmitidas por transfusão, evitando a coleta de sangue de doadores de maior risco e prevenir o desperdício de recursos. Em segundo lugar, a eficácia da entrevista pré-doação para eliminar doadores candidatos que se envolvem em comportamentos sexuais de risco. Sendo assim, uma abordagem durante a triagem clínica que poderia, sobretudo, durante o atendimento, conscientizar, esclarecer e sensibilizar o doador sobre a importância do ato, pode reduzir esses riscos (Busch, 2006)

Reconhecemos algumas limitações em nosso estudo. A taxa de soroconversão do HBV pode ter sido subestimada, uma vez que apenas doações com testes confirmatórios positivos foram consideradas no estudo. Este critério adotado em nosso estudo foi capaz de evitar resultados falso-positivos.

Segundo a literatura, o genótipo pode influenciar o WP (Tsoi et al., 2013). Nosso estudo não investigou quais genótipos estavam circulando nesse período em nossa região, no entanto, um estudo recente revelou que os genótipos mais frequentes no Brasil são A (58,7%), D (23,4%) e F (11,3%) (Lampe et al., 2017).

7. CONCLUSÃO

A segurança transfusional no norte do Brasil aumentou significativamente com a implantação do HBV-NAT, contribuindo para uma maior segurança dos hemoderivados produzidos na Fundação HEMOPA. No entanto, as estratégias de recrutamento e seleção de doadores continuam sendo ferramentas importantes que precisam ser melhoradas para garantir, juntamente com os testes de triagem, uma melhor segurança transfusional. Além disso, a plataforma NAT brasileira visa aumentar a sensibilidade do kit, bem como a inclusão de novos alvos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLAIN JP. Occult hepatitis B virus infection: implications in transfusion. **Vox Sang.** 86(2): 83-91, 2004. ^[1]_{SEP}

ALMEIDA, J.D.; RUBENSTEIN, O; SCOTT, E.J. New antigen-antibody system in Australia antigen positive hepatitis. **Lancet** 2:1225-1227, 1971.

ALMEIDA, OBERTALDA SILVA; SANDE, LAYS CARDOSO; SANTOS, VANESSA CRUZ; ANJOS, KARLA FERRAZDOS. Conhecimentos de acadêmicos de enfermagem acerca dos cuidados prestados durante a transfusão de hemocomponentes. **Revista Metáfora Educacional**, Feira de Santana- BA, n. 1, p. 175-189, jul./dez. 2012. Disponível em: <http://www.valdeci.bio.br/pdf/n13_2012/almeida_etal_conhecimento_de_n13_dez12.pdf>. Acesso em: 13 mar 2017.

ALVAREZ M, OYONARTE S, RODRIGUEZ PM, HERNANDEZ JM. Estimated risk of transfusion-transmitted viral infection in Spain. **Transfusion**; 42:994-8, 2002.

AMORIN MC, CAPIBERIBE I, BARBOSA S. Recruitment strategies to change the profile of blood donors in northeast of Brazil of Recife. **Rev Paul Med**;110:18,1992.

ANDRADE AF, OLIVEIRA-SILVA M, SILVA SG, MOTTA IJ, BONVICINO CR. Seroprevalence of hepatitis B and C virus markers among blood donors in Rio de Janeiro, Brazil, 1998-2005. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. 2006; 101:673–676. PMID: 17072482

ARRAES, L. C; SAMPAIO A S, BARRETO S, GUILHERME M S A, LORENZATO F. Prevalência de hepatite B em parturientes e perfil sorológico perinatal. **Revista Brasileira Ginecologia Obstetrícia**.v.25, n.8, p.571-576, 2003.

ARRAES, L. C. XIMENES RICARDO, ANDRIEU JEAN-MARIE, WEI-LU, SILVANA BARRETO, LEILA M.M.B. PEREIRA & ADAUTO CASTELO. The biological meaning of anti-HBC positive result in blood donors: relation to HBV-DNA and to other serological markers. **Revista do Instituto de Medicina tropical de São Paulo**. v.45, n.3, p.137-140, 2003.

ASPINALL EJ, HAWKINS G, FRASER A, HUTCHINSON SJ, GOLDBERG D. Hepatitis B prevention, diagnosis, treatment and care: a review. **Occupational Medicine**; 61:531-54, 2011.

BALMASOVA, I. P, YUSHCHUK, N. D.; MYNBAEV, O. A.; ALLA, N. R.; MALOVA, E. S.; SHI, Z.; GAO, C-L. Immunopathogenesis of chronic hepatitis B. **World J Gastroenterol**, 20(39):14156, 2014.

BARRETO, C.C., SABINO, E.C., GONÇALEZ, T.T., LAYCOCK, M.E., PAPPALARDO, B.L., SALLES, N.A., WRIGHT, D.J., CHAMONE, D.F., BUSCH, M.P. Prevalence, incidence, and residual risk of human immunodeficiency virus among community and replacement first-time blood donors in São Paulo, Brazil. **Transfusion**,45(11): 1709-1714, 2005.

BARRIO M. ALVAREZ DO, R. GONZALEZ DIEZ, SANCHEZ J. M. HERNANDEZ, OYONARTE S. GOMEZ. “Residual risk of transfusion- transmitted viral infections in Spain, 1997-2002, and impact of nucleic acid testing,” **Eurosurveillance**, vol. 10, no. 2, pp. 20–22, 2005.

BHATIA R. Blood transfusion services in developing countries of South-East Asia. **Transfus Today**; 65:4-5, 2005.

BISWAS R, TABOR E, HSIA CC, WRIGHT DJ, LAYCOCK ME, FIEBIG EW, PEDDADA L, SMITH R, SCHREIBER GB. Epstein JS, Nemo GJ, Busch MP: Comparative sensitivity of HBV NATs and HBsAg assays for detection of acute HBV infection. **Transfusion**; 43:788–798, 2003.

BLUMBERG, BS; ALTER, H. J. Precipitating antibodies against a serum protein (australia antigen) in serum of transfused hemophilia patients. **Journal of clinical investigation**, 44 (6), p.1029, 1965.

BLUMBERG BS, GERYSTLEY BJS, Hungerford DA, London WT, Sutnick AI. A serum antigen (Australia antigen) in Down’s syndrome, leukemia and hepatitis. **Ann Int Med** 1967; 66: 924-31. [1] [SEP]

BLUMBERG BS, SUTNICK AI, LONDON WT .Australia antigen and hepatitis. **JAMA** 1969;207: 1895- 1896.

BLUNDELL J. Observations on transfusion of blood by Dr Blundell. With a description of his gravitator. **Lancet**; ii: 321–4, 1828.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria Interministerial no 7 Bsb., de 30 de abril de 1980. Aprova as diretrizes básicas do Programa Nacional de Sangue e Hemoderivados–Pró-Sangue. Define as atribuições da COMART, instituída pela Portaria Interministerial MS/MPAS no 2, de 11 de fevereiro de 1980. **Diário Oficial da União**, Brasília, no 85,8 maio 1980. Seção 1. p.8226-9.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria no 1.376, de 19 de novembro de 1993. Aprova Normas Técnicas para coleta, processamento e transfusão de sangue, componentes e derivados, e dá outras providências. **Diário Oficial da União** Seção I, pág. 109 de 02.12.93.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação Nacional de DST e Aids. **Preparação de Hemocomponentes**, (Série TELELAB), Brasília, 1998.

BRASIL. Triagem Clínica de Doadores de Sangue. – Brasília: Ministério da Saúde, **Coordenação Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids**. 2001. 66p.:il. (Série:TELELAB).Disponível em :http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cd07_20.pdf .Acesso : 12/17.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.^[1]^[SEP] **Manual técnico para investigação da transmissão de doenças pelo sangue** / Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Ministério da Saúde, 2004 .

BRASIL. Ministério da Saúde. **Hepatites Virais: o Brasil está atento**, 3a edição. Brasília, DF, 2008.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) da Agência de Vigilância Sanitária no 154, de 15 junho de 2004. Estabelece o Regulamento Técnico para o funcionamento dos Serviços de Diálise, **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 15 jun. 2004. Disponível em: < <http://portal.anvisa.gov.br/> >. Acesso em: 21 fev 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. 6 ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, p. 415-417, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 1.353, de 13 de junho de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos Hemoterápicos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, Seção 1. p. 27; DF, 14.06.11.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria no 2.712, de 12 de novembro de 2013. Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. **Diário Oficial da União** no 221, de 13 de novembro de 2013d, Seção 1, pág. 106.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria no 25, de 12 de Junho de 2013. Decisão de incorporar o procedimento para possibilitar a testagem de amostra de sangue de doadores pelo teste de amplificação de ácidos nucleicos (NAT) para detecção dos vírus da imunodeficiência humana (HIV) e da hepatite C (HCV) no âmbito do Sistema Nacional de Sangue, Componentes e Hemoderivados no Sistema Único de Saúde - SUS. **Diário Oficial da União**, seção 1, pg. 69; Brasília, DF, 13 de Junho de 2013. ^[1]^[SEP]

BRASIL. Resolução RDC no 56, de 16 de dezembro de 2010. Dispõe sobre o regulamento técnico para o funcionamento dos laboratórios (CPH) provenientes de medula óssea e sangue periférico e bancos de sangue de cordão umbilical e placentário para finalidade de transplante convencional e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Seção 1. p. 113-118; Brasília, DF, 17 dez. 2010a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Gestão do Trabalho e da Educação na Saúde. Departamento de Gestão do Trabalho na Saúde. **Técnico em hemoterapia: livro texto** / Ministério da Saúde, Secretaria de Gestão do Trabalho e da Educação na Saúde, Departamento de Gestão da Educação na Saúde – . 292 p. : il; Brasília : Ministério da Saúde, 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Marco Conceitual de Hemovigilância: guia para Hemovigilância no Brasil**. Brasília: Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/Guia+Hemovigilancia+Marco+conceitual_Anvisa2015.pdf. Acessado em 03/09/2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção a Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. **Manual de orientações para promoção da doação voluntária de sangue** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção a Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. – 1. ed., 1. reimpr. Brasília : Ministério da Saúde, 2015. 152 p. : il.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Boletim epidemiológico – hepatites virais. 2014.** Disponível em <http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2012/51820/boletim_epidemiologico_hepatites_virais_2012_ve_12026.pdf

BRASIL. Constituição Federal (1988). Portaria nº 158, de 4 de fevereiro de 2016. Redefine regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. (online). Brasília, 2016. Disponível em <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2016/prt0158_04_02_2016.htm

BRASIL. Ministério da saúde. **Boletim epidemiológico de hepatites virais N 24, ano V, vol 48, 2017.** Brasília: Secretaria de Vigilância à Saúde, Ministério da Saúde. Available at: http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2017/boletim-epidemiologico-de-hepatites-virais-2017/boletim_hepatites_virais2017_pdf_25238.pdf

BRENER, S; T WALESKA; CAIAFFA; SAKURAI E; FERNANDO A. PROIETTI. Fatores associados à aptidão clínica para a doação de sangue: determinantes demográficos e socioeconômicos. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Santos, SP, v. 30, n. 2, abr. 2008.

BROJER E, GRABARCZYK P, LISZEWSKI G, MIKULSKA M, ALLAIN JP, LETOWSKA M. Polish Blood Transfusion Service Viral Study Group. Characterization of HBV DNA □/HBsAg- blood donors in Poland identified by triplex NAT. **Hepatology**; 44 (6):1666–1674, 2006.

BROWN HM. The beginnings of intravenous medication. **Ann Hist Med**. 1971;1:177-97.

BUSCH GM. Closing the window on viral transmission by blood transfusion. In: SL S, editor. **Blood Savety in the new millenium**. Bethesda, MD, American Association of Blood Banks; 2001. pp. 33–54. ^[11]

BUSCH MP. Transfusion-transmitted viral infections: building bridges to transfusion medicine to reduce risks and understand epidemiology and pathogenesis. **Transfusion**. 2006- Sep;46(9):1624-40.

CAIRUTAS CM. O que corre em nossas veias fragmentos de sua história. Recife: EBGE, 2001.

CANDOTTI D, ALLAIN JP. Molecular virology in transfusion medicine laboratory. **Blood Transfusion**, n. 11, p. 203-16, 2013.

CANUTTI V. JR., “Risco transfusional: metodologia e estudo,” **Atualização em Hemoterapia**, vol. 5, no. 1, pp. 90–99, 1998.

CARDOSO MS, KOERNER K, KUBANEK B. Minipool screening by nucleic acid testing for hepatitis B virus, hepatitis C virus and HIV: preliminary results. **Transfusion**, n.38, p.905-7, 1998.

CARNEIRO AR, LOPES MED. (org.) **Coletânea de Legislação em Hemoterapia e Hematologia**. Rio de Janeiro: SBHH, 2002. p.30-35

CARRAZZONE C, GUSMÃO MO, MELO SAV. Hemocomponentes no programa de transplante de fígado do Hospital Universitário- rio Oswaldo Cruz-UPE. **An Fac Med Univ Fed Pernambuco** 2002;47:18-21.

CARRAZZONE, C. F. V.; BRITO, A.M. DE; GOMES, Y. M. Importância da avaliação sorológica pré-transfusional em receptores de sangue.**Revista Brasileira de Hematologia Hemoterapia**. São José do Rio Preto. 2004, vol.26, n.2

CGSH, Ministério da Saúde. Projeto Piloto – Avaliação preliminar da plataforma brasileira de testes NAT multiplex HIV/HCV e seus processos na rotina de um laboratório da Hemorrede Oficial. Brasília, **(dados não publicados)**, 2009.

CHEVALIEZ, S.; PAWLOTSKY, J. M. Virological techniques for the diagnosis and monitoring of hepatitis B and C. **Ann Hepatol**, v. 8, n. 1, p. 7-12, 2009.^[1]_{SEP}

CHIGURUPATI P, MURTHY K S. Automated nucleic acid amplification testing in blood banks: An additional layer of blood safety. **Asian J Transfus Sci**. 2015; 9:9- 11

COELHO, H. S. M. C. **Gastroenterologia Hepatites**. 1ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2001.

DANE, D. S.; CAMERON, C. H.; BRIGGS, M. Virus-like particles in serum of patients with Australia antigen-associated hepatitis.**Lancet, London**, v. 1, n. 7649, p. 695-698, 1970.

DATTA, S.; CHATTERJEE, S.; VEER, V. Recent advances in molecular diagnostics of hepatitis B virus. **World J Gastroenterol**, v. 20, n. 40, p. 14615-14625, 2014.

DE ALMEIDA-NETO C, SABINO EC, LIU J. Prevalence of Serological Markers for Hepatitis B and C Viruses in Brazilian Blood Donors, and Incidence and Residual Risk of Transfusion-Transmission of Hepatitis C Virus. **Transfusion**. 2013;53(4):827-834.

DE OLIVEIRA, CLAUDIA SUELLEN FERRO. Hepatitis B and C virus infection among Brazilian Amazon riparians'.**Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 2011, Vol. 44, 5

DÉNY, P.; ZOULIM, F. Hepatitis B virus: from diagnosis to treatment. **Pathol Biol (Paris)**, v. 58, n. 4, p. 245-253, 2010.

ELGOUHARI, H. M.; TAMIMI, T. I.; CAREY, W. D. Hepatitis B virus infection: Understanding its epidemiology, course, and diagnosis. **Cleve Clin J Med**, v. 75, n. 12, p. 881-889, 2008.

ELLIS H. Surgical Anniversaries: James Blundell, pioneer of blood transfusion British. **Journal of Hospital Medicine**, Vol 68, No 8. August, 2007.

EUSTÁQUIO, J.M.J., LIMA, G.M., MARTINS, R.A., SOUZA, H.M., MARTINS, P.R.J., Ocorência de doações de sangue com sorologia positiva para o vírus hiv no hemocentro regional de Uberaba (MG) Fundação Hemominas no período de 1995 a 2006. **Rev. de Patologia Tropical**; 38 (2): 73-81: abr-jun, 2009.

FATTOVICH G. Natural History and Prognosis of Hepatites B. **Seminars in Liver Disease**. Volume 23. Number 1, Pág. 47-58. 2003. [L]
[SEP]

FARSHADPOUR F, TAHERKHANI R, TAJBAKHS S, GHOLIZADEH TANGESTANI M, HAJIANI G, SHARIFI N, ET AL. Prevalence and Trends of Transfusion-Transmissible Viral Infections among Blood Donors in South of Iran: An Eleven-Year Retrospective Study. **PLoS One**. 2016; 11(6): e 0157615.

FERREIRA, R. C; TELES SA, DIAS MA, TAVARES VR, SILVA SA, GOMES SA, YOSHIDA CF, MARTINS RM. Hepatitis B virus infection profile in hemodialysis patients in Central Brazil: prevalence, risk factors, and genotypes. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 6, p. 689-692, 2006.

FERREIRA, O; MARTINEZ, EDSON Z.; MOTA, CELSO A. AND SILVA, ANTÔNIO M. Avaliação do conhecimento sobre hemoterapia e segurança transfusional de profissionais de enfermagem. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, Santos**, SP, v. 29, n. 2, p. 160-167, jun. 2007.

FIDLARCZYK, D.; FERREIRA, S. S. O ciclo do sangue. In. **Enfermagem em hemoterapia**. Rio de Janeiro: Medbook Editora Científica Ltda, 2008. p. 17.

FIEBIG EW, WRIGHT DJ, RAWAL BD. Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. **AIDS**. 2003;17, pp.1871-9.

FLICHMAN DM, BLEJER JL, LIVELLARA BI, RE VE, BARTOLI S, BUSTOS JA, et al. Prevalence and trends of markers of hepatitis B virus, hepatitis C virus and human Immunodeficiency virus in Argentine blood donors. **BMC Infect Dis**. 2014 Apr 23; 14:218. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-218> PMID: 24755089 [L]
[SEP]

FLORIZANO, AAT & FRAGA. O de S. Os desafios da enfermagem frente aos avanços da hemoterapia no Brasil. **Rev. Meio Ambiente Saúde** 2007; 2(1): 282-295.

FONSECA JCF. Histórico das Hepatites B e D. In: Sociedade Brasileira de Infectologia. I Consenso da Sociedade Brasileira de Infectologia para o Diagnóstico e Manuseio da Hepatite B (e Delta). **BJID** 2006; 10(Supl. 1): 2-5.

FONSECA JCF. Histórico das hepatites virais. *Rev Soc Bras Med Trop* 2010; 43(3): 322-330. Fundação Hemominas. Cidadão. Disponível em: <http://www.hemominas.mg.gov.br/hemominas/menu/cidadao/doacao/outras_condicoes_doacao>. 2013d.

GANEM, D.; PRINCE, A. M. Hepatitis B virus infection - natural history and clinical consequences. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 350, n. 11, p.1118- 1129, 2004.

GAUDY, C.; MOREAU, A.; BRUNET, S. Subtype B human immunodeficiency virus (HIV) type 1 mutant that escapes detection of fourth-generation immunoassay for HIV infection. **J. clin. Microbiol.**, n. 42, p. 2847-49, 2004.

GENETET, B, ANDREU, G, BIDET, JM. Les quatre époques de la transfusion. In: **Aide Memoire de Transfusion**. France: Ed Flammarion; 1984, p.1-3.

GIACHETT, C, LINNEN JM, KOLK DP, DOCKTER J, GILLOTTE-TAYLOR K, PARK M, HO-SING-LOY M, MCCORMICK MK, MIMMS LT, MCDONOUGH SH. Highly sensitive multiplex assay for detection of human immunodeficiency virus type 1 and hepatitis C virus RNA. **Journal of Clinical Microbiology**, 40(7):2408-2419, 2002.

GLEBE D, BREMER CM. The molecular virology of hepatitis B virus. **Semin Liver Dis**. 2013 May;33(2):103-12.

GLYNN SA, KLEINMAN SH, SCHREIBER GB, BUSCH MP, WRIGHT DJ, SMITH JW, Nass CC, Williams AE. Trends in incidence and prevalence of major transfusion-transmissible viral infections in US blood donors, 1991 to 1996. **Retrovirus Epidemiology Donor Study (REDS)**. *JAMA* 2000;284:229-35.

GONTIJO, HELOISA M. D. O. Doação de sangue: um compromisso social. In: **Cadernos Hemominas: Capacitação de profissionais de agências transfusionais e assistenciais hemoterápicas** / Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais. Belo Horizonte: Fundação Hemominas, 2010. 14 v. p. 2-16.

GONZAGA, S. T. G.; ALMEIDA, M.; DOS ANJOS, M. F. Reflexão ética sobre o conceito de descarte subjetivo de sangue, sua utilização e problemas éticos gerados pelo seu uso, à luz da RDC no 153/2004. **Cadernos/Centro Universitário São Camilo, São Paulo**, v. 2, n. 1, p. 89-98, 2008.

GONZALEZ M, RÈGINE V, PICCININI V, VULCANO F, GIAMPAOLO A, HASSAN HJ. Residual risk of transfusion-transmitted human immunodeficiency virus, hepatitis C virus, and hepatitis B virus infections in Italy. **Transfusion**. 2005 Oct;45(10):1670-5.

GONCALEZ T, SABINO E, SALES N, et al: Human immunodeficiency virus test-seeking blood donors in a large blood bank in Sao Paulo, Brazil. **Transfusion** 2010; 50(8):1806–14.

GONZALEZ R, ECHEVARRIA J. M, AVELLON A., L. BAREA, and E. Castro, “Acute hepatitis B virus window-period blood donations detected by individual-donation nucleic acid testing: a report on the first two cases found and interdicted in Spain,” **Transfusion**, vol. 46, no. 7, pp. 1138– 1142, 2006.

GREENWALT TJ. **A short history of transfusion medicine.**1999;37:550-63.

GREENWALT TJ. Transfusion: the first decade. **Transfusion.** 1999;37(1):91-2.

GUIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 7. ed. – Brasília : **Ministério da Saúde, 2009, Caderno 6, p 23 – 45.**

HATZAKIS, A.; MAGIORKINS, E.; HAIDA, C. HBV virological assessment.**Journal of hepatology**, Copenhagen, v. 44, p. S71-S76, 2006. Supplement 1.

HOU, J.; LIU, Z.; GU, F. Epidemiology and Prevention of Hepatitis B Virus Infection.International. **Journal of Medical Sciences**, Australia, v. 2, n. 1, p. 50-57, 2005.

HOUREFAR MK, JORK C, SCHOTTSTEDT V. Experience of German Red Cross blood donor services with nucleic acid test- ing: results of screening more than 30 million blood donations for human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus. **Transfusion** 2008; 48:1558-66.

HUNT, C. M, MCGILL JM, ALLEN MI, CONDREAY LD. Clinical relevance of hepatitis B viral mutations. **Hepatology**, v. 31, p. 1037-1044, 2000.

ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses) 2015. In: Virus Taxonomy: 2016. Disponível em: < <http://ictvonline.org/virustaxonomy.asp>>. Acesso em: 05 de setembro de 2017.

JILG W, SIEGER E, ZACHOVAL R, SCHÄTZL H. Individuals with antibodies against hepatitis B core antigen as the only serological marker for hepatitis B infection: high percentage of carriers of hepatitis B and C virus. **J Hepatol.** 1995;23(1):14–20.

JINDA, A.; KUMAR, M.; SARIN, S. K. Management of acute hepatitis B and reactivation of hepatitis B. **Liver Int**, v. 33, p. 164-175, 2013.

JUNQUEIRA PC. **O essencial da transfusão de sangue.** 1a ed. São Paulo, Andrei Editora, 1979. 356p.

JUNQUEIRA PC, ROSEMBLIT J, HAMERSCHLAK N. História da Hemoterapia no Brasil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. 2005; 27(3): 201-207.

KAO, J.; CHEN, P.; LAI, M.; CHEN, D. Occult Hepatitis B Virus Infection and Clinical Outcomes of Patients with Chronic Hepatitis C. **Journal of Clinical Microbiology**. v.40, n.11, p. 4068-71, nov. 2002.

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

KAPLAN, P. M, RICHARD L. GREENMAN, JOHN L. GERIN, ROBERT H. PURCELL, AND WILLIAM S. ROBINSON. DNA Polymerase associated with human hepatitis B antigen. **Journal of Virology**, Baltimore, v. 12, n. 5, p. 995-1005, 1973.

KARAYIANNIS, P. Hepatitis B virus: old, new and future approaches to antiviral treatment. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.51, n.4, p.761-785, 2003.

KATSURAGAWA, TONY HIROSHI. Alta soroprevalência dos marcadores das hepatites B e C na região do alto rio Madeira, Porto Velho, Rondônia, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**. 2, 2010, Vol. 1, pp. 91-96. [L]
[SEP]

KEW, M. C. Hepatitis B virus x protein in the pathogenesis of hepatitis B vírus induced hepatocellular carcinoma. **J Gastroenterol Hepatol**, 26 Suppl 1:144-52. 2011 .

KIDD-LJUNGGREN, K.; MIYAKAWA, Y.; KIDD, A. H. Genetic variability in hepatitis B viruses. **J Gen Virol**, v. 83, p. 1267-1280, 2002.

KIM MJ, PARK Q, MIN HK, KIM HO. Residual risk of transfusion-transmitted infection with human immunodeficiency virus, hepatitis C virus, and hepatitis B virus in Korea from 2000 through 2010. **BMC Infect Dis**. 2012 Jul 20;12:160.

KLEINMAN, S. H; STRONG DM, TEGTMEIER GG, HOLLAND PV, GORLIN JB, COUSINS C, CHIACCHIERINI RP, PIETRELLI LA. Hepatitis B virus (HBV) DNA screening of blood donations in minipools with the COBAS AmpliScreen HBV test. **Transfusion**, v.45, p.1247-1257, 2005.

KLEINMAN SH, BUSCH MP. Assessing the impact of HBV NAT on window period reduction and residual risk. **J Clin Virol** 2006;35 Suppl 1:S34-40.

KLEINMAN S, M. R. KING, BUSCH M. P, MURPHY E. L, GLYNN S. A, and The National Heart Lung Blood Institute Retrovirus Epidemiology Donor Study and Retrovirus Epidemiology Donor Study-II, "The National Heart, Lung, and Blood Institute retrovirus epidemiology donor studies (Retrovirus Epidemiology Donor Study and Retrovirus Epidemiology Donor Study- II): twenty years of research to advance blood product safety and availability," **Transfusion Medicine Review**, vol. 26, no. 4, pp. [L]
[SEP] 281–304, 2012. [L]
[SEP]

KORELITZ J. J., M. P. BUSCH, S. H. KLEINMAN Williams AE, GILCHER RO, OWNBY HE, SCHREIBER GB. 'A method for estimating hepatitis B virus incidence rates in volunteer blood donors'. National Heart, Lung, and Blood Institute Retrovirus Epidemiology Donor Study. **Transfusion**, vol. 37, não. 6, pp. 634- 640, 1997.

KUHNS, M.C.; BUSCH M.P. New strategies for blood donors screening for hepatitis B virus. **Molecular Diagnostic Therapy**, v.10, n.2, p.77-91, 2006.

KUPEK EMIL . Transfusion risk for hepatitis B, hepatitis C and HIV in the state of Santa Catarina, Brazil, 1991-2001. **Braz J Infect Dis**. 2004 Jun;8(3):236-40. Epub 2004 Sep 29.

KUPEK EMIL; PETRY ANDREA. Comparison of Epidemiological Methods for Estimation of Hepatitis B Incidence and Residual Risk for Blood Donors in Southern Brazil. SAGE-Hindawi Access to Research **Journal of Transfusion** Volume 2011, Article ID 985383, 8 pages doi:10.4061/2011/985383.

KUPEK EMIL AND PETRY ANDREA. Changes in the prevalence, incidence and residual risk for HIV and hepatitis C virus in Southern Brazilian blood donors since the implementation of NAT screening. **Rev Soc Bras Med Trop**. 2014 Jul;47(4):418-25.

KWON, S. Y.; LEE, C. H. Epidemiology and prevention of hepatitis B virus infection. **Korean J Hepatol**, v. 17, p. 87-95, 2011.

LAMPE E, MELLO FCA, DO ESPÍRITO-SANTO MP, ET al. Nationwide overview of the distribution of hepatitis B virus genotypes in Brazil: a 1000-sample multicenter study. **J Gen Virol**. 2017;

LEVI JE, PEREIRA R A D, PONDÉ RA, PETRY A, BENATI FJ, MELO CP. Experiência multicêntrica brasileira com triagem molecular de doadores de sangue. **Rev. Bras. Hematol Hemoter**, 2011; 33 (Supl.2):401. (abstract 0968).

LEVI JE, PEREIRA RA, POLITE MB, MOTA MA, NUNEZ SP, PINHO JR, ET AL. One window-period donation in two years of individual donor-nucleic acid test screening for hepatitis B, hepatitis C and human immunodeficiency virus. **Rev Bras Hematol Hemoter**. 2013; 35(3):167-70.

LIANG, T. J. Hepatitis B: The virus and disease. **Hepatology**, v. 49, suppl 5, p. S13-21, 2009.

Li W1, Gao Z, Yang C, Li J, Li L, Lv R, et al. The Estimation of Prevalence, Incidence, and Residual Risk of Transfusion-Transmitted Human Hepatitis B Infection from Blood Donated at the Anhui Blood Center, China, from 2009 to 2011. **Plos One**. 2013; 8:e73472. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073472> PMID: 24058476

LINDEBOOM GA. The history of a blood transfusion to a pope. **J Hist Med**. 1954;9:455-9.

LOCARNINI, S, HATZAKIS A, CHEN DS, LOK A. Strategies to control hepatitis B: Public policy, epidemiology, vaccine and drugs. **J Hepatol**, v. 62, n. 1S, p. S76-S86, 2015. [L] [SEP]

LOK AS, MCMAHON BJ. Chronic hepatitis B. **Hepatology**. 2007;45:507-39. [L] [SEP]

LOPES, TAÍS GARDENIA SANTOS LEMOS E SCHINORI, MARIA ISABEL. Aspectos gerais da hepatite B. **Revista de ciências médicas e biológicas**. 10, 2011, Vol. 3, pp. 337-44.

LOUA A, SOW EM, MAGASSOUBA FB, CAMARA M, BALDÉ MA. Evaluation of residual infectious risk among blood donors in National Center of Blood Transfusion in Conakry. *TransfusClin Biol*. 2004 Apr;11(2):98-100.

MAGNIUS LO, ESPMARK JA. A new antigen complex co-occurring with australia antigen. **Acta Pathol Microbiol Scand** 1972; 80: 335-7. [L] [SEP]

MANDELL, GERARD L; BENNETT, JOHN E; DOLIN R. MANDELL, DOUGLAS AND BENNETS. **Principles and practice of infectious diseases**. 7th Edition. New York: Churchill Livingstone; 2010. [L] [SEP]

MARESCH C., P. J. SCHLUTER, A. D. WILSON, AND A. SLEIGH, “Residual infectious disease risk in screened blood transfusion from a high-prevalence population: santa Catarina, Brazil,” **Transfusion**, vol. 48, no. 2, pp. 273–281, 2008.

MCMAHON BJ. **Epidemiology and natural history of hepatitis B. Semin Liver Dis.**;25(Suppl 1):3-8, 2005.

MELO, F. C. A; ISOLANI, A. P. Hepatite B e C: Do Risco de Contaminação por Materiais de Manicure/Pedicure à Prevenção. **R. Saúde e Biol.**, Campo Mourão, v. 6, n. 2, p. 72-78, maio./ago. 2011.

MENDES, T. DE FIGUEIREDO; PITELLA, ANA MARIA. *Recentes Avanços em Hepatites*. São Paulo, Fundo Editorial BYK, 1994.

MIGUEL, J.C.; Avaliação da imunogenicidade de vacina recombinante brasileira (Butang) contra hepatite B entre crianças do Rio de Janeiro. Dissertação (**Mestrado em Biologia Parasitária**) – Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro (RJ), 2005.

MINEGISHI K, YOSHIKAWA A, KISHIMOTO S. Japanese Red Cross NAT Screening Research Group. Superiority of minipool nucleic acid amplification technology for hepatitis B virus over chemiluminescence immunoassay for hepatitis B surface antigen screening. **Vox Sang**. 2003; 84(4):287–291.

MOURA, A.S., MOREIRA, C.T., MACHADO, C.A, VASCONCELOS NETO, J.A., MACHADO, M.F.A.S., Doador de Sangue Habitual e Fidelizado: Fatores Motivacionais de Adesão ao Programa, **RBPS**, 19 (2): 61-67, 2006.

NASCIMENTO MC, MAYAUD P, SABINO EC, TORRES KL, FRANCESCHI S. Prevalence of hepatitis B and C serological markers among first-time blood donors in Brazil: a multi-center serosurvey. **J Med Virol.** 2008; 80(1):53–7. <https://doi.org/10.1002/jmv.21046> PMID: 18041005 [L]_[SEP]

NEBBIA G, PEPPA D, MAINI MK. Hepatitis B infection: current concepts and future challenges. **Qjm.** 2012 Feb;105(2):109-13. [L]_[SEP]

NETO, VA. Atualizações, orientações e sugestões sobre imunizações. 1a ed. São Paulo: **Segmento Farma**, 2011. 564p. [L]_[SEP]

NIEDERHAUSER C, P. SCHNEIDER, M. FOPP, RUEFER A., and G. Levy, “Incidence of viral markers and evaluation of the estimated risk in the Swiss blood donor population from 1996 to 2003,” **Euro Surveillance**, vol. 10, no. 2, pp. 14–16, 2005.

NUNES, HELENA FERREIRA. Responsabilidade civil e a transfusão de sangue. 2010. 194 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5167/tde-03092010-121418/pt-br.php>>. Acesso em: 10 dez. 2017.

O'BRIEN SF, YI QL, FAN W, SCALIA V, KLEINMAN SH, VAMVAKAS EC. Current incidence and estimated residual risk of transfusion-transmitted infections in donations made to Canadian Blood Services. **Transfusion.** 2007 Feb;47(2):316-25.

OKOCHIK, MURAKAMI S. Observations on Australia antigen in Japanese. **Vox Sang;** 15 (5): 374-85, 1968.

OUATTARA H, SIRANSY-BOGUI L, FRETZ C, DIANE KM, KONATE S, KOIDIO A, ET AL. Residual risk of HIV, HVB and HCV transmission by blood transfusion between 2002 and 2004 at the National Blood Transfusion Center. **Transfus Clin Biol.** 2006 Oct;13(4):242-5.

OWUSU-OFORI S, J. SARKODIE TEMPLE, F, M. ANOKWA, D. [L]_[SEP]CANDOTTI, AND J. P. ALLAIN, “Predonation screening of blood donors with rapid tests: implementation and efficacy of a novel approach to blood safety in resource-poor settings,” **Transfusion**, vol. 45, no. 2, pp. 133–140, 2005.

PARANÁ, RAYMUNDO, VITVITSKI, LUDMILA E PEREIRA, JOÃO EDUARDO. Hepatotropic Viruses in the Brazilian Amazon: A Health Threat. **Brazilian Journal of Infectious Diseases.** 12, Junho de 2008, pp. 253-256. [L]_[SEP]

PATAVINO GM, DE ALMEIDA-NETO C, LIU J, WRIGHT DJ, MENDRONE-JUNIOR A, FERREIRA MI. Number of recent sexual partners among blood donors in Brazil: associations with donor demographics, donation characteristics, and infectious disease markers. **Transfusion.** 2012; Jan;52(1):151-9.

PEREIRA, R.S.M.R., REIBNITZ, K.S., MARTINI, J.G., NITSCHK, R.G., Doação de sangue: solidariedade mecânica versus solidariedade orgânica, **Rev Bras Enferm**, Brasília, mar-abr; 63(2): 322-7, 2010.

PEREIRA, L. M. CM, MERCHÁN-HAMANN E, MONTARROYOS UR, BRAGA MC, DE LIMA ML, CARDOSO MR, TURCHI MD, COSTA MA, DE ALENCAR LC, MOREIRA RC, FIGUEIREDO GM, XIMENES RA. Population-Based Multicentric Survey of Hepatitis B Infection and Risk Factor Differences among Three Regions in Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 81, n. 2, p. 240-247, 2009.

PILLONEL J, LAPERCHÉ S. Trends in risk of transfusion-transmitted viral infections (HIV, HCV, HBV) in France between 1992 and 2003 and impact of nucleic acid testing (NAT). **Euro Surveill**;10:5-8, 2005.

PIMENTEL, M. A. A Questão do Sangue: rumos das políticas públicas de hemoterapia no Brasil e no exterior, 2006. Tese (doutorado em saúde coletiva)-**Instituto de Medicina Social, Universidade do Estado do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, 2006.

PIROTH, L. BINQUET C, VERGNE M, MINELLO A, LIVRY C, BOUR JB, BUISSON M, DUONG M, GRAPPIN M, PORTIER H, CHAVANET P. The evolution of hepatitis B virus serological patterns and the clinical relevance of isolated antibodies to hepatitis B core antigen in HIV infected patients. **J Hepatol**, v. 36, n. 5, p. 681-6, May 2002.

PONDÉ RA A. Atypical serological profiles in hepatitis B virus infection. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**. 2013;32(4):461-76.

R. REDDY, M. VERMEULEN, N. LELIE, SYKES W; “Impact of individual- donation nucleic acid testing on risk of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and hepatitis C virus transmission by blood transfusion in South Africa,” **Transfusion**, vol. 49, no. 6, pp. 1115–1125, 2009.^[1]_{SEP}

REESINK HW, ENGELFRIET CP, HENN G. Occult hepatitis B infection in blood donors. **Vox Sang**. 2008;94(2):153–166.

REGAN F, TAYLOR C. Recent developments. Blood transfusion medicine. **BMJ** 2002;323:43-147. Reuben, A. Landmarks in hepatology: the thin red line. **Hepatology**, Geneva, v. 36, n. 3, p. 770-773, 2002.

REUBEN, A. Landmarks in hepatology: the thin red line. **Hepatology**, v. 36, n.5, p.770-773, 2002.

ROSSI EC, SIMON TL, MOSS GS. Transfusion in transition. **In: Principles of transfusion medicine**. Baltimore: Williams & Wilkins; 1991. p. 1.

ROTH WK, BUSCH MP, SCHULLER A. International survey on NAT testing of blood donations: expanding implementation and yield from 1999 to 2009. **Vox Sang**; 102:82-90, 2012.

ROTH WK, WEBER M, PETERSEN D. NAT for HBV and anti-HBC testing increase blood safety. **Transfusion**, 42(7):869–875, 2002.

ROTMAN Y, BROWN TA, HOOFNAGLE JH. Evaluation of the patient with hepatitis B. **Hepatology**, May;49(5 Suppl):S22-7, 2009.

SABINO EC, GONCALEZ TT, CARNEIRO- PROIETTI AB: Human immunodeficiency virus prevalence, incidence and residual risk of transmission by transfusion at retrovirus Epidemiology Donor Study-II blood centers in Brazil. **Transfusion**; 52:870–879, 2012.

SALLES NA, SABINO EC, BARRETO CC, BARRETO AM, OTANI MM, CHAMONE DAF. The discarding of blood units and the prevalence of infectious diseases in donors at the Pro-Blood Foundation/Blood Center of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil. **Rev Panam Salud Publica**, 13(2-3): 111-6, 2003.

SANTOS, L. A. C.; MORAES, C.; COELHO V. S. P.. A hemoterapia no Brasil de 64 a 80. **Physis, Rio de Janeiro**, v.1, n.1, p.161-182, 1991.

SANTOS, L. G. **Hemope e Pró-sangue: duas decisões, um caminho**. Recife: Edupe, 2002.

SARAIVA, JOÃO C. P.; OTTA, MARCIA I. Preservação do sangue e componentes. **Int. Hemoterapia fundamentos e práticas**. São Paulo. Editora Atheneu, p. 107-114, 2007.

SATAKE M, TAIRA R, YUGI H. Infectivity of blood components with low hepatitis B virus DNA levels identified in a lookback program. **Transfusion**, 47(7):1197–1205, 2007. [L]
[SEP]

SATO S, OHHASHI W, IHARA H, SAKAYA S, KATO T, IKEDA H. Comparison of the sensitivity of NAT using pooled donor samples for HBV and that of a serologic HBsAg assay. **Transfusion**, 41(9):1107–1113, 2001.

SAÚDE, Departamento de Gestão da Educação na Saúde – Brasília : **Ministério da Saúde**, 292 p. : il, 2013.

SCHMID, R. History of viral hepatitis: a tale of dogmas and misinterpretations. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, Melbourne, v. 16, n. 7, p. 718-722, 2001.

SCHREIBER G. B, BUSCH M. P, KLEINMAN S. H. e KORELITZ J. J., " The risk of transfusion-transmitted viral infections. The Retrovirus Epidemiology Donor Study. " **New England Journal of Medicine**, vol. 334, no. 26, pp. 1685-1690, 1996.

SEED CR, CHANG A, ISMAY SL. Assessing the accuracy of three viral risk models in predicting the outcome of implementing HIV and HCV NAT donor screening in Australia and the implications for future HBV NAT. **Transfusion**, 42:1365–1372, 2002.

SERVANT-DELMAS A, CHUTEAU C, LEFORT C, PIQUET Y, CHEVALEYRE S, BETBEZE V, ET AL. Two cases of transfusion-transmitted hepatitis B virus (HBV) infection in a low-endemic country before implementation of HBV nucleic acid testing. **Transfusion**. 2013 Feb;53(2):291-6.

SHAPIRO, C. N. Epidemiology of hepatitis B. **The Pediatric Infectology Diseases Journal, Basel**, v. 12, n. 5, p. 433-437, 1993.

SHIFFMAN ML. Management of acute hepatitis B. *Clin Liver Dis*. 2010;14(1):75-91.
Shire, N. J. Rouster SD, Rajicic N, Sherman KE. Occult hepatitis B in HIV-infected patients. **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 36, n. 3, p. 869-75, Jul 1 2004.

SILVA JUNIOR, JOÃO B.; RATTNER, DAPHNE. Segurança Transfusional: um método de Vigilância Sanitária para avaliação de riscos potenciais em serviços de hemoterapia. **Vig Sanit Debate**, v. 2, p.43-52, 2014. Disponível em: <<http://www.visaemdebate.incqs.fiocruz.br/index.php/visaemdebate/article/view/126/114>>. Acesso em: 12 jan. 2017.

SINTRA, **Conferência de Consenso Sobre Hepatites B e C**, 2003.

SOLDAN K, J. A. J. BARBARA, M. E. RAMSAY, AND A. J. HALL. “Estimation of the risk of hepatitis B virus, hepatitis C virus and human immunodeficiency virus infectious donations entering the blood supply in England, 1993–2001,” **Vox Sanguinis**, vol. 84, no. 4, pp. 274–286, 2003.

SOLDAN K, K. DAVISON, AND B. DOW. “Estimates of the frequency of HBV, HCV, and HIV infectious donations entering the blood supply in the United Kingdom, 1996 to 2003,” **Euro Surveillance**, vol. 10, no. 2, pp. 17–19, 2005.

SOMMESE L, IANNONE C, CACCIATORE F, DE IORIO G, NAPOLI C. Comparison Between Screening and Confirmatory Serological Assays in Blood Donors in a Region of South Italy. **J Clin Lab Anal**. 2014

SOUTO, FRANCISCO JOSÉ DUTRA. Distribution of hepatitis B infection in Brazil: the epidemiological situation at the beginning of the 21 st century. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba , v. 49, n. 1, p. 11-23, Feb. 2016.

SPEERS, DJ. Clinical applications of molecular biology for infectious diseases. **The Clinical Biochemist Reviews**, 27:39-51, 2006.

STOLZ M, TINGUELY C, GRAZIANI M. Efficacy of individual nucleic acid amplification testing in reducing the risk of transfusion-transmitted hepatitis B virus infection in Switzerland, a low endemic region. **Transfusion**, 50(12):2695–2706, 2010.

STRAMER SL, GLYNN SA, KLEINMAN SH. Detection of HIV- 1 and HCV infections among antibody-negative blood donors by nucleic acid-amplification testing. **N Engl J Med** 351:760-8, 2004.

TABUCHI A, TANAKA J, KATAYAMA K. Titration of hepatitis B virus infectivity in the sera of pre-acute and late-acute phases of HBV infection: transmission experiments to chimeric mice with human liver repopulated hepatocytes. **J Med Virol.** 2008;80(12):2064–2068.

TAIRA R, SATAKE M, MOMOSE S. “Residual risk of transfusion-transmitted hepatitis B virus (HBV) infection caused by blood components derived from donors with occult HBV infection in Japan,” **Transfusion**, 2012.^[11]_[SEP]

TANI Y, H. ASO, H. MATSUKURA. “Significant background rates of HBV and HCV infections in patients and risks of blood transfusion from donors with low anti-HBc titres or high anti- HBc titres with high anti-HBs titres in Japan: a prospective, individual NAT study of transfusion-transmitted HBV, HCV and HIV infections,” **Vox Sanguinis**, vol. 102, no. 4, pp. 285–293, 2012.^[11]_[SEP]

TSOI WC, LELIE N, LIN CK. Enhanced detection of hepatitis B virus in Hong Kong blood donors after introduction of a more sensitive transcription-mediated amplification assay. **Transfusion**. 2013; 53:2477-88.

TIOLLAIS P, POURCEL C. The hepatitis B virus. **Nature** 317: 489-95, 1995.

TORRES C, LEONE FG, PEZZANO SC, MBAYED VA, CAMPOS RH. New perspectives on the evolutionary history of hepatitis B virus genotype F. **Mol Phylogenet Evol** 59: 114-122, 2011.

TOSTI ME, SOLINAS S, PRATI D, SALVANESCHI L, MANCA M, FRANCESCONI M, ET AL. An estimate of the current risk of transmitting blood-borne infections through blood transfusion in Italy. **Br J Haematol**. 2002 Apr;117(1):215-9.

TOURÉ-FALL AO, DIÈYE TN, SALL A, DIOP M, SECK M, DIOP S, ET AL. Residual risk of transmission of HIV and HBV, in Senegalese national blood bank from 2003 to 2005. **Transfus Clin Biol**. 2009 Nov-Dec;16(5-6):439-43.

TRÉPO, C.; CHAN, H. L.; LOK, A. Hepatitis B virus infection. **The Lancet**, v. 384, n. 9959, p. 2053-2063, 2014.

VAZ, ADELAIDE J; KIOKOTAKEY; EDNEIA CASAGRANDE BUENO. **Imunoensaios – Ciências farmacêuticas fundamentos e Aplicações** p.244; 2007 .

VERAN, MIRELA PEZZINI. Funções do enfermeiro no ciclo do sangue. 118 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012. Disponível em: <<http://www.ppgenf.ufpr.br/Disserta%C3%A7%C3%A3oMirelaPezziniVeran.pdf>>. Acesso em: 15.11.17

VERMEULEN M, LELIE N, SYKES W, CROOKES R, SWANEVELDER J, GAGGIA L, ET AL. Impact of individual-donation nucleic acid testing on risk of human

immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and hepatitis C virus transmission by blood transfusion in South Africa. **Transfusion**. 2009 Jun;49(6):1115-25.

VERMEULEN, M.; LELIE, N.; REDDY, R. Recent insights in testing for transfusion transmissible viral infections. **ISBT Science Series**, 2011.n.6, p.229-233.

VERMEULEN M, DICKENS C, LELIE N, WALKER E, COLEMAN C, KEYTER M, ET AL. Hepatitis B virus transmission by blood transfusion during 4 years of individual-donation nucleic acid testing in South Africa: Estimated and observed window period risk. **Transfusion**. 2012; 52:880–892. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2011.03355.x> PMID: 21981386 [SEP]

VILLAR LM, CRUZ HM, BARBOSA JR, BEZERRA CS, PORTILHO MM, SCALIONI L de P . Update on hepatitis B and C virus diagnosis. **World J Virol**.2015;4(4):323-42.

VOLPATO, S. E., FERREIRA, J. DOS S., FERREIRA, V.L.P.C., FERREIRA, D.C. Transfusão de concentrado de hemácias na unidade de terapia intensiva, **Rev Bras Ter Intensiva**, 21(4):391-397, 2009.

VYAS, G. N; YEN, T. S. B. Hepatitis B Virus: Biology, Pathogenesis, Epidemiology, Clinical Description, and Diagnosis. In: Specter S (Ed). *Viral Hepatitis: Diagnosis, Therapy, and Prevention*. New Jersey: **Humana Press**, p.35-50, 1999.

WANG J, LIU J, YAO F. Prevalence, incidence, and residual risks for transfusion-transmitted human immunodeficiency virus Types 1 and 2 infection among Chinese blood donors. **Transfusion**; 53:1240–1249, 2013.

WEBER, B. MELCHIOR W, GEHRKE R, DOERR HW, BERGER A, RABENAU H. Hepatitis B virus markers in anti-HBc only positive individuals. **J Med Virol**, v. 64, n. 3, p. 312-9, Jul 2001.

WENDEL S, LEVI JE, BIAGINI S, CANDOTTI D, ALLAIN JP. A probable case of hepatitis B virus transfusion transmission revealed after a 13-month-long window period. **Transfusion**. Aug;48(8):1602-8, 2008 .

WHO (World Health Organization). Department of Essential Health Technologies Blood Transfusion Safety. Universal Access to Safe Blood Transfusion. **Geneve**, 2008.

WHO (World Health Organization). Screening Donated Blood for Transfusion-Transmissible Infections: Recommendations. **Geneva**; 2009. ISBN-13: 978- 92-4-154788-8.

WHO (World Health Organization). Expert Group. Expert Consensus Statement on achieving self-sufficiency in safe blood and blood products, based on voluntary non-remunerated blood donation (VNRBD). **Vox Sang**; 103:337–342, 2012.

WHO (World Health Organization). **Global hepatitis report**. WHO 2017; Available at <http://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/>. **Publication**: April 2017.

WHO (World Health Organization). Guidelines for the prevention, care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection. **WHO**; 2017.

YANG Z, XU L, LIU L, FENG Q, ZHANG L, MA W. Routine screening of blood donations at Qingdao central blood bank, China, for hepatitis B virus (HBV) DNA with a real-time, multiplex nucleic acid test for HBV, hepatitis C virus, and human immunodeficiency virus Types 1 and 2. **Transfusion**, 53(10):2538-2544, 2013.

ZOU S, STRAMER SL, NOTARI EP. Current incidence and residual risk of hepatitis B infection among blood donors in the United States. **Transfusion**, 49:1609–20. [PubMed: 19413732] , 2009.

ZOU S, DORSEY KA, NOTARI EP. Prevalence, incidence, and residual risk of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus infections among United States blood donors since the introduction of nucleic acid testing. **Transfusion**, 50:1495–504. [PubMed: 20345570] , 2010.

ZOU S, DORSEY KA, NOTARI EP, FOSTER GA. Prevalence, incidence, and residual risk of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus infections among United States blood donors since the introduction of nucleic acid testing. **Transfusion**, Jul;50(7):1495-504, 2010.

ZOU S, S. L. STRAMER, AND R. Y. DODD, “Donor testing and risk: current prevalence, incidence, and residual risk of transfusion- transmissible agents in US allogeneic donations,” **Transfusion Medical Review**, vol. 26, no. 2, pp. 119–128, 2012.

9. ANEXO

Anexo1 : Fluxo de Possíveis resultados sorológicos e NAT obtidos na triagem laboratorial de doadores de sangue para Hepatite B e ações referentes às amostras e aos doadores (Orientação : MS)

MINISTÉRIO DA SAÚDE SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO HOSPITALAR E URGÊNCIA COORDENAÇÃO-GERAL DE SANGUE E HEMODERIVADO				
HBsAg	Anti-HBc	NAT HBV	Possível Interpretação	Ação
Não Reagente	Não Reagente	Não Detectável	Ausência de infecção pelo HBV	Liberar os hemocomponentes
Reagente	Reagente	Detectável	Infecção pelo HBV ativa	Descartar hemocomponentes e convocar o doador para nova amostra e/ou orientação.
Reagente	Reagente	Não detectável	Baixa Sensibilidade do teste por carga viral baixa, mutação do HBV impossibilitando a detecção pelo Kit, ou ausência de DNA circulante	Repetir o NAT individualmente com a amostra da doação e encaminhar amostra/bolsa de plasma para Bio-manguinhos para avaliar possíveis mutações, sensibilidade do teste, ou possível ausência de DNA circulante com quantificação da carga viral na amostra. Descartar demais hemocomponentes e convocar o doador para nova amostra e /ou orientação.
Reagente	Não Reagente	Não detectável	Baixa Sensibilidade do teste por carga viral baixa, mutação do HBV impossibilitando a detecção pelo Kit, ou ausência de DNA circulante	Repetir o NAT individualmente com a amostra da doação e encaminhar amostra/bolsa de plasma para Bio-manguinhos para avaliar possíveis mutações, sensibilidade do teste, ou possível ausência de DNA circulante com quantificação da carga viral na amostra. Descartar demais hemocomponentes e convocar o doador para nova amostra e /ou orientação.
Não Reagente	Reagente	Não Detectável	Se resultado individual “Não Detectável” cicatriz sorológica, provavelmente doador com altos títulos de anti-HBsAg. Se resultado individual “Detectável”, provavelmente baixa sensibilidade do teste por carga viral baixa.	Repetir, se possível, o NAT individualmente com a amostra da doação. Caso resultado individual seja “Não Detectável”, descartar hemocomponentes e convocar o doador para nova amostra e/ou orientação. Caso o resultado individual seja “Detectável”, informar Bio-Manguinhos e enviar amostra/bolsa de plasma para avaliação. Os SIT-NAT que conseguirem repetir a amostra individualmente, devem encaminhar para Bio-Manguinhos aquelas que apresentarem resultado individual “Detectável”. Descartar demais hemocomponentes e convocar o doador para nova amostra e/ou orientação.
Reagente	Não Reagente	Detectável	Infecção recente pelo HBV ou baixa resposta imune do doador.	Descartar hemocomponentes e convocar o doador para nova amostra e/ou orientação.
Não Reagente	Reagente	Detectável	Provavelmente infecção recente pelo HBV com baixa sensibilidade do teste HBsAg ou HBV mutante com teste HBsAg falso negativo por incapacidade de detecção.	Descartar hemocomponentes e convocar o doador para nova amostra e/ou orientação.
Não Reagente	Não Reagente	Detectável	Provável janela imunológica detectada pelo NAT HBV.	Enviar amostra/bolsa de plasma para Bio-Manguinhos.