

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

LEYLA GABRIELA VERNER AMARAL BRANDÃO

**PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DO VÍRUS DA HEPATITE B EM
ADULTOS E IDOSOS DE UM MUNICÍPIO DE PEQUENO PORTE DE
GOIÁS**

GOIÂNIA, 2019

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES
NA BIBLIOTECADIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9.610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Dissertação:

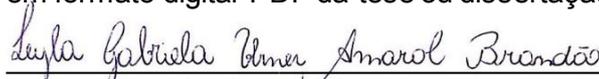
Nome completo da autora: **Leyla Gabriela Verner Amaral Brandão**

Título do trabalho: **Perfil epidemiológico do vírus da hepatite B em adultos e idosos de um município de pequeno porte de Goiás.**

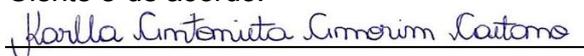
3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento: SIM NÃO¹

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


Assinatura da autora²

Ciente e de acordo:


Assinatura da orientadora²

Data: 11/03/2019

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

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

² A assinatura deve ser escaneada.

LEYLA GABRIELA VERNER AMARAL BRANDÃO

**PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DO VÍRUS DA HEPATITE B EM
ADULTOS E IDOSOS DE UM MUNICÍPIO DE PEQUENO PORTE DE
GOIÁS**

*Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-graduação em Enfermagem
da Faculdade de Enfermagem da Universidade
Federal de Goiás para obtenção do título de
Mestre em Enfermagem.*

Área de Concentração: A Enfermagem no Cuidado à Saúde Humana.

Linha de Pesquisa: Epidemiologia, Prevenção e Controle de Doenças Infecciosas.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Karlla Antonieta Amorim Caetano

Co-orientadora: Prof^a Dr^a. Sheila Araujo Teles

GOIÂNIA, 2019

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

Amaral, Leyla Gabriela Verner

Perfil epidemiológico do vírus da hepatite B em adultos e idosos de um município de pequeno porte de Goiás [manuscrito] / Leyla Gabriela Verner Amaral. - 2019.

xv, 115 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Karlla Antonieta Amorim Caetano; co orientadora Dra. Sheila Araujo Teles.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Enfermagem (FEN), Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Goiânia, 2019.

Bibliografia. Anexos. Apêndice.

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

1. Hepatite B. 2. Adultos. 3. Idoso. 4. Epidemiologia. 5. Estudos Transversais. I. Caetano, Karlla Antonieta Amorim, orient. II. Título.

CDU 616-083

ATA DE DEFESA

PPGENF
PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM
ENFERMAGEM

FEN
FACULDADE DE
ENFERMAGEM



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM

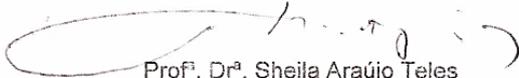
ATA DA REUNIÃO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE LEYLA GABRIELA VERNER AMARAL BRANDÃO – Aos onze dias do mês de março de dois mil e dezenove (11/03/2019), às 14h00min, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora, Prof^ª. Dr^ª. Sheila Araújo Teles (Coorientadora - Presidente da Banca), Prof^ª. Dr^ª. Valéria Pagotto - Membro interno (PPGENF/FEN/UFV) e Prof^ª. Dr^ª. Michele Dias da Silva Oliveira - Membro Externo (FEN/UFV), sob a presidência da primeira, em sessão pública realizada na Sala Alzira Rezende da Faculdade de Enfermagem, para procederem à avaliação da defesa de Dissertação intitulada: **“PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DO VÍRUS DA HEPATITE B EM ADULTOS E IDOSOS DE UM MUNICÍPIO DE PEQUENO PORTE DE GOIÁS”**, de autoria de **Leyla Gabriela Verner Amaral Brandão**, discente do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pela Prof^ª. Dr^ª. Sheila Araújo Teles, Presidente da Banca Examinadora, que fez a apresentação formal dos demais membros. A seguir, a palavra foi concedida à autora da Dissertação que, em 40 minutos, apresentou seu trabalho. Logo em seguida, cada membro da Banca arguiu a examinanda, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da defesa. Tendo em vista o que consta no Regulamento Geral dos Programas de Pós-Graduação *Stricto Sensu* da Universidade Federal de Goiás (Resolução CEPEC nº. 1403/2016) e no Regulamento do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem (Resolução CEPEC nº. 1469/2017), a Dissertação foi:

APROVADA, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de **MESTRE EM ENFERMAGEM**, na área de concentração em **A ENFERMAGEM NO CUIDADO À SAÚDE HUMANA** pela Universidade Federal de Goiás. A conclusão do curso dar-se-á quando da entrega, na secretaria do programa, da versão definitiva da Dissertação, com as correções solicitadas pela banca e do comprovante de envio de artigo científico, oriundo desta Dissertação para publicação em periódicos de circulação nacional e/ou internacional no prazo de até 30 dias.

REPROVADA, considerando _____

A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da Dissertação: o mesmo

Cumpridas as formalidades de pauta, a presidência da banca encerrou esta sessão de defesa de Dissertação e, para constar, eu, Daniela Dias Robalo, secretária do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, lavrei a presente Ata que, depois de lida e aprovada, será assinada pelos membros da Banca Examinadora em duas vias de igual teor.


Prof^ª. Dr^ª. Sheila Araújo Teles
Coorientador(a) - Presidente/PPGENF-FEN/UFV


Prof^ª. Dr^ª. Valéria Pagotto
Membro Interno - PPGENF/FEN/UFV


Prof^ª. Dr^ª. Michele Dias da Silva Oliveira
Membro Externo - FEN/UFV

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus o Senhor da minha vida, obrigada pelo seu amor incondicional, pela graça e força concedidas. Essa conquista é pela honra e glória de Deus.

Ao meu amado esposo Marcelo, presente de Deus. Conseguimos meu amor, vencemos juntos! Obrigada por estar ao meu lado do início ao fim dessa caminhada, por sonhar este sonho junto comigo. Te amo por toda a vida!

À Monalisa, esse bichinho de Deus, foi parte desse processo, sua companhia nos longos momentos de escrita foi imprescindível, sempre ali com olhar carinhoso, “lambeijos” ... Sempre um conforto!

Aos meus pais Ademar e Eliane, obrigada pelos ensinamentos, pelo amor, incentivo, orações. Amo muito vocês! Às minhas irmãs Ana Paula e Lady Lara, minha amada sobrinha Valentina, obrigada por fazerem parte dessa caminhada, minhas eternas “*haneys*”.

À minha orientadora Professora Dr^a. Karlla Antonieta, obrigada por me ensinar, compreender minhas dificuldades e pelo apoio concedido durante todo esse processo. À professora Dr^a Sheila Teles, pelo carinho, atenção. Vocês são exemplos de profissionalismo e competência.

À Bruninha, obrigada por TUDO! Esteve sempre pronta para me ajudar no que preciso, esta caminhada se tornou mais leve com sua ajuda! À Paulie, obrigada pelas longas conversas, conselhos e apoio. Vocês se tornaram amigas que levarei no meu coração. Que Deus abençoe a vida de vocês infinitamente.

À Dani pela amizade, apoio e grande incentivo em toda caminhada.

À professora Natália Horta, por me ensinar a dar os primeiros passos na pesquisa, a senhora foi quem plantou essa “sementinha”.

A todos os amigos do NECAIH pela contribuição neste trabalho e pelos momentos de convívio.

Ao Laboratório de Virologia IPSTP/UFG pelo auxílio, em especial à professora Dra. Megmar Carneiro, por toda colaboração e atenção.

À toda equipe da Atenção Primária à Saúde de Goiandira, aos participantes desse estudo. Obrigada pela colaboração!

À CAPES e CNPq por propiciarem subsídios para a realização desta conquista.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	8
LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	10
RESUMO	13
ABSTRACT	14
RESUMEN	15
1. INTRODUÇÃO	16
1.1 Epidemiologia do Vírus da Hepatite B	16
1.1.1 Distribuição do Vírus da Hepatite B.....	16
1.1.2 Características do Vírus da Hepatite B.....	20
1.2 Transmissão do Vírus da Hepatite B	23
1.3 Aspectos Laboratoriais da Hepatite B	24
1.4 Aspectos Clínicos da Hepatite B.....	27
1.5 Prevenção e Controle da Infecção pelo Vírus da Hepatite B	30
1.6 Envelhecimento e Vulnerabilidade para Hepatite B.....	33
2. JUSTIFICATIVA	36
3. OBJETIVOS	38
3.1 Objetivo Geral	38
3.2 Objetivos Específicos.....	38
4. METODOLOGIA	39
4.1 Delineamento do Estudo	39
4.2 Local do Estudo, População Alvo e Amostra	39
4.2.1 Critérios de Inclusão	40
4.2.2 Critérios de Exclusão	40
4.3 Coleta de Dados	40
4.4 Testes Laboratoriais.....	43
4.5 Testes Moleculares	44
4.5.1 Detecção do HBV-DNA	45
4.5.2 Extração do HBV-DNA	45
4.5.3 Reação em Cadeia pela Polimerase.....	45
4.5.4 Eletroforese em Gel de Agarose.....	46
4.6 Variáveis do Estudo	46

4.6.1 Variável de Desfecho	46
4.6.2 Variáveis de Predição	46
4.7 Análise dos Dados.....	47
4.8 Preceitos Éticos	47
4.9 Financiamento	48
5. RESULTADOS	49
5.1 Características Sociodemográficas	49
5.2 Marcadores Sorológicos da Infecção pelo Vírus da Hepatite B.....	50
HBV: vírus da hepatite B.....	50
5.3 Análise Bivariada das Características Sociodemográficas para Hepatite B....	50
5.4 Análise Bivariada das Característica e Comportamentos de Risco Sexual para Hepatite B	51
5.5 Análise Bivariada dos Comportamentos de Risco Parenteral para Hepatite .	54
5.6 Conhecimentos em Relação às Hepatites Virais	55
5.7 Análise Múltipla das Variáveis Associadas ao Vírus da Hepatite B	55
5.8 Caracterização das Amostras HBsAg Reagentes	56
6. DISCUSSÃO	59
7. CONCLUSÕES	64
REFERÊNCIAS	66
APÊNDICES	80
Apêndice A - Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE).....	80
Apêndice B - Instrumento da Coleta de Dados	83
Apêndice C - Laudo do Diagnóstico.....	91
ANEXOS.....	93
Anexo A – Teste Anti-HBc Total	93
Anexo B – Teste Anti-HBc IgM	95
Anexo C – Teste Anti-HBs	98
Anexo D – Teste HBsAg	102
Anexo E – Teste HBeAg	105
Anexo F – Teste Anti-HBe	107
Anexo G - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	109

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Endemicidade global segundo o antígeno de superfície (HBsAg) do vírus da hepatite B (1957-2013).....	17
Figura 2 - Representação esquemática do vírus da hepatite B	21
Figura 3 - Estrutura genômica do vírus da Hepatite B	21
Figura 4 - Infecção aguda pelo HBV com recuperação.....	25
Figura 5 - Infecção crônica pelo HBV	25
Figura 6 - História natural e avaliação de pacientes com infecção crônica por HBV baseada em marcadores sorológicos do vírus e doença hepática.	28
Figura 7 - Expectativa de vida do brasileiro ao nascer, 1940-2016	33
Figura 8 - Mapa da localização da Cidade de Goiandira- Goiás	39
Figura 9 - Divulgação da campanha denominada “Saúde mais 40”	41
Figura 10 - Fluxograma da coleta de dados	42
Figura 11 - Preparação da equipe para realização do teste rápido	43
Figura 12 - Realização do teste ELISA	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Soroprevalência dos marcadores sorológicos da hepatite B (anti-HBc e HBsAg) nas Regiões do Brasil	19
Tabela 2 - Significado clínico dos marcadores sorológicos do vírus da hepatite B ...	26
Tabela 3 - Relação dos testes sorológicos realizados segundo os princípios, reagentes comerciais e protocolos estabelecidos.....	44
Tabela 4 - Variáveis sociodemográficas de 445 residentes de um município de pequeno porte da região Sudeste de Goiás, 2017	49
Tabela 5 - Prevalência dos marcadores sorológicos do vírus da hepatite B em 445 participantes residentes em um município de pequeno porte da região Sudeste de Goiás, 2017	50
Tabela 6 - Análise bivariada de potenciais características sociodemográficas associadas ao vírus da hepatite B em 445 residentes de um município de pequeno porte da região Sudeste de Goiás, 2017	51
Tabela 7 - Análise bivariada de potenciais comportamentos de risco sexual associados ao vírus da hepatite B em 445 residentes de um município de pequeno porte da região Sudeste de Goiás, 2017	52
Tabela 8 - Análise bivariada de potenciais comportamentos de risco parenteral associados ao vírus da hepatite B em 445 residentes de um município de pequeno porte da região Sudeste de Goiás, 2017	54
Tabela 9 - Análise bivariada dos conhecimentos sobre hepatites virais associados ao vírus da hepatite B em 445 residentes de um município de pequeno porte da região Sudeste de Goiás, 2017	55
Tabela 10 - Análise múltipla das variáveis sociodemográficas e comportamentais associadas ao vírus da hepatite B em 445 residentes de um município de pequeno porte da região Sudeste de Goiás, 2017	56
Tabela 11 - Marcadores sorológicos e moleculares dos três indivíduos infectados pelo HBV, 2017	56
Tabela 12 - Características dos três indivíduos HBsAg positivos, 2017	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µL	Microlitro
ALT	Alanina aminotransferase
Anti-HBc	Anticorpo contra a proteína do “core” do vírus da hepatite B
Anti-HBe	Anticorpo contra a proteína “e” do vírus da hepatite B
Anti-HBsb	Anticorpo contra a proteína “s” do vírus da hepatite B
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
bp	<i>Base pair</i> - Pares de base
Capes	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CTA	Centro de Testagem e Aconselhamento
DNA	<i>Desoxyribonucleic Acid</i> - Ácido desoxirribonucleico
dNTP	Desoxirribonucleotídeos trifosfatados
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i> - Ensaio imunoenzimático
ESF	Estratégia Saúde da Família
GO	Goiás
HBcAg	Antígeno da proteína do core do vírus da hepatite B
HBeAg	Antígeno “e” do vírus da hepatite B
HBsAg	Antígeno de superfície do vírus da hepatite B
HBV	<i>Hepatitis B Virus</i> - Vírus da hepatite B
HBx	Proteína X do Vírus da Hepatite B
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HSB	Homens que fazem sexo com homens
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC95%	Intervalo de Confiança de 95%
ID	Identificação do Indivíduo
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
IgG	Imunoglobulina fração G
IGHAIB	Imunoglobulina Humana Anti-Hepatite B
IgM	Imunoglobulina fração M
IPTSP	Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública
IST	Infecções Sexualmente Transmissíveis
L	Litro

LAMP	<i>Loop-mediated isothermal amplification</i> - Amplificação isotérmica mediada por loop
LAMPEC	Laboratório Multiusuário de Pesquisa Clínica da Faculdade de Enfermagem
MgCl	Cloreto de Magnésio
mL	Mililitro
mM	Micromol
MS	Ministério da Saúde
mUI	Miliunidades Internacionais
NASBA	<i>Nucleic acid sequence based amplification</i> - Amplificação baseada em sequência de ácido nucleico
NAT	<i>Nucleic acid Amplification Technology</i> – Teste de Amplificação de Ácidos Nucleicos
NECAIH	Núcleo de Estudos em Epidemiologia e Cuidados em Agravos Infecciosos
nm	nanômetro
nm	Nanômetro
OMS	Organização Mundial da Saúde
OR	<i>Odds Ratio</i>
ORF	<i>Open Reading Frame</i> - Sequência aberta de leitura
PCAP	“Pesquisa de Conhecimentos, Atitudes e Práticas na População Brasileira
PCDT	Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> - Reação em cadeia da polimerase
PEP	Profilaxia pós-exposição
pmol	Picomol
PNHV	Programa Nacional de Prevenção e Controle das Hepatites Virais
PNI	Programa Nacional de Imunização
RCA	<i>Rolling-circle amplification</i> - Amplificação em círculo rolante
RNA	Ácido ribonucleico
SI	Sem informação
SMS	Secretaria Municipal de Saúde
STATA	<i>Data Analysis and Statistical Software</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TBE	Tampão tris-borato-EDTA

TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TMA	<i>Transcription-mediated amplification</i> - Amplificação mediada por transcrição
TR	Teste rápido
UFG	Universidade Federal de Goiás
UI	Unidades Internacionais
ULN	<i>Upper Limits of Normal</i> – Acima do Limite Normal
UV	Ultravioleta

RESUMO

No Brasil, as tendências atuais da epidemiologia da hepatite B indicam uma mudança em seu perfil, com crescimento em populações mais velhas. Com o objetivo de investigar o perfil epidemiológico do vírus da hepatite B (HBV) em adultos e idosos residentes em um município de pequeno porte do sudeste goiano, um estudo transversal e analítico foi realizado. A coleta de dados ocorreu em julho e agosto de 2017 e foram recrutados 445 indivíduos com idade igual ou superior a 40 anos. Todos foram entrevistados e testados para a detecção dos marcadores sorológicos da hepatite B (HBsAg, anti-HBs e anti-HBc), por meio do ensaio imunoenzimático (ELISA). As amostras HBsAg reagentes foram testadas para os marcadores sorológicos HBeAg, anti-HBe e anti-HBc IgM, bem como para a detecção do HBV DNA, por *semi-nested* PCR. Análises bivariada e múltipla, utilizando a regressão logística, foram realizadas para identificar associação entre exposição ao HBV e variáveis sociodemográficas e comportamentais. Os indivíduos participantes deste estudo majoritariamente eram do sexo feminino (61,8%), quase a metade (44,3%) possuía 60 anos ou mais de idade e 57,5% eram casados ou viviam em união consensual. Quanto ao nível de escolaridade, mais de 60% apresentaram mais de cinco anos de estudo. Em relação ao local de moradia, 11% residiam na zona rural. Sessenta e seis apresentaram pelo menos um marcador sorológico de exposição para o HBV, resultando em uma prevalência global de 14,8% (IC95%: 11,7%-18,5%), já a prevalência de HBsAg foi de 0,6% (IC95%: 0,2%- 2,0%). Detectou-se que ter idade entre 50-59 anos ($p=0,023$) e ≥ 60 anos ($p=0,007$), residir na zona rural ($p=0,009$), ter história de verruga genital ($p=0,034$) e ter relações sexuais com profissionais do sexo ($p=0,023$) foram variáveis associadas significativamente à exposição ao HBV. Uma lacuna de conhecimentos a respeito da transmissão parenteral do vírus foi identificada entre os participantes, 42,7% não sabiam sobre o risco de transmissão do HBV por meio do compartilhamento de lâminas de barbear e/ou depilar e 38,4% também não souberam que durante cirurgias pode ocorrer a transmissão das hepatites virais. Por fim, três participantes do estudo apresentaram o marcador HBsAg positivo, indicando infecção ativa para hepatite B. Comportamentos de risco parenteral e sexual foram identificados entre os portadores, contribuindo efetivamente para a transmissão do HBV. Os resultados apontam necessidade de estratégias efetivas de prevenção da hepatite B voltadas para grupos em processo de envelhecimento e ratificam a vulnerabilidade individual, social e programática. Para tanto, faz-se necessária ações de educação permanente para os profissionais da saúde, com o foco na prevenção das IST, enfatizando a população com idade igual ou superior a 40 anos.

Palavras-chave: Hepatite B; Adultos; Meia-Idade; Idoso; Epidemiologia; Estudos Transversais.

ABSTRACT

In Brazil, current trends in the epidemiology of hepatitis B show a shift in its profile, indicating an increase among elderly populations. We conducted a cross-sectional and analytical study in order to investigate the epidemiological profile of the hepatitis B virus (HBV) in adult and elderly residents of a small-sized municipality in the Southeast region of the state of Goiás. Data were gathered between July and August 2017, and 445 individuals aged 40 and over were recruited. All participants were interviewed and tested for serologic markers of hepatitis B (HBsAg, anti-HBs and anti-HBc) by means of an immunoenzymatic assay (ELISA). Reactive HBsAg samples were tested for serologic markers of HBeAg, anti-HBe, and anti-HBcIgM, as well as for HBV DNA through semi-nested PCR. We carried out bivariate and multiple analyses by means of logistic regression in order to identify the association between HBV exposure and sociodemographic and behavioral variables. Study participants included mostly females (61.8%), of which nearly half (44.3%) were aged 60 and over, and 57.5% were married or in consented relationships. As for education, over 60% had over 5 years of schooling. Regarding their place of residence, 11% dwelt in the countryside. Sixty-six participants presented at least one HBV exposure serologic marker adding up to a global prevalence of 14.8% (IC95%: 11.7% - 18.5%), whereas HBsAg prevalence was 0.6% (IC95%:0.2% -2.0%). Our findings show that variables such as being 50-59 ($p=0.023$) and ≥ 60 years of age ($p=0.007$), dwelling in the countryside ($p=0.009$), having a history of genital warts ($p=0.034$), and having sexual intercourse with sex workers ($p=0.023$) were significantly associated with HBV exposure. We identified a knowledge gap regarding the parenteral transmission of the virus among the participants, with 42.7% being unaware of the risk of HBV transmission through the shared used of razor blades, and 38.4% of the risk of transmission of viral hepatitis during surgical procedures. At last, three study participants tested positive for HBsAg indicating active hepatitis B infection. Risky parenteral and sexual behaviors were identified among the carriers, which contributes effectively to HBV transmission. Results highlight the necessity for effective preventive measures of hepatitis B targeting the elderly and corroborate individual, social and programmatic vulnerability. To do so, ongoing awareness campaigns for health care providers with emphasis on STDs prevention for individuals in their forties are necessary.

Key-words: Hepatitis B; Adults; Middle-age; Elderly; Epidemiology; Cross-sectional studies.

RESUMEN

En Brasil, las tendencias actuales de la epidemiología de la hepatitis B señalan un cambio en su perfil, con un crecimiento en las comunidades de mayor edad. Con el objetivo de investigar el perfil epidemiológico del virus de la hepatitis B (HBV) en adultos y personas mayores residentes en un municipio con poca población ubicado en el sudoeste de Goiás, un estudio transversal y analítico fue llevado a cabo. La recolección de datos sucedió entre julio y agosto de 2017 y fueron recogidos datos de 445 individuos con edad igual o superior a 40 años. Todos fueron entrevistados y testeados para la detección de los marcadores serológicos de la hepatitis B (HBsAg, anti-HBs y anti-HBc), por medio del ensayo inmunoenzimático (ELISA). Las muestras HBsAg reactivos fueron testeadas para los marcadores serológicos HBeAG, anti-HBe y anti-HBc IgM, como así también para la detección de HBV DNA, por semi-nested, fueron PCR. Análisis de dos variables y múltiple, utilizando la regresión logística, fueron realizadas para identificar la asociación entre exposición al HBV y variables sociodemográficas y comportamentales. Los individuos participantes de este estudio eran mayormente del sexo femenino (61,8 %), casi la mitad (44,3%) tenía 60 años o más de edad y el 57,5% eran casados o vivían en situación de pareja. En cuanto al nivel de escolaridad, más del 60% presentan más de 5 años de escolaridad. Con respecto a la vivienda, el 11% residían en zona rural. El 66% presentó por lo menos un marcador serológico de exposición para el HBV, resultando en una prevalencia global del 14,8% (IC95%: 11,7%-18,5%), ya la prevalencia de HBsAg fue del 0,6% (IC95%: 0,2%-2,0%). Se detectó que entre los 50 y los 59 años y \geq a 60 años ($p=0,007$), residir en una zona rural ($p=0,009$) tener historial de verruga genital ($p=0,034$) y tener relaciones sexuales con profesionales del sexo ($p=0,023$) fueron variables asociadas significativamente a la exposición al HBV. Una laguna de conocimientos con respecto de la transmisión parental del virus fue identificada entre los participantes, el 42,7% no sabían sobre el riesgo de la transmisión del HBV como medio de contagio al usar-compartir hojas de afeitar y o de depilar y el 38,4% tampoco supo que durante una operación puede ocurrir la transmisión de las hepatitis virales. Finalmente, en tres participantes del estudio se detectó el marcador HBsAg positivo, indicando infección activa para la hepatitis B. Los comportamientos de riesgo parental y sexual fueron identificados entre los portadores, contribuyendo efectivamente para la transmisión del HBV. Los resultados muestran la necesidad de llevar a cabo estrategias efectivas de prevención de la hepatitis B direccionadas para grupos en proceso de envejecimiento y ratifican la vulnerabilidad individual, social y programática. Por lo tanto, se hace necesario que se tomen medidas preventivas educativas permanentes para los profesionales de la salud, con foco en la prevención de las IST (Infecciones sexualmente transmisibles), dando énfasis a la población con edad igual o superior a 40 años.

Palabras claves: Hepatitis B; Adultos; Mediana Edad; Personas Mayores; Epidemiología; Estudios Transversales.

1. INTRODUÇÃO

Mais de quatro décadas se passaram desde a identificação do vírus da hepatite B (HBV) (BLUMBERG; ALTER; VISNICH, 1965) e, ainda assim, observa-se um aumento gradual de mortes em decorrência da progressão da doença para cirrose e câncer hepático. Estima-se que 257 milhões de pessoas sejam portadoras do HBV, sendo a África e áreas do Pacífico Ocidental as regiões mais afetadas por essa infecção (WHO, 2017).

No Brasil, entre o período 1999 a 2017, foram notificados 587.821 casos confirmados de hepatites virais e, destes, 218.257 (37,1%) são referentes à hepatite B. A distribuição de casos varia entre as cinco regiões brasileiras, com maiores proporções na Região Sudeste (35,2%). Já na Região Centro-Oeste foram notificados 9,2% casos de hepatite B (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

As tendências atuais da epidemiologia da hepatite B no Brasil indicam uma mudança em seu perfil, com crescimento em populações mais velhas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). O cenário de uma vida sexual cada vez mais ativa, associado ao uso irregular de preservativos (SILVA et al., 2017b), além de uma política de vacinação contra hepatite B voltada inicialmente para grupos mais jovens (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013), corroboram para a vulnerabilidade deste grupo ao HBV.

1.1 Epidemiologia do Vírus da Hepatite B

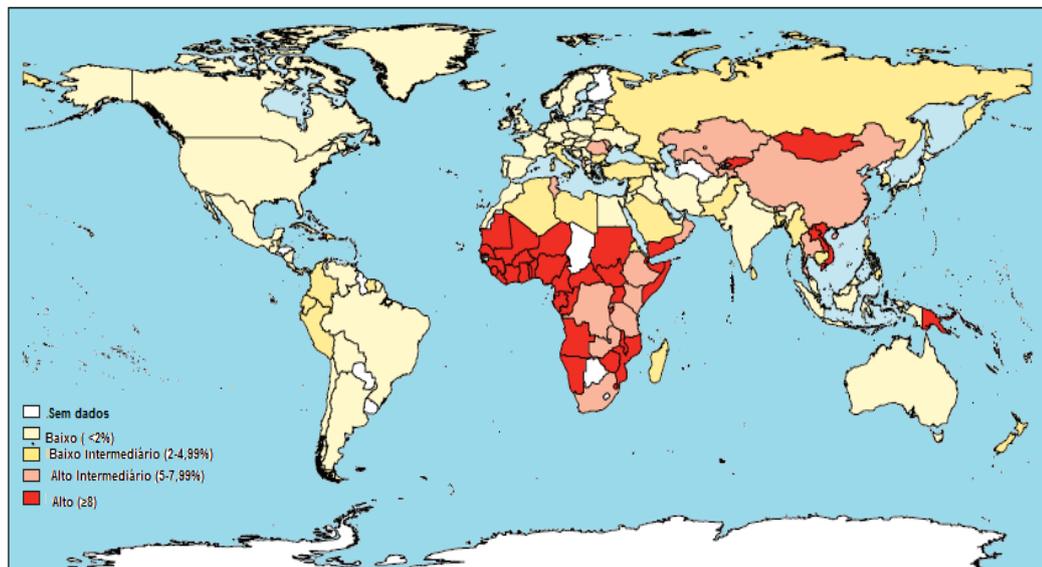
1.1.1 Distribuição do Vírus da Hepatite B

No mundo, dados mais recentes sobre a prevalência da infecção pelo HBV são de 2015 e mostram uma taxa de 3,5% para o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) na população em geral (WHO, 2017). Para fins de análise epidemiológica, a endemicidade da hepatite B tem sido classificada como alta, intermediária e baixa. Considera-se alta quando a prevalência para o HBsAg na população em geral é igual ou superior a 8%; intermediária, se a prevalência for de 2 a 7%; e baixa, se inferior a 2%. Assim, é possível notar uma diversidade da distribuição da hepatite B em todo mundo (SCHWEITZER et al., 2015).

Das 257 milhões de pessoas infectadas pelo HBV, as maiores prevalências se concentram nas regiões do Pacífico, representando 6,2%; seguida pela África, com uma taxa de 6,1% (Figura 1). A implementação da vacina contra hepatite B por 185

países foi responsável pela redução significativa da incidência do HBV em todo mundo. Entretanto, na maioria dos casos, a vacina está disponível somente para recém-nascidos e crianças (WHO, 2017) e esta política colabora para o aumento da vulnerabilidade programática de grupos populacionais de adultos com meia-idade e idosos frente à hepatite B.

Figura 1 - Endemicidade global segundo o antígeno de superfície (HBsAg) do vírus da hepatite B, 1957-2013



Fonte: Adaptado de Schweitzer et al. (2015).

Na China, onde a endemicidade para hepatite B varia de intermediária à alta, existe uma política de vacinação contra este agravo implementada desde 1992 para recém-nascidos (CHEN et al., 2017) (Figura 1). A partir deste contexto, tem-se observado um aumento gradual da prevalência de HBsAg considerando a idade da população, entre os indivíduos com 40 anos a prevalência foi 8,5% (IC95%: 7,4%-9,6%), com uma taxa de 8,9% (IC95%: 7,1%-10,7%) em indivíduos na faixa etária de 50 a 59 anos, enquanto que em crianças com um ano de idade a prevalência foi de 1,0% (IC95%: 0,8%-1,2%) (LIANG et al., 2013).

Em um estudo realizado por Kim et al. (2013) com a população coreana, país com endemicidade intermediária para hepatite B, observou-se padrão de prevalência semelhante, ou seja, declínio entre grupos mais jovens e sobrecarga entre adultos de meia-idade e idosos. Em indivíduos de 10 a 19 anos de idade, a prevalência de HBsAg declinou de 2,2%, no ano de 1998, para 0,12%, em 2010 ($p < 0,0001$). Entretanto, em

grupos com 50 anos ou mais de idade, a positividade para o HBsAg não diminuiu ao longo do período de realização do estudo, permanecendo com taxas de aproximadamente de 6% (KIM et al., 2013). Mais uma vez, observa-se que a política de distribuição gratuita da vacina contra hepatite B não se deu para toda população, se concentrando apenas em grupos jovens e vulneráveis, como homossexuais, profissionais de saúde, usuários de drogas injetáveis e outros (PARK; CHUNG; LEE, 2010).

Em 1995, a África do Sul também implementou a vacina contra hepatite B gratuitamente para todos os recém-nascidos e, da mesma forma, observamos maiores taxas da infecção em indivíduos mais velhos. Em um estudo realizado neste país africano com doadores de sangue, a prevalência em indivíduos menores de 20 anos foi de 0,2%, enquanto que grupos com idade entre 40 a 49 anos apresentaram uma prevalência da infecção pelo HBV de 1,1%; já entre indivíduos de 50 a 59 anos foi de 0,9% e na população com 60 anos ou mais de 0,6% (VERMEULEN et al., 2017).

Semelhante aos países citados acima, na Itália, em 1991, foi introduzida a vacinação universal contra a hepatite B para lactentes e adolescentes de 12 anos de idade. Em 2014, este país já possuía uma política para indivíduos até 33 anos de idade. Com isso, a faixa etária de zero a 33 anos era totalmente coberta pela vacinação contra o HBV. A investigação também identificou que, 23 anos após a implementação da política de vacinação para lactentes e adolescentes, houve uma alteração no perfil clínico, evidenciando uma sobrecarga da infecção em grupos de indivíduos mais velhos (SAGNELLI et al., 2017).

O Brasil, país de baixa prevalência para hepatite B, possui uma política de vacinação contra esta infecção implementada de forma gradativa. Em 1998, a vacina foi preconizada para todas as crianças com um ano de idade ou menos, estendendo-se para todos os indivíduos, independente da faixa etária, em 2015 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013, 2015a). Assim, dados a respeito da epidemiologia da hepatite B mostram uma tendência de maior suscetibilidade à infecção pelo HBV em indivíduos mais velhos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010, 2017a). De fato, o último inquérito para avaliar a epidemiologia das hepatites virais em grupos urbanos de 27 capitais das cinco Regiões do Brasil mostrou um aumento da prevalência de exposição ao HBV em indivíduos acima de 40 anos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010) (Tabela 1).

Tabela 1 - Soroprevalência dos marcadores sorológicos da hepatite B (anti-HBc e HBsAg) nas Regiões do Brasil

Regiões	HBsAg	Anti-HBc	Anti-HBc	Anti-HBc
	20 a 69 anos	20 a 69 anos	20 a 39 anos	40 a 69 anos
	% (IC95%)	% (IC95%)	% (IC95%)	% (IC95%)
Norte	0,9 (0,3-1,5)	14,7 (12,2-17,8)	9,4 (7,4-11,9)	22,1 (18,6-26,1)
Nordeste	0,5 (0,2-0,9)	11,7 (10,0-13,3)	7,5 (6,0-9,2)	17,3 (14,7-20,2)
Centro-Oeste	0,8 (0,3-1,2)	12,7 (10,9-14,5)	7,9 (6,4-9,7)	18,5 (16,1-21,3)
Distrito Federal	0,4 (0,0-0,8)	8,4 (6,6-10,2)	5,5 (4,0-7,6)	13,1 (10,1-16,9)
Sudeste	0,4 (0,1-0,7)	7,9 (6,6-9,2)	3,8 (2,8-5,1)	12,3 (10,4-14,7)
Sul	0,5 (0,2-0,9)	11,3 (9,9-12,7)	5,9 (4,7-7,4)	16,4 (14,4-18,6)

Fonte: Adaptado de Ministério da Saúde, 2010.

Dados mais recentes também confirmam este cenário. De acordo com o Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018), em 2017, notou-se que a taxa de detecção da hepatite B entre indivíduos de meia-idade e idosos foi superior às demais faixas etárias. Em indivíduos do sexo masculino, as taxas observadas nas faixas etárias de 20 a 24 anos e 30 a 34 anos foram de 4,1 e 9,3 casos a cada 100.000 habitantes, respectivamente, enquanto que nas faixas etárias de 40 a 44 anos, 45 a 49 anos, 50 a 54 anos, 55 a 59 anos e 60 anos ou mais, taxas foram de 13,9, 15,1, 15,0, 13,9 e 10,1 casos a cada 100.000 habitantes, respectivamente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

Neste contexto, estudos realizados nas várias Regiões do Brasil mostram diferentes taxas de infecção pelo HBV em indivíduos mais velhos. Em um município do interior paulista, Região Sudeste do Brasil, em um estudo realizado com 382 idosos, a prevalência encontrada de HBsAg foi 0,5% (IC95%: 0,1%-1,9%) (ANDRADE et al., 2017). Outra investigação desenvolvida em um município interiorano do Estado de Santa Catarina, Sul do Brasil, também encontrou prevalência semelhante em grupos mais velhos. Oitocentos e vinte idosos foram investigados e observou-se uma prevalência de infecção para hepatite B de 0,6% (IC95%: 0,2%-1,4%) (MACHADO et al., 2013). Na Região Norte, em uma pesquisa realizada com 3.991 indivíduos, entre a faixa etária de um a 60 anos, evidenciou-se maiores taxas de HBsAg entre aqueles mais velhos. Grupos com 40 a 49 anos de idade apresentaram prevalência de 1,3% (IC95%: 0,4%-2,9%), já na faixa etária de 50 a 59 anos a prevalência foi de 0,9% (IC95%: 0,2%-2,6%) e, por fim, com idade igual ou superior a 60 anos, taxas para

HBsAg de 1,1% (IC95%: 0,2%-3,7%) foram encontradas (NUNES et al., 2017). Já em um estudo conduzido em Salvador, Bahia, Região Nordeste do país, com 780 indivíduos assistidos pelo Programa Saúde da Família, entre os indivíduos com 45 anos ou mais de idade, a prevalência de HBsAg foi de 1,5% (IC95%: 0,5%-3,5%) (MATOS et al., 2013).

Na Região Centro-Oeste, estudos desenvolvidos especificamente com populações de meia-idade ou idosos associados à epidemiologia do HBV não foram identificados. As investigações de corte transversal abordando a hepatite B e que permitiram a estratificação por idade somente mostraram a prevalência de exposição ao HBV. Em Mato Grosso, em um estudo conduzido por Souto et al. (2004), na região rural de Cotriguaçu, evidenciou-se que, entre 180 indivíduos na faixa etária acima de 40 anos, a taxa de prevalência do marcador de exposição ao vírus da hepatite B (anti-HBc) foi de 65% (IC95%: 57,8%-71,6%) (SOUTO et al., 2004). Já em Goiás, em um estudo realizado em uma cidade de pequeno porte, observou-se menor prevalência de exposição ao HBV, de 280 doadores de sangue com mais de 40 anos, somente 24 apresentaram positividade (8,6%) (ANJOS et al., 2010).

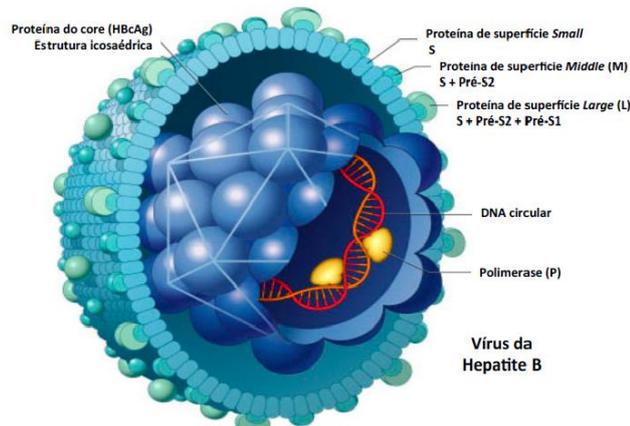
1.1.2 Características do Vírus da Hepatite B

O HBV foi identificado no início da década de 1960, por Baruch Blumberg e colaboradores, durante análises de amostras de soro de um aborígine australiano. Nestes ensaios, foi encontrado um antígeno que reagia com anticorpos de pacientes com hemofilia, denominando-o inicialmente de antígeno Austrália (BLUMBERG; ALTER; VISNICH, 1965). Posteriormente, este antígeno foi associado ao agente causador da hepatite B (PRINCE, 1968). Já na década de 70, por meio de microscopia eletrônica, foi caracterizada a partícula completa do HBV ou partícula de Dane (DANE; CAMERON; BRIGGS, 1970).

Trata-se de um vírus hepatotrópico que se replica por transcrição reversa, sendo classificado como pertencente à família *Hepadnaviridae*, gênero *Orthohepadnavirus* (ICTV, 2017). O HBV apresenta forma esférica, com aproximadamente 42 nm de diâmetro, sendo constituído externamente por um envelope lipoproteico (HBsAg), composto pelas proteínas S (*small*), M (*middle*) e L (*large*) (PERKINS, 2002) (Figura 2). Internamente, observa-se um nucleocapsídeo icosaédrico, de 27 nm de diâmetro, formado pela proteína do *core* (HBcAg),

envolvendo o ácido desoxirribonucleico (DNA) viral e a enzima DNA polimerase. A replicação do vírus ocorre por meio de uma atividade enzimática da proteína transcriptase reversa (TIOLLAIS; POURCEL; DEJEAN, 1985; OKAMOTO et al., 1988).

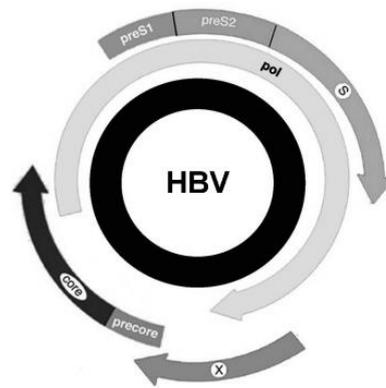
Figura 2 - Representação esquemática do vírus da hepatite B



Fonte: Adaptado de Perkins (2002).

O genoma viral é formado por um DNA circular, parcialmente duplo, com aproximadamente 3.200 pares de base (bp) (LIANG, 2009; GISH et al., 2015). O DNA do HBV é composto por quatro regiões de leitura aberta (*Open Reading Frame [ORF]*): Pré-S/S, Pré-C/C, P e X, que codificam proteínas estruturais e não estruturais do vírus. A região Pré-S/S possui três códons de iniciação, a Pré-S1, Pré-S2 e a S (DOO; GHANY, 2010). Quando a transcrição se inicia na região Pré-S1, a proteína L (*large*) é produzida. As outras proteínas de superfície denominadas M (*middle*) e S (*small*) são codificadas a partir dos códons de iniciação nas regiões Pré-S2 e S, respectivamente. Essas três proteínas constituem o envelope viral (LIANG, 2009; GISH et al., 2015) (Figura 3).

Figura 3 - Estrutura genômica do vírus da Hepatite B



Fonte: Locarnini et al. (2013).

A proteína L (*large*) é essencial na ligação do vírus a receptores da célula do hospedeiro (GISH et al., 2015). A proteína M (*middle*) possui uma região de ligação com a albumina, que possibilita o HBV penetrar no citoplasma das células do hospedeiro (THUNG; GERBER, 1984; DASH et al., 1991). Já a proteína S (*small*), predominante no envelope, contém a alça antigênica e é responsável pela resposta imune por meio de anticorpos neutralizantes na infecção pelo HBV (RODRIGUEZ-FRIAS et al., 2013).

A região Pré-C/C possui um códon na região Pré-C, na qual forma-se o antígeno “e” (HBeAg), que é um importante marcador de replicação viral. Já a região C codifica o HBcAg, que é constituinte do núcleo capsídeo viral (DOO; GHANY, 2010). O HBeAg é secretado por células infectadas do fígado, o qual parece desenvolver uma função imunomoduladora, estabelecendo tolerância imunológica (RODRIGUEZ-FRIAS et al., 2013).

A DNA polimerase-RNA dependente/transcriptase reversa é codificada a partir da transcrição da região P. Já a região X codifica a proteína HBx que é capaz de transativar genes celulares e virais, sendo importante para a replicação viral (AYUB; ASHFAQ; HAQUE, 2013).

Divergências acima de 7,5% na sequência de nucleotídeos do genoma completo do HBV permitiram a classificação desse vírus em genótipos (KRAMVIS, 2014). Existem dez tipos de genótipos virais, são eles: A, B, C, D, E, F, G, H, I e J, com distribuição heterogênea em todo mundo (KRAMVIS, 2014).

Uma revisão sistemática realizada para avaliar os dados de genotipagem do HBV em todo mundo constatou que os genótipos A e D são prevalentes nos países europeus, sendo o genótipo A mais prevalente no noroeste da Europa e o genótipo D

com predominância na Europa Oriental e Ocidental, Central da Ásia, Norte da Ásia e Sul da Ásia, bem como na África do Norte. O genótipo B e C são mais comuns nas Ilhas Britânicas e na Dinamarca, além de ambos os genótipos constituírem uma proporção elevada na China, no sudeste da Ásia e na Austrália. Também, foi encontrado com frequência o genótipo C no leste e sudeste da Ásia, bem como Ásia e Oceania. Enquanto o genótipo D foi mais frequente na Ásia e Oceania, na África Subsaariana (compreendendo África Oriental, África Central, África Austral e África Ocidental), há uma distribuição heterogênia dos genótipos do HBV, com o genótipo E predominando na parte ocidental. Na América Latina, três genótipos (F, G e H) foram encontrados, o genótipo F é o mais predominante. Já na América do Norte, os genótipos A, B, C e D foram predominantes (VELKOV et al., 2018). O genótipo I foi encontrado no Vietnã e no Laos, O genótipo J, foi identificado nas ilhas Ryukyu, no Japão (SUNBUL, 2014; TIAN; JIA, 2016).

No Brasil, existem sete tipos de genótipos circulantes (A-G), o genótipo A é o mais prevalente e predominante em todas as Regiões brasileiras. O genótipo B possui baixa frequência, mas pode ser encontrado nas regiões Sudeste e Sul. O genótipo C é predominante na região Nordeste e Sudeste. O genótipo D é distribuído por todas as regiões do Brasil, mas com maior número de casos nas regiões Norte, Centro-Oeste, Sudeste e Sul. Na Região Centro-Oeste e Sudeste, há registros do genótipo E, porém, este é mais frequente nos estados do Mato Grosso do Sul e São Paulo. O genótipo F possui prevalência distinta, sendo predominante na Região Nordeste, Sudeste e Norte. Já o genótipo G é pouco prevalente, mas foi identificado nas Regiões Norte, Nordeste, Sudeste e Sul (LAMPE et al., 2017).

1.2 Transmissão do Vírus da Hepatite B

O HBV pode ser transmitido pelas vias vertical, parenteral e sexual. A transmissão vertical ou perinatal (mãe-filho) ocorre predominantemente em países de alta endemicidade, durante a gestação ou no momento do parto, devido à exposição ao sangue materno e secreções cervicais (KARNSAKUL; SCHWARZ, 2017). Em relação ao aleitamento materno de gestantes infectadas, este deve ser evitado somente na presença de lesões no mamilo, pela probabilidade de combinação do leite materno a partir de exsudados da ferida (AYOUB; COHEN, 2016).

O risco de infecção pelo HBV por exposição parenteral pode acontecer de forma direta, por meio de contato com sangue contaminado ou de forma indireta, neste caso potencializado devido à viabilidade do HBV no ambiente por mais de sete dias, mantendo sua infecciosidade (BOND et al., 1983). Nesse sentido, a transmissão pela via parenteral pode ocorrer através da transfusão sanguínea (BAPTISTE et al., 2018; YOODA et al., 2019) e por meio de compartilhamento de agulhas, situação muito comum entre usuários de drogas injetáveis (VISCONTI; SELL; GREENBLATT, 2019). As práticas de realização de tatuagens (SMITH et al., 2017) e piercing corporal (YANG et al., 2015), usando agulhas contaminadas ou sem medidas de esterilização adequada, podem também representar um importante fator de risco de disseminação do HBV. Além disso, o compartilhamento de alicate de unha, lâminas de barbear entre os membros de família de indivíduos com hepatite B estão associados à cadeia de transmissão do vírus, sendo esta uma evidência para transmissão horizontal do HBV (MANSOUR-GHANAIE et al., 2013).

O meio hospitalar é considerado um ambiente de transmissão do HBV, seja de forma direta, por meio do contato com sangue contaminado pelo HBV (ABDELA et al., 2016), ou indireta, elucidada por falhas no processo de controle da infecção (BÜCHNER et al., 2015; KLINER et al., 2015). Ademais, há relato de casos de transmissão entre indivíduos diabéticos em instituições de longa permanência como resultado do compartilhamento inadequado de equipamentos e técnica asséptica inadequada durante o monitoramento da glicemia (DUFFELL et al., 2011).

Outro meio de transmissão do HBV extremamente importante é a via sexual. Dados recentes do Ministério da Saúde (2018) mostraram que entre as prováveis fontes ou mecanismos de transmissão conhecidos, a maioria ocorreu por via sexual. Neste sentido, o principal fator de risco é o sexo desprotegido entre indivíduos infectados, especialmente em relações sexuais entre homens que fazem sexo com homens (HSH) e indivíduos com relatos de múltiplos parceiros sexuais (GORGOS, 2013; INOUE; TANAKA, 2016).

1.3 Aspectos Laboratoriais da Hepatite B

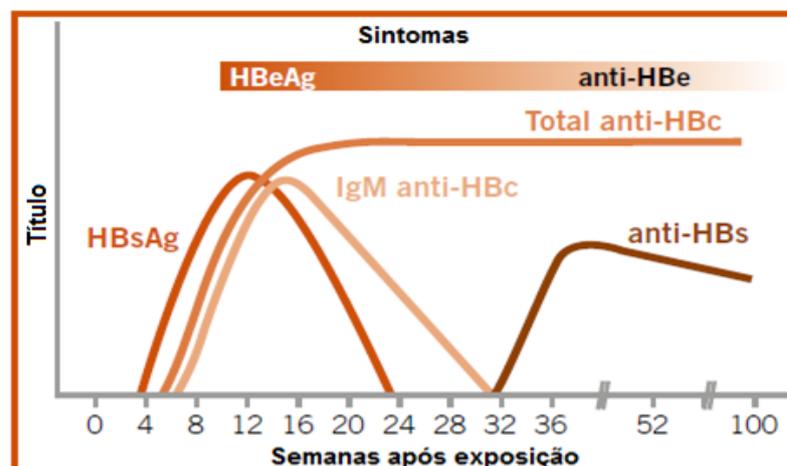
O diagnóstico laboratorial da infecção pelo HBV pode ser determinado pela avaliação de marcadores sorológicos e pela identificação do HBV DNA presente no soro (LIANG, 2009; VILLAR et al., 2015).

O HBsAg é o marcador inicial para a detecção da infecção pelo HBV, indicando infecção presente e pode ser identificado de duas a seis semanas antes do aparecimento dos sintomas. O anticorpo de classe imunoglobulina fração M (IgM) para o antígeno do core (anti-HBc IgM) está presente em alto nível nos primeiros seis meses após a infecção e, portanto, é utilizado para diferenciar a fase aguda e crônica. Após o declínio das taxas de anti-HBc IgM, surge o anticorpo total IgM e imunoglobulina fração G (IgG) para o antígeno do core “anti-HBc (total), que permanece detectável ao longo da vida indicando exposição ao vírus. O aparecimento do marcador anticorpo para antígeno de superfície (anti-HBs) sugere cura por imunidade natural. Já o antígeno relacionado à replicação viral “HBeAg” pode ser detectado no início da infecção, conhecido como marcador de “alta infectividade”; com seu declínio, surge o anticorpo para antígeno HBe (anti-HBe), representando o controle imunológico da infecção pelo HBV. A presença do marcador anti-HBs isolado, por sua vez, indica imunidade conferida pela vacina contra hepatite B (LIANG, 2009) (Figura 4).

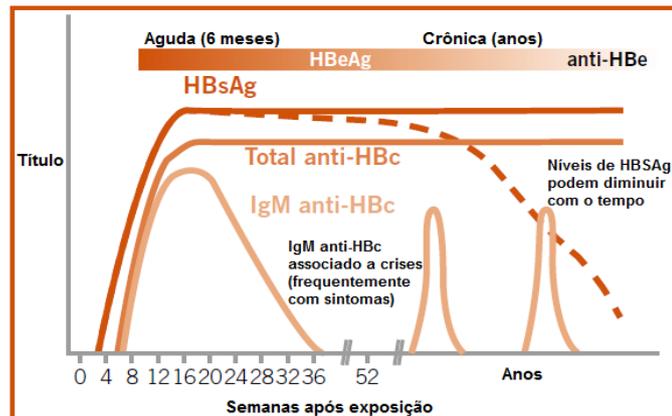
Os indivíduos que desenvolvem a hepatite B crônica possuem marcadores sorológicos similares aos iniciais da fase aguda, caracterizada pela presença de HBsAg, HBeAg e anti-HBc, além do genoma viral HBV DNA (LIANG, 2009; VILLAR et al., 2015) (Figura 5).

O genoma viral “HBV DNA” é usado como medida mais precisa da replicação viral, relaciona-se com a progressão da doença e também é utilizado para avaliar a resposta da terapia viral (LIANG, 2009; GERLICH, 2013; WHO, 2017).

Figura 4 - Infecção aguda pelo HBV com recuperação



Fonte: Adaptado de WHO (2017).

Figura 5 - Infecção crônica pelo HBV

Fonte: Adaptado de WHO (2017).

Métodos confiáveis são de extrema importância para o diagnóstico de infecção pelo HBV de casos agudos e crônicos (LIANG, 2009; VILLAR et al., 2015). Os marcadores sorológicos podem ser detectados por meio de ensaios imunoenzimáticos (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)*), já as técnicas moleculares, como a reação em cadeia pela polimerase (PCR) e a PCR em tempo real, são comumente empregadas para a identificação e quantificação do HBV DNA (CHEVALIEZ; RODRIGUEZ; PAWLITSKY, 2012; WHO, 2017) (Tabela 2).

Tabela 2 - Significado clínico dos marcadores sorológicos do vírus da hepatite B

Marcador	Significado clínico
HBsAg	Primeiro marcador a aparecer no curso da infecção. Aparece de uma a três semanas antes do início dos sintomas. Permanência desse marcador por mais de 24 semanas indica cronicidade.
Anti-HBc IgM	Marcador de infecção recente. Aparece com o início dos sintomas e persiste até 32 semanas após a infecção.
Anti-HBc IgG	Este marcador não indica imunidade e também não é estimulado pela vacinação. A presença indica contato prévio com o vírus.
HBeAg	Aparece antes do início dos sintomas e indica replicação viral independente da fase da doença (aguda ou crônica). A presença indica alta infectividade.
Anti-HBe	Aparece após o desaparecimento do HBeAg. Sua presença sugere redução ou ausência de replicação viral.
Anti-HBs	Aparece de um a três meses após a vacinação contra o vírus da hepatite B ou após a recuperação da infecção aguda pelo vírus da hepatite B e indica imunidade a infecção pelo vírus da hepatite B.

Fonte: Adaptado de Villar et al. (2015).

Apesar dos ensaios de detecção baseados em PCR serem bastante praticados, outras técnicas como métodos baseados em amplificação isotérmica, como amplificação baseada em sequência de ácido nucleico (NASBA), amplificação mediada por transcrição (TMA), amplificação isotérmica mediada por *loop* (LAMP), amplificação em círculo rolante (RCA), entre outros, também são utilizados para detecção e quantificação do HBV DNA (DATTA, 2014).

A introdução do teste rápido (TR) para hepatite, a partir de 2011 no Brasil, foi uma das estratégias traçadas para triagem de hepatites B e C e configura-se como uma importante estratégia no cenário epidemiológico brasileiro. Os TR são de fácil execução, sendo fundamentais para ampliar o acesso ao diagnóstico. No caso do TR para hepatite B, utiliza tecnologia imunocromatográfica de fluxo lateral e permite a detecção do HBsAg (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011a, 2015a, 2017b).

1.4 Aspectos Clínicos da Hepatite B

O período de incubação do HBV é de 45 a 180 dias. As manifestações clínicas da infecção aguda pelo vírus podem ser assintomáticas ou ser caracterizadas pela fase prodrômica. Sabe-se que de 60% a 80% dos casos de infecção aguda por HBV são clinicamente assintomáticos (DÉNY; ZOULIM, 2010; THOMAS; YONEDA; SCHIFF, 2015).

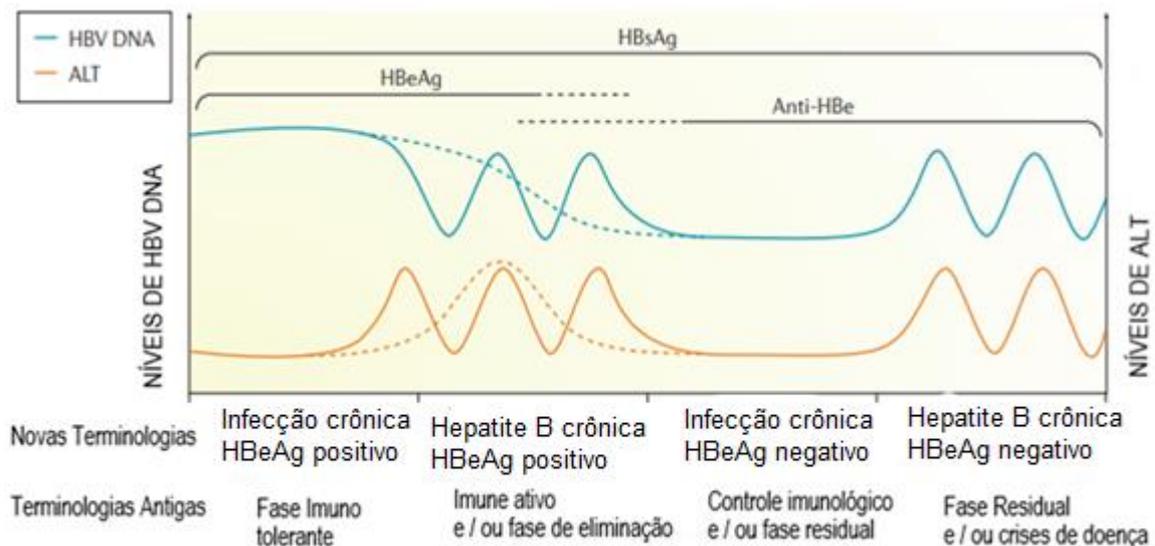
Entre aqueles que desenvolvem sintomas, podem apresentar: mal-estar, febre, náuseas, vômitos e anorexia profunda. Urticária e artralgia também podem ocorrer, mas são menos frequentes. Posteriormente, cerca de 30% dos adultos poderão apresentar icterícia (ASPINALL et al., 2011). Aproximadamente 0,1% a 0,5% desenvolverão insuficiência hepática fulminante (ASPINALL et al., 2011), caracterizada por alta morbidade e mortalidade (LIAW; CHU, 2009; THOMAS; YONEDA; SCHIFF, 2015).

Cerca de 90% dos indivíduos com infecção aguda pelo HBV apresentam recuperação completa e, posteriormente, desenvolvem imunidade persistente (THOMAS; YONEDA; SCHIFF, 2015). O risco de desenvolver-se a infecção crônica pelo HBV diminui a depender da idade no momento da infecção inicial. Os neonatos, por apresentarem baixo sistema imunológico, têm 90% de chance de desenvolver infecção crônica pelo HBV, comparados com 30% de chance para crianças de um a

cinco anos e 5% de chance em indivíduos infectados adultos (THOMAS; YONEDA; SCHIFF, 2015).

Uma diversidade de padrões sorológicos associados a eventual presença de inflamação hepática caracteriza a história natural da infecção crônica pelo HBV. Cinco fases são descritas na literatura (EASL, 2017; YUEN et al., 2018) (Figura 6).

Figura 6 - História natural e avaliação de pacientes com infecção crônica por HBV baseada em marcadores sorológicos do vírus.



Fonte: Adaptado de Yuen et al. (2018).

A “infecção crônica pelo HBV HBeAg positivo” identifica a primeira fase de tolerância imunológica, é caracterizada pela presença de HBeAg sérico, níveis muito elevados de HBV DNA e taxas de alanina aminotransferase (ALT) dentro da normalidade. Indivíduos nesta fase são altamente contagiosos devido aos altos níveis de HBV DNA, apresentam lesões hepáticas muito limitadas e não necessitam de tratamento. Entretanto, aqueles imunossuprimidos com mais de 40 anos de idade devem ser tratados, devido ao maior risco de carcinoma hepatocelular. Também nesta fase, a taxa de soroconversão ao HBeAg é baixa (EASL, 2017; YUEN et al., 2018).

A fase “hepatite B crônica HBeAg positiva” é caracterizada pela presença sorológica de HBeAg e possui níveis elevados de HBV DNA e ALT. Pode-se observar uma necroinflamação moderada ou grave do fígado e progressão da fibrose hepática. Ao final desta fase, a maioria dos indivíduos podem evoluir para a soroconversão do HBeAg e a supressão do HBV DNA e chegar a fase de infecção crônica pelo HBV HBeAg negativa. Por outro lado, alguns não conseguem conter a replicação do HBV

e progridem para a fase hepatite B crônica HBeAg negativa e passam por um momento de “baixa replicação viral”, apesar de uma possível reativação (EASL, 2017; YUEN et al., 2018).

A fase “infecção crônica pelo HBV HBeAg negativo” é caracterizada pela soroconversão do HBeAg para o anti-HBe. Desta forma, o HBeAg é negativo e existem presença de anti-HBe no soro, níveis indetectáveis ou baixos de HBV DNA e ALT normais de acordo com o tradicional valor de corte (ULN "40 U/L). Há atividade necroinflamatória hepática mínima e baixa fibrose, por isso, nesta fase, os indivíduos apresentam baixo risco de progressão para cirrose ou carcinoma hepatocelular. No entanto, devem manter testes periódicos, uma vez que pode ocorrer progressão para hepatite B crônica (EASL, 2017; YUEN et al., 2018).

A fase “hepatite B crônica HBeAg negativa” é caracterizada pela ausência de HBeAg sérico, com possível taxa de anti-HBe detectável e níveis persistentes ou variáveis de HBV DNA sérico, com níveis moderado ou alto. Observa-se também oscilação dos valores de ALT, embora permaneçam elevados. No fígado, necroinflamação e fibrose podem estar presentes. A não expressão do HBeAg, em muitos indivíduos, está relacionado a mutações do HBV nas regiões pré-core ou do promotor do núcleo basal (EASL, 2017; YUEN et al., 2018).

A última fase “HBsAg negativo” é caracterizada por HBsAg negativo no soro e anticorpos positivos para HBcAg (anti-HBc), com ou sem anticorpos detectáveis para HBsAg (anti-HBs). Esta fase também é conhecida como infecção oculta pelo HBV. Os indivíduos nesta fase possuem valores de ALT raramente elevados e, geralmente, HBV DNA não detectável no soro (EASL, 2017).

Atualmente, medicamentos antivirais orais são usados para o tratamento da infecção pelo HBV, como a lamivudina, entecavir, telbivudina, adefovir dipivoxil e fumarato de tenofovir disoproxil (KARNSAKUL; SCHWARZ, 2017). No Brasil, o Ministério da Saúde (MS), por meio do Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) para Hepatite B e coinfeções, recomenda o conjunto terapêutico do Sistema Único de Saúde (SUS) com os seguintes medicamentos: alfapeguinterferona, citocina, entecavir e tenofovir. De acordo com este PCDT, este conjunto terapêutico tem o objetivo de simplificar o tratamento para o paciente, tornando-o mais eficaz e prezando pelo contínuo aprimoramento do SUS. Salienta-se que as opções terapêuticas oferecem facilidade posológica e menos efeitos adversos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017a).

1.5 Prevenção e Controle da Infecção pelo Vírus da Hepatite B

A prevenção, por meio da vacinação, é altamente recomendada. No Brasil, a vacina contra hepatite B está disponível há mais de três décadas, introduzida na década de 80 com foco em áreas e grupos específicos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1998). O esquema vacinal completo exige três doses (0, 1 e 6 meses), por via intramuscular, sendo a primeira dose indicada nas primeiras 24 horas de vida (WHO, 2018, 2019). Cerca de 90% dos adultos imunocompetentes que recebem as três doses da vacina respondem com títulos protetores contra hepatite B (anti-HBs \geq 10 mUI/mL) (GERLICH, 2014; KRAWCZYK et al., 2014; WHO, 2015a). Em diferentes regiões do mundo, onde houve a implantação da política de vacinação contra hepatite B, obteve-se diminuição efetiva da incidência da infecção (WHO, 2015a).

Em 1992, a Organização Mundial da Saúde (OMS) aconselhou que a vacinação contra a hepatite B deveria ser incluída no sistema de imunização infantil de todos os países. No entanto, de acordo com os dados da OMS (2017), a cobertura vacinal contra hepatite B em 36 países não atingiu a taxa estimada de 80% em lactentes, salienta-se que os incentivos relacionados à vacinação devem continuar em todo mundo (WHO, 2017).

A primeira geração de vacina contra hepatite B foi introduzida em 1982 e é derivada de plasma contendo o HBsAg. Entretanto, o risco de contaminação por vacinas derivadas do plasma era alto. Posteriormente, vacinas recombinantes foram desenvolvidas. Chamadas de segunda geração, estas vacinas possuem o HBsAg recombinante expresso em levedura (SZMUNESS et al., 1980; MCALEER et al., 1984; GERLICH, 2014; TAJIRI; SHIMIZU, 2015).

As vacinas de terceira geração foram desenvolvidas na década de 90 para melhorar a resposta do anti-HBs em indivíduos não respondedores e são constituídas por proteínas pré-S1 e pré-S2, além da proteína S. Essa vacina provou induzir uma resposta imune celular altamente eficaz em pessoas saudáveis (MCDERMOTT et al., 1998; KRAWCZYK et al., 2014; TAJIRI; SHIMIZU, 2015).

No Brasil, a implementação da vacina ocorreu de forma gradativa, inicialmente em 1989, com foco para áreas de risco e grupos particulares da região endêmica da Amazônia Ocidental (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1998; GADELHA; AZEVEDO, 2003). Em 1998, a vacina foi preconizada para todas as crianças menores de um ano nas distintas regiões brasileiras (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013). No ano de 2001, foi

ampliada para indivíduos na faixa etária menor de 20 anos e, em 2011, estendeu-se para indivíduos entre de 20 a 24 anos. No ano de 2012, a oferta foi ampliada para a faixa etária de 25 a 29 anos e, posteriormente, em 2013, sua indicação contemplava toda população até 49 anos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

É importante salientar que, em 2010, independente da faixa etária, a vacina foi disponibilizada para grupos mais vulneráveis em adquirir infecção pelo HBV, como HSH, profissionais do sexo, assentados, usuários de drogas injetáveis, portadores de infecções sexualmente transmissíveis (IST) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013). Somente em 2015, independente da condição de vulnerabilidade ou faixa etária, a vacina contra hepatite B foi incorporada pelo SUS e distribuída gratuitamente para todos os brasileiros (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015a).

No Brasil, além da vacinação, observam-se esforços do governo brasileiro para a criação e implementação de outras medidas de prevenção deste agravo. A criação e inauguração dos Centros de Testagem e Aconselhamento (CTA), em 1988, constitui uma destas medidas e possuem como foco, a oferta de testagem para IST, ações de educação em saúde e aconselhamento (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005; WOLFFENBÜTTEL; CARNEIRO, 2007).

Em 1988 e 1993, tornou-se obrigatória a testagem para o HBV em casos de transfusão sanguínea, para os marcadores HBsAg e anti-HBc, respectivamente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1993, 1998). Em 2004, foi desenvolvido o projeto para realização de Testes de Ácidos Nucleicos (NAT) para a triagem de bolsas de sangue em serviços de hemoterapia (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004). A partir da Resolução – RDC nº 75, de 2016, que dispõe sobre as Boas Práticas no Ciclo do Sangue, o NAT para HBV passou a ser obrigatório em todas as amostras de bolsas de sangue para transfusão (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016a).

Considerando a urgência de diminuir os índices de infecções transmitidas pelo sangue entre usuários de substâncias, produtos ou drogas que causem dependência, o MS lançou, em 2005, uma portaria que determina ações que visem à redução de danos decorrentes do uso destes. Essa política tem como objetivo estimular a adoção de comportamentos seguros, através do desestímulo em compartilhar materiais utilizados para os usos dessas substâncias. Além de conscientizar sobre os riscos que oferecem o consumo dessas, estimulam prevenção do vírus da imunodeficiência humana (HIV) e hepatites virais, orientação para práticas sexuais seguras, diagnóstico e tratamento do HIV e hepatites virais e imunização (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

Em 2011, foi implementado a testagem rápida para hepatite B, o que é de extrema importância como medida de triagem e controle das hepatites B e C (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011a). Os testes permitem a detecção precoce, ampliação do acesso ao tratamento, além de oportunizar educação em saúde, incluindo a recomendação da vacina contra hepatite B (ASPINALL et al., 2011). Somente em 2018, cerca de 9,6 milhões de pessoas foram testadas para hepatite B e C no Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

A Rede Cegonha é um programa lançado, também em 2011, para fornecer às mulheres qualidade de vida durante a gestação, parto, pós-parto e acompanhamento do desenvolvimento da criança até os dois primeiros anos de vida. Esta política prevê a prevenção e, quando necessário, o tratamento de IST/HIV/aids e hepatites virais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011b). Nesse sentido, ao longo do atendimento à gestante, deve-se fazer a investigação do HBsAg, recomendado no primeiro trimestre de gestação, além da imunização contra hepatite B e ações de educação em saúde com foco na promoção da saúde (ZHANG et al., 2014; NELSON; EASTERBROOK; MCMAHON, 2016; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017c).

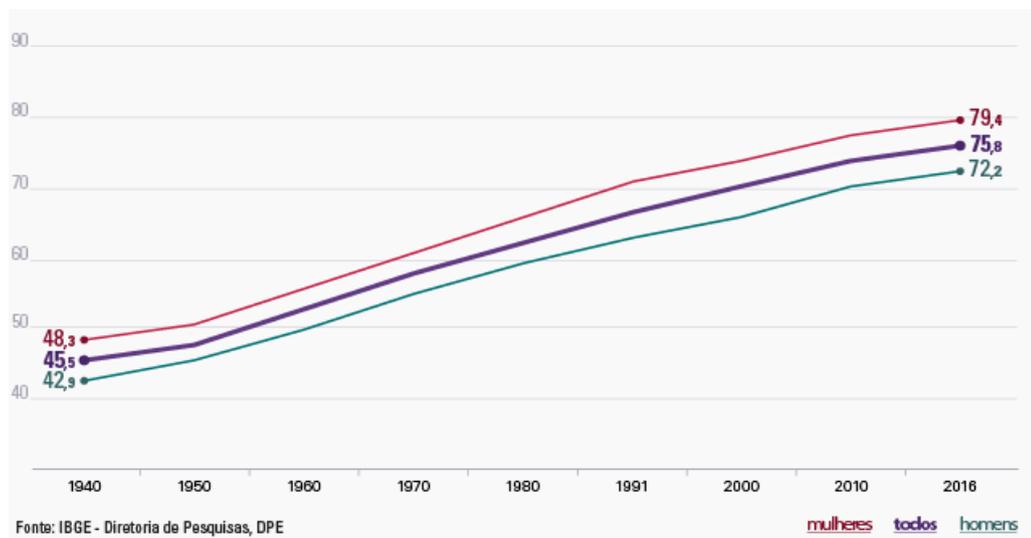
A criação e implantação do Programa Nacional de Prevenção e Controle das Hepatites Virais (PNHV), em fevereiro de 2012, também foi um marco importante na luta contra as hepatites virais no Brasil. O programa objetiva promover ações de promoção e prevenção a estes agravos; ampliar o acesso e qualidade dos serviços instalados em todos os níveis de complexidade e promover a vigilância epidemiológica e sanitária. Além disso, com o foco na redução da transmissão sexual e parenteral do HBV e C, o PNHV atua em parceria com a Coordenação de DST/Aids para ampliar campanhas de esclarecimento, distribuição de preservativos e programa de redução de danos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

Outra estratégia de prevenção e controle da hepatite B está relacionada à profilaxia pós-exposição (PEP) ao HBV (KUMAR et al., 2015). O MS prevê a utilização da Imunoglobulina Humana Anti-hepatite B (IGHAHB) diante das seguintes situações: vítimas de acidentes com material biológico infectado ou fortemente suspeito de infecção por HBV; comunicantes sexuais de casos agudos de hepatite B; vítimas de violência sexual; imunodeprimidos após exposição de risco, mesmo que previamente vacinados. A imunização para a hepatite B e o uso de IGHAHB também estão indicados na gestação, em qualquer idade gestacional (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017c).

1.6 Envelhecimento e Vulnerabilidade para Hepatite B

Nos últimos anos, sabe-se que o número de indivíduos em processo de envelhecimento vem aumentando no mundo. Desde 1950, nota-se um aumento na expectativa de vida (WHO, 2015a). A baixa taxa de natalidade (WHO, 2015b), a implementação de ações de política públicas e o acesso aos serviços de saúde são os principais fatores relacionados ao aumento da expectativa de vida (Figura 7).

Figura 7 - Expectativa de vida do brasileiro ao nascer, 1940-2016



Fonte: IBGE (2012), Diretoria de Pesquisa.

De acordo com o último censo realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2010, a população brasileira com 40 anos ou mais de idade era de 63.849.938, correspondendo a 33,5% da população total. Na Região Centro-Oeste, 4.364.992 indivíduos possuíam 40 anos ou mais de idade, representando 6,8% da população com esta faixa etária no Brasil (IBGE, 2010a). Em 2016, a expectativa de vida de uma pessoa, em média, era de 75,8 anos. Dentre os Estados brasileiros com maior expectativa de vida, destacam-se Santa Catarina (79,1 anos), Espírito Santo (78,2 anos), Distrito Federal (78,1 anos) e São Paulo (78,1 anos). Já os Estados com menores expectativas de vida são Piauí (71,1 anos) e Maranhão (70,6 anos). Em Goiás, a média da expectativa de vida é de 73,8 anos (IBGE, 2012).

O aumento significativo do número de pessoas mais velhas no país precisa ser acompanhado de uma melhoria na manutenção da saúde e qualidade de vida. Sabe-se da importância da investigação e intervenção em idosos na perspectiva das

doenças crônicas não transmissíveis (OLIVEIRA et al., 2018), por outro lado, tem-se observado um processo de envelhecimento da população brasileira com um perfil de indivíduos também vulneráveis a agravos infecciosos (ANDRADE et al., 2017). Muitos são os fatores que contribuem para a suscetibilidade e exposição às infecções transmissíveis em indivíduos mais velhos, tais como a diminuição na função do sistema imunológico (KOLDAŞ, 2017), desconhecimento sobre seu estado sorológico e sobre as formas de transmissão, tratamento e prevenção das doenças (WHO, 2015a) e baixa eficácia da resposta vacinal (CAETANO et al., 2017; KOLDAŞ, 2017; WEINBERGER, 2018), tabus referentes à sexualidade dos idosos, e, conseqüentemente, poucos esclarecimentos sobre prevenção, transmissão e demais questões envolvendo as infecções sexualmente transmissíveis (SILVA et al., 2017b).

De modo específico, o contexto da infecção pelo HBV no Brasil foi fortemente influenciado pelo modo gradual que foi introduzida a vacina contra hepatite B pelo Programa Nacional de Imunização (PNI). Somente após 2015 todos os indivíduos com idade igual ou superior a 50 anos foram incluídos como elegíveis para a vacinação e este fato contribuiu para o perfil de vulnerabilidade ao vírus em indivíduos mais velhos. Os longos anos sem uma intervenção efetiva para grupos acima de 40 anos foram responsáveis por uma maior carga de indivíduos em risco para infecção pelo HBV (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017a).

Além disso, mesmo após a disponibilização da vacina para esta faixa etária (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015b), observa-se que ações de vacinação devem ser incentivadas, uma vez que menores coberturas vacinais são encontradas entre indivíduos mais velhos (CARVALHO et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2017).

Um estudo, realizado por Caetano et al. (2017), no qual a coleta de dados ocorreu anteriormente à disponibilização da vacina para grupos de meia-idade e idosos, revelou que, do total de adultos com mais de 40 anos investigados (n=467), 19,3% dos participantes (IC95%:15,9%-23,1%) apresentaram positividade para o marcador anti-HBs isolado, sugerindo vacinação prévia contra hepatite B (CAETANO et al., 2017). Já investigações conduzidas a partir de 2013 mostraram padrão de prevalência semelhante ao anterior (OLIVEIRA et al., 2017), ratificando a fragilidade da implementação da vacina para grupos mais velhos, mesmo em populações vulneráveis (CARVALHO et al., 2017). Um estudo realizado na capital de Goiás, com 353 indivíduos em situação de rua, notou grande variação da taxa de anti-HBs isolado entre as faixas etárias, 53,6% dos indivíduos entre 18 a 30 anos possuíam títulos

protetores contra hepatite B, caindo para 1,4% em grupos com idade acima de 50 anos (CARVALHO et al., 2017).

Outra situação que contribui para o crescente risco de aquisição e transmissão da hepatite B é o aumento de indivíduos sexualmente ativos. Muitos são os mecanismos que estimulam a prática sexual entre adultos mais velhos, como reposição hormonal e medicações para impotência (THIAGO; RUSSO; CAMARGO-JR, 2016; SILVA et al., 2017b). Porém, observa-se que o sexo desprotegido é um comportamento frequentemente encontrado dentro deste grupo, que com o passar da idade diminui a preocupação com a concepção e associado à falta de conhecimento sobre as IST contribuem para a relutância ao uso do preservativo (SILVA et al., 2017b). Muito provavelmente este desconhecimento está relacionado à baixa percepção que a população idosa possui de sua própria vulnerabilidade às IST, propiciando o aumento do índice de indivíduos mais velhos infectados no cenário nacional (BRITO et al., 2016).

A invisibilidade da sexualidade dos idosos diante dos serviços de saúde é outro grande desafio da saúde pública do Brasil (DEBERT; BRIGEIRO, 2012) e que pode contribuir significativamente para altas prevalências de IST entre o grupo em questão.

2. JUSTIFICATIVA

Visto que as hepatites virais constituem um problema de saúde pública global, a Assembleia Mundial de Saúde, em 2016, aprovou o primeiro projeto de estratégia para auxiliar os países a alcançarem a eliminação destes agravos até 2030 (WHO, 2017). Ações nacionais, como disponibilização de vacinas, diagnóstico e oferta de tratamento para hepatite B e C, devem ser implementadas para concretizar este compromisso global (WHO, 2017). Um grande desafio a ser superado em todo mundo é o grande número de infectados que desconhecem sua condição sorológica (WHA, 2018).

Dos 325 milhões de indivíduos que convivem com hepatite viral, aproximadamente 90% não foram diagnosticados para hepatite B (O'HARA et al., 2017; WHO, 2017). Diante deste cenário, em 2018, a Aliança Mundial das Hepatites Virais apresentou um programa de três anos, que tem por objetivo ajudar os países a atingir a meta global de diagnosticar 30% das pessoas até 2020 e 95% até 2030 (WHA, 2018). O Brasil tem traçado suas próprias linhas de ação visando atingir tais metas a nível nacional (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). Porém, o diagnóstico tardio da infecção pelo HBV é um dos grandes problemas a serem superados pelo MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017a). A característica silenciosa de cronificação da hepatite B contribui para este panorama, que majoritariamente afeta indivíduos mais velhos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017a; WHO, 2017a).

Sabe-se que o aumento da expectativa de vida é uma realidade do cenário mundial e brasileiro (IBGE, 2012; WHO, 2015b). Por outro lado, vários são os fatores que contribuem para uma maior vulnerabilidade de indivíduos acima de 40 anos para aquisição de agravos infecciosos, incluindo o HBV, como baixa resposta vacinal (KOLDAŞ, 2017; WEINBERGER, 2018) e baixa eficácia do sistema imunológico (VAN DER MEEREN et al., 2015).

Além disso, nota-se que populações residentes em municípios do interior do Brasil, principalmente na zona rural, possuem restrições de acesso aos serviços de saúde, baixo conhecimento em relação à prevenção e seu estado de saúde, caracterizando-os em situações de vulnerabilidade (PUDELCO; KOEHLER; BISETTO, 2014; ANDRADE et al., 2017). Realmente, segundo o Boletim Epidemiológico observa-se um aumento da taxa de detecção da hepatite B em cidades interioranas quando comparadas com suas capitais. Acre, Rondônia, Mato

Grosso, Paraná, Santa Catarina, Amapá, Goiás e Pará apresentam este perfil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

Neste contexto, permanece a necessidade de se conhecer a epidemiologia da infecção pelo HBV em indivíduos com 40 anos ou mais de idade residentes no interior do país, principalmente na Região de Goiás, onde estudos analisando este cenário são inexistentes. Assim, a realização de investigações epidemiológicas para enfrentar esta lacuna de conhecimento é extremamente eficaz, uma vez que aprovisiona informações sobre o processo saúde-doença e, conseqüentemente, permite realizar ações de promoção e prevenção da saúde, além de aprimorar o atendimento à população brasileira (MEDRONHO et al., 2008). Enfim, esse estudo é de extrema relevância para o planejamento e efetivação de ações de prevenção e intervenção para a população mais velha de uma região interiorana de Goiás. Propicia, também, ampliação do acesso ao diagnóstico e encaminhamento para o tratamento em casos necessários, interrompendo a cadeia de transmissão do HBV.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Investigar a epidemiologia da infecção pelo HBV em indivíduos com idade igual ou superior a 40 anos de um município de pequeno porte do Sudeste de Goiás.

3.2 Objetivos Específicos

- Descrever as características sociodemográficas desses indivíduos;
- Estimar a prevalência dos marcadores do HBV;
- Analisar os fatores associados a exposição pelo HBV neste grupo;
- Descrever os conhecimentos dos sujeitos envolvidos a respeito da infecção pelo HBV;
- Caracterizar os indivíduos com infecção ativa para a hepatite B.

4. METODOLOGIA

4.1 Delineamento do Estudo

Este estudo é parte do projeto intitulado “Epidemiologia das IST/HIV/AIDS, hepatites virais e avaliação da imunogenicidade da vacina contra hepatite B monovalente em indivíduos com 40 anos ou mais”. Trata-se de um estudo transversal analítico.

4.2 Local do Estudo, População Alvo e Amostra

A população foi composta por indivíduos com idade igual ou superior a 40 anos, residentes no município de Goiandira, Goiás. Para o cálculo amostral, considerou-se uma prevalência de 8,6% para exposição ao HBV em indivíduos com mais de 40 anos de idade de Goiás (ANJOS et al., 2010), precisão de 3%, efeito de desenho de 1,3, poder estatístico de 80% ($\beta=20\%$) e nível de significância de 95% ($\alpha<0,05$). Assim, seriam necessárias 437 pessoas para compor a amostra.

O estudo foi realizado em uma cidade de pequeno porte de Goiás, haja vista a mudança do perfil epidemiológico das IST/HIV/aids e hepatites virais no Brasil, com tendência à interiorização (SILVA et al., 2017a). Além disso, considerou-se aquela cidade que apresentasse grande concentração de indivíduos de meia-idade e idosos. Goiandira é uma cidade de pequeno porte localizada no Sudeste de Goiás, a 266 km de distância da capital (Figura 8).

Figura 8 - Mapa da localização da Cidade de Goiandira- Goiás



Fonte: Wikipedia (2006).

De acordo com o último censo, a população geral é composta por 5.265 habitantes e aproximadamente 42% dos indivíduos possuem idade igual ou superior a 40 anos, superior à taxa nacional. O Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) do município é de 0,760, estando, portanto, em quarto lugar no *ranking* de Goiás, onde Goiânia lidera com IDH de 0,799 (IBGE, 2010b). Além disso, o município possui 100% de cobertura pela Estratégia Saúde da Família.

4.2.1 Critérios de Inclusão

- Residir no município de Goiandira, Goiás;
- Possuir idade ≥ 40 anos;
- Estar cadastrado na Estratégia Saúde da Família (ESF).

4.2.2 Critérios de Exclusão

- Estar sob efeito de drogas psicoativas no momento da entrevista;
- Possuir relato e/ou registro de diagnóstico de doença de Alzheimer e/ou outros tipos de demências;
- Possuir relato e/ou registro realizado por um profissional da saúde de algum tipo de alteração cognitiva.

4.3 Coleta de Dados

Inicialmente, em março de 2017, foi estabelecida uma parceria entre a equipe de pesquisadores e membros da Secretaria Municipal de Saúde (SMS) de Goiandira. Após definição do período de coleta de dados, foram desenvolvidos métodos de divulgação da campanha denominada “Saúde mais 40” (Figura 9).

Assim, aproximadamente uma semana anterior à coleta de dados, foram realizadas divulgações pela cidade utilizando som automotivos e convite presencial, por meio dos agentes comunitários, para toda a população que contemplasse os critérios de inclusão.

Figura 9 - Divulgação da campanha denominada “Saúde mais 40”

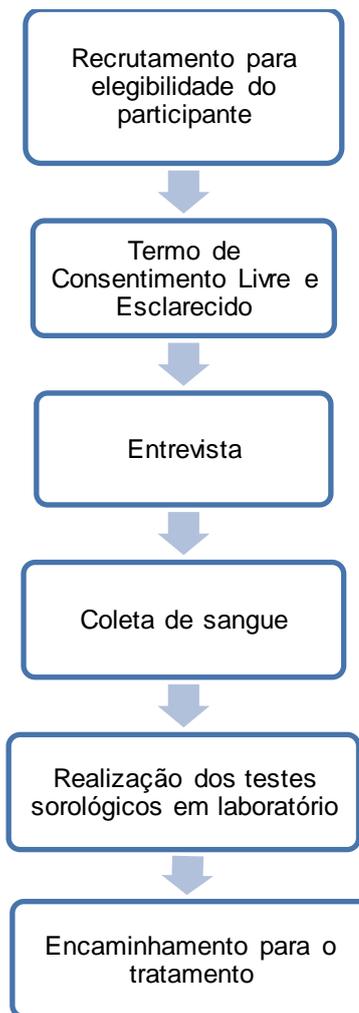


Fonte: Acervo pessoal.

A coleta de dados foi realizada entre 31 de julho a 5 de agosto de 2017. Durante esse período, dois postos de coleta foram estruturados em duas unidades básicas de saúde, a fim de atenderem a demanda de todo município. Além disso, busca ativa foi realizada nas áreas rurais e para aqueles indivíduos que possuíam alguma limitação física para acessar os postos de coleta. A amostragem por conveniência foi constituída de participantes incluídos por ordem de chegada e/ou busca ativa até alcance do tamanho amostral previamente definido.

Inicialmente, um membro da equipe de pesquisa realizava o recrutamento para elegibilidade do participante. Após esta etapa, o indivíduo era encaminhado para o entrevistador, que esclarecia a proposta do estudo, os aspectos éticos e, no caso de aceite, aplicava o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A) e posteriormente iniciava a entrevista.

Em seguida, o participante era encaminhado para coleta de sangue (Figura 10).

Figura 10 - Fluxograma da coleta de dados

Fonte: Elaborado pela autora.

O instrumento para coleta de dados foi composto por um questionário estruturado (APÊNDICE B) contendo perguntas sobre características sociodemográficas, condições de saúde, comportamentos de risco e conhecimento/opinião sobre hepatite B, adaptado do instrumento utilizado na PCAP pelo MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016b). A entrevista foi realizada por alunos de pós-graduação e/ou iniciação científica, integrantes do NECAIH, da Faculdade de Enfermagem da UFG e todos foram previamente capacitados. Saliencia-se que as entrevistas foram realizadas individualmente e em local capaz de respeitar a privacidade dos participantes.

Após a entrevista, foram coletados 10 ML de sangue por meio de punção venosa, utilizando-se seringa e agulha descartáveis (Figura 11). O sangue obtido foi

conservado em tubo de ensaio numerado, de acordo com o número de ID, para detecção de todos os marcadores sorológicos e moleculares do HBV.

Figura 11 - Preparação da equipe para coleta de sangue



Fonte: Acervo pessoal.

Os soros foram separados e estocados a -20°C e o transporte das amostras sanguíneas do local da coleta (Goiandira) para Goiânia foi realizado de acordo com as normas de biossegurança, preconizadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) (ANVISA, 2016). Todas as amostras foram armazenadas no Laboratório Multiusuário de Pesquisa Clínica da Faculdade de Enfermagem (LAMPEC/UFG) e os resultados dos exames registrados no Laudo do Diagnóstico (APÊNDICE C).

4.4 Testes Laboratoriais

Todas as amostras de soro obtidas foram testadas para os marcadores sorológicos HBsAg, anti-HBc total e anti-HBs, pelo ELISA (Figura 12), utilizando reagentes comerciais, de acordo com as recomendações do fabricante (Tabela 3). Os testes para detecção do HBsAg, anti-HBc total, anti-HBs foram realizados no Laboratório de Virologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (IPTSP/UFG). Já aqueles que foram positivos para HBsAg foram submetidos à testagem sorológica para identificação dos marcadores anti-HBc IgM, anti-HBe e HBeAg, utilizando reagentes comerciais, de acordo com as recomendações do fabricante (Tabela 3), e foram realizados no Laboratório Margarida Doblner Komma, IPTSP/UFG.

Figura 12 - Realização do teste ELISA

Fonte: Acervo pessoal.

Tabela 3 - Relação dos testes sorológicos realizados segundo os princípios, reagentes comerciais e protocolos estabelecidos

Marcadores	Testes sorológicos	Reagentes comerciais	Protocolos
anti-HBc total	ELISA-Competição	Symbiosys Diagnóstica Ltda., São Paulo, Brasil.	Anexo A
anti-HBc IgM	Quimioluminescência	Architect® System, Abbott, Wiesbaden, Alemanha	Anexo B
anti-HBs	ELISA-Sanduíche	Diagnostic Bioprobes Srl., Milão, Itália.	Anexo C
HBsAg	ELISA-Sanduíche	Autobio Diagnostics CO., Zhenyzhou, China.	Anexo D
HBeAg	ELISA	Symbiosys Diagnóstica Ltda., São Paulo, Brasil.	Anexo E
anti-HBe	ELISA	Symbiosys Diagnóstica Ltda., São Paulo, Brasil.	Anexo F

4.5 Testes Moleculares

As amostras que foram positivas para o marcador HBsAg foram submetidas à extração do ácido nucleico do HBV.

4.5.1 Detecção do HBV-DNA

Para evitar a contaminação cruzada entre as amostras durante os testes moleculares, áreas específicas do Laboratório de Virologia do IPTSP/UFG foram designadas para o manuseio dos reagentes, das amostras e dos produtos amplificados. Controles positivos e negativos foram incluídos em todas as extrações de DNA e nas reações de amplificação por PCR.

4.5.2 Extração do HBV-DNA

Para extração do ácido nucleico do HBV, utilizou-se o kit comercial da *Roche High Pure Viral Nucleic Acid Kit Version 18* (ref 11858874001) (*Roche Diagnostics GmbH, EUA*) e seguiu-se as instruções do fabricante.

4.5.3 Reação em Cadeia pela Polimerase

Após a extração do DNA, a região pré-S/S do genoma do HBV foi amplificada por uma *semi-nested* PCR, com sensibilidade de detecção de três moléculas de DNA por ensaio, conforme descrito por Motta-Castro et al. (2008).

A primeira etapa de amplificação (PCR-1) foi realizada utilizando-se uma mistura contendo 1 pmol dos primers PS1 e S2/S22 (Invitrogen®), 3 mM de cloreto de magnésio (MgCl), 0,2 mM de cada desoxirribonucleotídeos trifosfatados (dNTP) – dATP, dTTP, dCTP, dGTP, tampão 10X, 2 µL do DNA extraído e 1 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen®), em um volume final de 50 µL. Os tubos contendo essa mistura foram levados ao termociclador com o seguinte programa: 94°C por 3 minutos (desnaturação inicial da fita de DNA), 30 ciclos de 95°C por 30 segundos, 52°C por 40 segundos, 72°C por 2 minutos (desnaturação, anelamento e extensão, respectivamente), seguido pelo alongamento final a 72°C durante 7 minutos. O produto final obtido foi de 1.236 bp.

Em seguida, para a segunda PCR, utilizou-se 1 µL do produto da PCR-1, em uma mistura com os primers PS1 e SR (Invitrogen®) nas mesmas condições descritas na primeira amplificação. Essa mistura foi levada ao termociclador no seguinte programa: 94°C por 3 minutos, 30 ciclos de (94°C por 20 segundos, 55°C por 20 segundos, 72°C por 1 minuto) e 72°C por 7 minutos, resultando um produto final de 1.099 pb.

4.5.4 Eletroforese em Gel de Agarose

Preparou-se o gel de agarose a 2% em TBE (tampão tris-borato-EDTA) e adicionou-se brometo de etídeo. Os produtos obtidos após a *semi-nested* PCR e o marcador de peso molecular (100 pb) foram misturados ao azul de bromofenol, aplicados ao gel e submetidos à eletroforese. Posteriormente, as bandas formadas foram visualizadas em transluminador de luz ultravioleta (UV).

4.6 Variáveis do Estudo

4.6.1 Variável de Desfecho

Positividade para os marcadores sorológicos de infecção e/ou exposição pelo HBV: HBsAg e/ou anti-HBc total (ELISA).

4.6.2 Variáveis de Predição

- **Sociodemográficas:** idade (anos), sexo, cor autodeclarada, estado civil, escolaridade (anos), religião, zona de moradia, renda e acesso à internet.
- **Relacionadas aos comportamentos de risco sexual:** Idade da primeira relação sexual; relação sexual com pessoas do mesmo sexo; conhece lubrificantes íntimos mesmo que só de ouvir falar; conhece preservativo masculino; conhece preservativo feminino; relação sexual com profissional do sexo; utilizou preservativo masculino; história de IST; história de ferida genital na vida; história de bolhas genital na vida; história de verruga genital na vida; história de corrimento na vida; procurou tratamento para IST na unidade de saúde; história de uso de droga ilícita na vida; uso de álcool na vida; história de cárcere; sofreu algum tipo de violência; história de ferida genital nos últimos 12 meses; tipo de parceiro sexual nos últimos 12 meses; número de parceiros sexuais nos últimos 12 meses; relações sexuais com parceiros casuais nos últimos 12 meses; usou preservativo na última relação sexual.
- **Relacionadas aos comportamentos de risco parenteral:** História de internação hospitalar; história de diabetes; história de hemodiálise; história de hemotransfusão; compartilhamento de material cortante de higiene; possui tatuagem ou piercing; já foi em dentista prático.

- **Conhecimento em relação às hepatites virais:** Inicialmente questionou-se ao participante se já ouviu falar de hepatites virais. Independentemente da resposta, em sequência, três afirmações eram lidas para o participante e para cada afirmativa, três opções de resposta (verdadeiro, falso e não sabe) e uma única escolha. Seguem as duas frases afirmativas: “uma pessoa pega o vírus da hepatite B, C ou D compartilhando lâminas de barbear ou depilar”, “uma pessoa pode ser infectada pelo vírus da hepatite B, C ou D ao realizar qualquer cirurgia”.

Tais perguntas foram adaptadas do instrumento utilizado na PCAP pelo MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016b).

4.7 Análise dos Dados

Os dados das entrevistas e dos testes sorológicos foram digitados em microcomputador e foram analisados empregando o programa estatístico *Data Analysis and Statistical Software* (STATA), versão 13.0 (*StataCorp., College Station, TX*). Foram calculadas proporções, média e desvio padrão. Prevalências foram estimadas considerando intervalo de confiança de 95%. Inicialmente, foi realizada a análise bivariada de potenciais fatores associados ao HBV (positividade para HBsAg e/ou anti-HBc). A seguir, as variáveis que apresentaram valor de $p \leq 0,20$ e/ou potencial de confundimento foram analisadas em um modelo múltiplo por regressão logística, utilizando o método *Forward* como critério de seleção. Para estimar a magnitude das diferenças, foi utilizada como medida de associação Razão de Chances (*Odds Ratio* - (OR)), com seus respectivos intervalos de confiança de 95%. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes.

4.8 Preceitos Éticos

Esta dissertação é parte de um projeto âncora denominado “Epidemiologia das IST/HIV/aids, hepatites virais e avaliação da imunogenicidade da vacina contra hepatite B monovalente em indivíduos com 40 anos ou mais”. O projeto de pesquisa foi encaminhado para apreciação e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFG (Parecer nº 2.928.329) (ANEXO G). Com a intenção de garantir anonimato e sigilo dos dados obtidos, os usuários foram identificados por siglas, referente às iniciais do nome e numerados de acordo com a ordem das entrevistas em cada centro de saúde. Ainda, aqueles participantes que obtiveram resultados positivos, seja nos

testes rápidos ou sorológicos para HBV, foram conduzidos para testes confirmatórios e tratamento, através do encaminhamento para consulta médica ou consulta com o enfermeiro da unidade dos Centros de Saúde do Município de Goiandira-GO.

4.9 Financiamento

O apoio financeiro foi concedido pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) Universal/2016 (Processo nº 409210/2016-1). Além disso, o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (Capes), código do financiamento 001.

5. RESULTADOS

5.1 Características Sociodemográficas

Participaram do estudo 445 pessoas, a Tabela 4 apresenta as características sociodemográficas destes indivíduos. Deste total, 44,3% tinham 60 anos ou mais de idade, 61,8% eram do sexo feminino e 57,5% eram casados ou viviam em união consensual. Quanto ao nível de escolaridade, 67,6% apresentaram menos de nove anos de estudo. Quase a totalidade (94,2%) afirmou ter alguma religião. Em relação ao local de moradia, somente 11% residiam na zona rural e 49,2% afirmaram renda mensal igual ou superior a R\$1.875,00 reais (Tabela 4).

Tabela 4 - Variáveis sociodemográficas de 445 residentes de um município de pequeno porte da região Sudeste de Goiás, 2017

Variáveis	n	(%)
Idade (anos) 58,7 (11)*		
40-49	104	23,4
50-59	144	32,3
≥ 60	197	44,3
Sexo		
Masculino	170	38,2
Feminino	275	61,8
Cor autodeclarada		
Branca	183	41,1
Parda	206	46,3
Preta	52	11,7
Amarela (oriental)	4	0,9
Estado civil		
Casado/união consensual	256	57,5
Solteiro/viúvo/separado	189	42,5
Escolaridade (anos) 7,0 (4,7)*		
>9	144	32,4
5-9	128	28,8
< 5	173	38,8
Religião		
Sem religião	26	5,8
Com religião	419	94,2
Zona de moradia		
Zona urbana	396	89,0
Zona rural	49	11,0
Renda (Reais) R\$2.658,04 (R\$3.227,09)* /SI (n=2)**		
≤ 937,00	82	18,5
938,00-1.874,00	143	32,3
≥ 1.875,00	218	49,2
Acesso à Internet		
Não	253	56,8
Sim	192	43,2

*Média (desvio-padrão). **SI: sem informação.

5.2 Marcadores Sorológicos da Infecção pelo Vírus da Hepatite B

Dos 445 participantes investigados, 66 apresentaram pelo menos um marcador sorológico de exposição pelo HBV, resultando em uma prevalência global de 14,8% (IC95%: 11,7%-18,5%). O marcador HBsAg foi detectado em três amostras (0,6%; IC95%: 0,2%-2,0%). O marcador anti-HBc foi detectado em 65 amostras, sendo 48 associados ao anti-HBs e em 16 isoladamente. Em 22,7% (IC95%: 18,9%-26,9%) observou-se positividade isolada para o marcador anti-HBs, indicando vacinação prévia contra hepatite B (Tabela 5).

Tabela 5 - Prevalência dos marcadores sorológicos do vírus da hepatite B em 445 participantes residentes em um município de pequeno porte da região Sudeste de Goiás, 2017

Marcadores sorológicos	Positivo		IC95% (%)
	n	%	
HBV global (HBsAg e/ou anti-HBc)	66	14,8	11,7-18,5
HBsAg + anti-HBc + anti-HBs	1	0,2	0,1-1,3
HBsAg + anti-HBs	1	0,2	0,1-1,3
HBsAg + anti-HBc	1	0,2	0,1-1,3
Anti-HBs + anti-HBc	48	10,8	8,2-14
Anti-HBc isolado	16	3,6	2,2-5,8
Anti-HBs isolado	101	22,7	19,1-26,8

HBV: vírus da hepatite B.

5.3 Análise Bivariada das Características Sociodemográficas para Hepatite B

A Tabela 6 apresenta a análise bivariada das características sociodemográficas associadas ao HBV na população de estudo. As seguintes variáveis foram estaticamente associadas à exposição ao HBV ($p < 0,05$): idade entre 50-59 anos ($p = 0,024$) e ≥ 60 ($p = 0,003$), residir na zona rural ($p = 0,001$) e ter acesso a internet ($p = 0,001$). Observa-se que idade, sexo, zona de moradia e acesso à internet foram incluídos na regressão múltipla ($p \leq 0,2$) (Tabela 6).

Tabela 6 – Análise bivariada das características sociodemográficas associadas ao vírus da hepatite B em 445 residentes de um município de pequeno porte da região Sudeste de Goiás, 2017

Variáveis	n (%)	HBV (n=445)		p-valor**	Análise bivariada OR (IC95%)
		Positivo (n=66)	(%)		
Idade (anos) 58,7 (11) *					
40-49	104 (23,4)	6	5,8	-	1,0
50-59	144 (32,3)	22	15,3	0,024	2,9 (1,15-7,55)
≥ 60	197 (44,3)	38	19,3	0,003	3,9 (1,59-9,57)
Sexo					
Masculino	170 (38,2)	32	18,8	-	1,0
Feminino	275 (61,8)	34	12,36	0,064	0,6 (0,4-1,0)
Cor autodeclarada					
Branca	183 (41,1)	29	15,9	-	1,0
Parda	206 (46,3)	30	14,6	0,725	0,9 (0,5-1,6)
Preta	52 (11,7)	6	11,5	0,443	0,7 (0,3-1,8)
Amarela (oriental)	4 (0,9)	1	25,0	0,626	1,8 (0,2-17,6)
Estado civil					
Casado/união consensual	256 (57,5)	36	14,1	-	1,0
Solteiro/viúvo/separado	189 (42,5)	30	15,9	0,595	1,2 (0,7-2,0)
Escolaridade (anos) 7,0 (4,7)*					
>9	144 (32,4)	18	12,5	-	1,0
5-9	128 (28,8)	18	14,1	0,704	1,2 (0,6-2,3)
< 5	173 (38,8)	30	17,3	0,233	1,5 (0,8-2,8)
Religião					
Sem religião	26 (5,8)	5	19,2	-	1,0
Com religião	419 (94,2)	61	14,6	0,517	0,7 (0,3-2,0)
Zona de moradia					
Zona urbana	396 (89,0)	51	12,9	-	1,0
Zona rural	49 (11,0)	15	30,6	0,001	2,9 (1,5-5,9)
Acesso à Internet					
Não	253 (56,8)	48	18,9	-	1,0
Sim	192 (43,2)	18	9,4	0,006	0,4 (0,3-0,8)

HBV: vírus da hepatite B; OR: *Odds ratio*; IC95%: intervalo de confiança de 95%; *Média (desvio-padrão). **Teste qui-quadrado e Fischer.

5.4 Análise Bivariada das Característica e Comportamentos de Risco Sexual para Hepatite B

A Tabela 7 apresenta a análise bivariada das características e comportamentos de risco sexual associados ao HBV na população de estudo. As variáveis “ter relações sexuais com profissionais do sexo (p=0,007)”, “apresentar história de ferida genital (p= 0,026)” e “ter história de verruga genital (p=0,040)” foram

estaticamente associadas à exposição ao HBV ($p < 0,05$). Além disso, podemos observar que relatar sexo com pessoas do mesmo sexo e sexo com profissional do sexo, não ter utilizado preservativo masculino e história de ferida e verruga genitais apresentaram $p \leq 0,2$ e foram, portanto, incluídos na regressão logística (Tabela 7).

Tabela 7 - Análise bivariada das características e comportamentos de risco sexual associados ao vírus da hepatite B em 445 residentes de um município de pequeno porte da região Sudeste de Goiás, 2017

Variáveis	n (%)	HBV (n=445)		p-valor***	Análise bivariada OR (IC95%)
		(n=66)	(%)		
Idade da primeira relação sexual 17,9 (5,4) */ SI (n=6) **					
≥ 16 anos	309 (70,4)	43	13,9	-	1,0
Até 15 anos	130 (29,6)	22	16,9	0,419	1,3 (0,7-2,2)
Relação sexual com pessoas do mesmo sexo					
Não	433 (97,3)	62	14,3	-	1,0
Sim	12 (2,7)	4	33,3	0,081	2,9 (0,9-10,2)
Conhece lubrificantes íntimos mesmo que só de ouvir falar /SI (n=2) **					
Sim	264 (59,6)	38	14,4	-	1,0
Não	179 (40,4)	27	15,1	0,840	1,1 (0,6-1,8)
Conhece preservativo masculino					
Não	54 (12,1)	7	12,9	-	1,0
Sim	391 (87,9)	59	15,1	0,681	1,2 (0,5-2,8)
Conhece preservativo feminino					
Sim	227 (51,0)	30	10,1	-	1,0
Não	218 (49,0)	36	16,5	0,329	1,3 (0,8-2,2)
Já teve relação sexual com profissional do sexo					
Não	353 (79,3)	44	12,5	-	1,0
Sim	92 (20,7)	22	23,9	0,007	2,2 (1,2-3,9)
Já utilizou preservativo masculino / SI (n=2) **					
Sim	235 (53,0)	30	12,8	-	1,0
Não	208 (47,0)	36	17,3	0,182	1,4 (0,9-2,4)
História de IST					
Não	312 (70,1)	45	14,4	-	1,0
Sim	133 (29,9)	21	15,8	0,711	1,1(0,6-2,0)
História de ferida genital na vida					
Não	409 (91,9)	56	13,7	-	1,0
Sim	36 (8,1)	10	27,8	0,026	2,4 (1,1-5,3)
História de bolhas genital na vida					
Não	422 (94,8)	63	14,9	-	1,0
Sim	23 (5,2)	3	13,0	0,805	0,9 (0,3-3,0)
História de verruga genital na vida					
Não	417 (93,7)	58	13,9	-	1,0
Sim	28 (6,3)	8	28,6	0,040	2,5 (1,0-5,9)

OR: Odds ratio; IC95%: intervalo de confiança de 95%; *Média (desvio-padrão). **SI: sem informação.***Teste quiquadrado e Fischer.

Tabela 7 - Análise bivariada das características e comportamentos de risco sexual associados ao vírus da hepatite B em 445 residentes de um município de pequeno porte da região Sudeste de Goiás, 2017 (continuação)

Variável	n (%)	HBV (n=445)		p-valor***	Análise bivariada OR (IC95%)
		(n=66)	(%)		
Procurou tratamento IST na unidade de saúde/SI (n=2)**					
Não/Não sabe	318 (71,8)	46	14,5	-	1,0
Sim	125 (28,2)	20	16,0	0,683	1,1 (0,6-2,0)
História de uso de droga ilícita na vida					
Não	430 (96,6)	64	14,9	-	1,0
Sim	15 (3,4)	2	13,3	0,868	0,9 (0,2-4,0)
Uso álcool na vida					
Não	176 (39,6)	26	14,8	-	1,0
Sim	269 (60,4)	40	14,9	0,978	1,0 (0,6-1,7)
História de cárcere /SI (n= 1)					
Não	411 (92,6)	58	14,1	-	1,0
Sim	33 (7,4)	7	21,2	0,271	1,6 (0,7-4,0)
Já sofreu algum tipo de violência					
Não	361 (81,1)	54	14,9	-	1,0
Sim	84 (18,9)	12	14,3	0,876	0,9 (0,5-1,9)
História de ferida genital nos últimos 12 meses/SI (n=1)**					
Não	439 (98,9)	65	14,8	-	1,0
Sim	5 (1,1)	1	20,0	0,747	1,4 (0,2-13,1)
Tipo de Parceiro sexual nos últimos 12 meses					
Não teve relação sexual	99 (22,2)	14	14,1	-	1,0
Sexo oposto	346 (77,8)	52	15,0	0,827	1,1 (0,6-2,0)
Número de parceiros sexuais nos últimos 12 meses 1,5 (3,8)*					
Não teve relação sexual	99 (22,2)	14	14,1	-	1,0
Um parceiro	275 (61,8)	40	14,5	0,922	1,0 (0,5-1,9)
Dois ou mais parceiros	71 (16)	12	16,9	0,622	1,2 (0,5-2,9)
Relações sexuais com parceiros casuais nos últimos 12 meses/SI (n=6)**					
Não	369 (84,1)	51	13,8	-	1,0
Sim	70 (15,9)	12	17,1	0,468	1,3 (0,7-2,6)
Usou preservativo na última relação sexual/SI (n=1)**					
Sim	57 (12,8)	10	17,5	-	1,0
Não	387 (87,2)	55	14,2	0,507	0,8 (0,4-1,6)

OR: Odds ratio; IC95%: intervalo de confiança de 95%;*Média (desvio-padrão).** SI: sem informação. ***Teste qui-quadrado e Fischer.

5.5 Análise Bivariada dos Comportamentos de Risco Parenteral para Hepatite B

Os comportamentos de risco parenteral para a hepatite B foram apresentados na Tabela 8. Nota-se que não houveram variáveis estaticamente associadas ao HBV ($p < 0,05$). As variáveis história de internação hospitalar e história de hemotransusão foram incluídas na Regressão Logística ($p \leq 0,2$) (Tabela 8).

Tabela 8 - Análise bivariada de potenciais comportamentos de risco parenteral associados ao vírus da hepatite B em 445 residentes de um município de pequeno porte da região Sudeste de Goiás, 2017

Variáveis	n (%)	HBV (n=445)		p-valor**	Análise bivariada OR (IC95%)
		Positivo (n=66)	(%)		
História de internação hospitalar/SI (n=1)*					
Não	32 (7,2)	2	6,3	-	1,0
Sim	412 (92,8)	63	15,3	0,180	2,7 (0,6-11,6)
Possui diabetes					
Não/ Não sabe	388 (87,2)	60	15,5	-	1,0
Sim	57 (12,8)	6	10,5	0,331	0,6 (0,3-1,6)
História de hemodiálise					
Não	443 (99,6)	65	14,7	-	1,0
Sim	2 (0,4)	1	50,0	0,215	5,8 (0,4-94,1)
História de hemotransusão					
Não	378 (84,9)	52	13,4	-	1,0
Sim	67 (15,1)	14	20,9	0,133	1,7 (0,9-3,2)
Compartilhamento de material cortante de higiene/SI (n=1)*					
Não	188 (42,3)	32	17,0	-	1,0
Sim	256 (57,7)	33	12,9	0,225	0,7 (0,4-1,2)
Possui tatuagem ou piercing					
Não	400 (89,9)	61	15,3	-	1,0
Sim	45 (10,1)	5	11,1	0,461	0,7 (0,3-1,8)
Já foi em dentista prático/SI (n=7)*					
Não	269 (61,4)	40	14,9	-	1,0
Sim	169 (38,6)	24	14,2	0,847	0,9 (0,6-1,6)

OR: Odds ratio; IC95%: intervalo de confiança de 95%;* SI: sem informação. **Teste quiquadrado e Fischer.

5.6 Conhecimentos em Relação às Hepatites Virais

A Tabela 9 apresenta o conhecimento sobre hepatites virais dos participantes do estudo. Observa-se que não houveram variáveis estaticamente associadas ao HBV. Somente a variável “Uma pessoa pega o vírus da hepatite B, C ou D compartilhando lâminas de barbear ou depilar” apresentou $p \leq 0,2$ e foi, portanto, incluída na regressão logística (Tabela 9).

Tabela 9 - Análise bivariada dos conhecimentos sobre hepatites virais associados ao vírus da hepatite B em 445 residentes de um município de pequeno porte da região Sudeste de Goiás, 2017

Variável	n (%)	HBV (n=445)		p-valor*	Análise bivariada OR (IC95%)
		Positivo (n=66)	(%)		
Já ouviu falar de hepatites virais?					
Não	39 (8,8)	4	10,3	-	1,0
Sim	406 (91,2)	62	15,3	0,404	1,6 (0,5-4,6)
Uma pessoa pega o vírus da hepatite B, C ou D compartilhando lâminas de barbear ou depilar					
Acertou	255 (57,3)	32	12,5	-	1,0
Errou	57 (12,8)	9	15,8	0,514	1,3 (0,6-2,9)
Não sabe	133 (29,9)	25	18,8	0,101	1,6 (0,9-2,9)
Uma pessoa pode ser infectada pelo vírus da hepatite B, C ou D ao realizar qualquer cirurgia					
Acertou	274 (61,6)	43	15,7	-	1,0
Errou	61 (13,7)	7	11,5	0,405	0,7 (0,3-1,6)
Não sabe	110 (24,7)	16	14,5	0,778	0,9 (0,5-1,7)

OR: *Odds ratio*; IC95%: intervalo de confiança de 95%; * Teste qui-quadrado e Fischer.

5.7 Análise Múltipla das Variáveis Associadas ao Vírus da Hepatite B

Após regressão logística múltipla, observou-se que permaneceram associadas significativamente à exposição ao HBV as seguintes variáveis: idade entre 50-59 anos ($p=0,023$) e idade ≥ 60 anos ($p=0,007$), residir na zona rural ($p=0,009$), ter história de verruga genital ($p=0,034$) e ter relações sexuais com profissionais do sexo ($p=0,023$) (Tabela 10).

Tabela 10 - Análise múltipla das variáveis sociodemográficas e comportamentais associadas ao vírus da hepatite B em 445 residentes de um município de pequeno porte da região Sudeste de Goiás, 2017

Variáveis	Análise multivariada (n=445)	
	p-valor*	OR (IC95%)
Idade (anos)		
40-49	-	1,0
50-59	0,023	3,0 (1,2-7,8)
≥ 60	0,007	3,5 (1,4-8,7)
Zona de Moradia		
Zona Urbana	-	1,0
Zona Rural	0,009	2,5 (1,3-5,1)
História de verruga genital		
Não	-	1,0
Sim	0,034	2,7 (1,2-6,8)
Já teve relações sexuais com profissionais do sexo		
Não	-	1,0
Sim	0,023	2,0 (1,1-3,6)

OR: *Odds ratio*. IC95%: intervalo de confiança de 95%. * Teste quiquadrado e Fischer.

5.8 Caracterização das Amostras HBsAg Reagentes

Três participantes do estudo apresentaram o marcador HBsAg positivo, indicando infecção ativa para hepatite B. A Tabela 11 mostra os marcadores sorológicos e moleculares a partir das amostras destes indivíduos. Aquele em que a sorologia foi negativa para anti-HBc exibiu positividade para HBV-DNA.

Tabela 11 - Marcadores sorológicos e moleculares dos três indivíduos infectados pelo HBV, 2017

Testes	Indivíduos infectados pelo HBV		
	GOI-161	GOI-192	GOI-565
HBsAg Elisa	+	+	+
Anti-HBc IgM	-	-	-
Anti-HBc Total	+	+	-
Anti-HBs	-	+	+
HBV-DNA	-	-	+
HBeAg	-	-	-
Anti-HBe	+	-	-

As características destes indivíduos foram apresentadas na Tabela 12. A idade variou entre 62 a 75 anos e, destes, dois eram do sexo feminino e todos (n=3) residiam na zona urbana do município. Um indivíduo possuía história de ferida genital e todos negaram história de verruga genital na vida. Somente um participante afirmou ter relações sexuais com profissionais do sexo, todos negaram relações sexuais com pessoas do mesmo sexo e dois afirmaram não ter utilizado preservativo masculino na vida. Todos negaram o uso de preservativo na última relação sexual. Nenhum indivíduo recebeu hemotransfusão, mas três possuíam história de internação hospitalar. Quando questionados se uma pessoa pega o vírus da hepatite B, C ou D compartilhando lâminas de barbear ou depilar, um errou a sentença e os outros dois acertaram. Dois afirmaram compartilhar matérias cortantes de higiene (Tabela 12).

Tabela 12 - Características dos três indivíduos HBsAg positivos, 2017

Variáveis	Indivíduos HBsAg positivos		
	GOI 161	GOI 192	GOI 565
Idade (anos)	62	57	75
Sexo	Masculino	Feminino	Feminino
Estado civil	Separado	Solteira	Viúva
Zona de moradia	Urbana	Urbana	Urbana
Acesso à Internet	Sim	Não	Não
História de diabetes	Não	Não	Não
História de ferida genital na vida	Não	Sim	Não
História de bolhas na vida	Não	Sim	Não
História de verruga genital na vida	Não	Não	Não
História de corrimento na vida	Sim	Não	Não
Já teve relação sexuais com profissionais do sexo	Sim	Não	Não
Relação sexual com pessoas do mesmo sexo	Não	Não	Não
Já utilizou preservativo masculino na vida	Sim	Não	Não
História de ferida genital nos últimos 12 meses	Não	Não	Não
História de bolhas nos últimos 12 meses	Não	Não	Não
História de verruga genital nos últimos 12 meses	Não	Não	Não
História de corrimento nos últimos 12 meses	Não	Não	Não
Tipo de parceiro sexual nos últimos 12 meses	Sexo oposto	Não teve relações sexuais	Não teve relações sexuais
Número de parceiros sexuais nos últimos 12 meses	Um parceiro	Não teve	Não teve
Relações sexuais com parceiros casuais nos últimos 12 meses	Não	Não	Não
Usou preservativo na última relação sexual	Não	Não	Não
História de internação hospitalar na vida	Sim	Sim	Sim
Compartilhamento de material cortante de higiene	Não	Sim	Sim
História de hemotransusão	Não	Não	Não
Uma pessoa pega o vírus da hepatite B, C ou D compartilhando lâminas de barbear ou depilar	Acertou	Acertou	Não sabe

6. DISCUSSÃO

Está claro que as IST são abordagens amplamente discutidas em todo mundo, com enfoque nos grupos mais jovens (LEVY et al.,2019). Por outro lado, é notório que a expectativa de vida no mundo vem aumentando e é grande o número de sujeitos com características que os tornam vulneráveis às IST (WHO,2015b; KOLDAS,2017; WEINBERGER,2018) e outras infecções transmitidas pelo sangue, como a hepatite B (YOODA et al.,2018; BAPTISTE et al.,2018). Apesar de haver na literatura dados acerca da epidemiologia do HBV em populações adultas e idosas (POYNTEN; GRULICH; TEMPLETON, 2013; ANDRADE et al., 2017), estudos desenvolvidos em cidades de pequeno porte de Goiás sobre este tema e especificamente em grupos de 40 a 59 anos e idosos são inexistentes. Assim, esta é a primeira investigação que revela o perfil da infecção do HBV em indivíduos com 40 anos ou mais de idade, residentes em um município do interior de Goiás.

Os participantes deste estudo apresentaram um perfil educacional superior ao encontrado em outras investigações desenvolvidas com grupos mais velhos (ANDRADE et al., 2017; SILVA et al., 2017a), mais de 60% apresentaram mais de cinco anos de estudo.

No presente estudo, a prevalência de exposição ao HBV (14,8%; IC95%: 1,7%-18,5%) foi semelhante à taxa encontrada na população urbana da Região Centro-Oeste com idade entre 40 a 69 anos (18,5%; IC95%: 6,1%-21,3%) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). Por outro lado, maiores taxas de exposição foram encontradas em grupos populacionais vulneráveis, como coletores de lixo reciclável e indivíduos em situação de rua da capital goiana (MARINHO et al., 2014; CARVALHO et al., 2017). Alta taxa também foi encontrada em indivíduos em situação de rua da mesma cidade, em 118 participantes com mais de 40 anos, 39% (IC95%: 30,7%-48,0%) foram expostos ao HBV (CARVALHO et al., 2017). Já, ao comparar a prevalência da presente investigação ao único estudo desenvolvido no interior de Goiás e que permite estratificar por idade, observamos diferença significativa, pois em 280 doadores de sangue com mais de 40 anos de idade, somente 8,6% (IC95%: 5,8%-12,4%) apresentaram positividade ao anti-HBc (ANJOS et al., 2010).

Apesar da prevalência encontrada ser semelhante à taxa de grupos urbanos da capital goiana, a zona rural destaca-se mais uma vez como fator de risco para a exposição ao HBV (EL KHOURI et al., 2010; DIAS; CERUTTI JÚNIOR; FALQUETO,

2014). No presente estudo, indivíduos residentes em zonas rurais apresentaram 2,5 vezes mais chances de exposição ao HBV se comparados aos residentes da zona urbana. De modo semelhante, uma investigação sobre a endemia de hepatite B e C no leste da região Amazônica, com 243 indivíduos de 13 localidades rurais e urbanas, revelou que os participantes que residiam em área rural apresentaram 2,2 vezes maior chance para exposição pelo HBV quando comparados com residentes da área urbana (EL KHOURI et al., 2010).

A população rural brasileira caracteriza-se por uma diversidade de raças, religiões, sistema de produções, segmentos sociais e econômicos (BRASIL, 2012a). Adicionalmente, precárias condições de saúde (BRASIL et al., 2013), exclusão social e marginalização (ROCHA; MARZIALE; HONG, 2010) configuram, em grande parte, o cenário da vida no campo. Estudos realizados com grupos rurais identificaram várias situações de vulnerabilidade que podem refletir na aquisição de agravos infecciosos (EL KHOURI et al., 2010; DIAS; CERUTTI JÚNIOR; FALQUETO, 2014). Restrição do acesso aos serviços de saúde, baixa escolaridade e renda, reduzidos modelos de higiene e comportamentos de risco para as infecções sexualmente transmissíveis (ALMEIDA, et al., 2006; DIAS et al., 2014) podem justificar este panorama. No Brasil, apesar de existirem políticas públicas de saúde voltadas para esta população (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013b; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006), infere-se que estas devem ser replanejadas, com foco na prevenção à hepatite B e promoção da saúde das famílias e trabalhadores rurais.

A investigação presente também revelou que a idade, mesmo entre aqueles mais velhos, continua sendo preditor de exposição ao HBV. No mundo, é notório que existe um risco acumulativo da infecção pelo HBV, seja devido às constantes exposições sexuais e parenterais ao longo da vida (LEWIS-XIMENEZ et al., 2002; MARINHO et al., 2014), ou, também, à política tardia de vacinação contra hepatite B para grupos mais velhos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015b). Diversos estudos mostram que indivíduos mais velhos apresentam taxas mais elevadas de exposição ao HBV quando comparados com jovens (LEWIS-XIMENEZ et al., 2002; EL KHOURI et al., 2010; MARINHO et al., 2014). Por outro lado, o que chama a atenção neste estudo é que existe diferença significativa entre os grupos de diferentes faixas etárias, porém, sendo todos de meia-idade ou idosos. Isso demonstra que estas exposições continuam ocorrendo na fase tardia da vida e que intervenções de prevenção e controle devem ser acentuadas, principalmente entre idosos. Neste caso, a vacinação

deve ser prioridade para grupos acima de 40 anos, pois, mesmo com a política gratuita da vacina contra hepatite B desde 2015 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015a), observamos na presente investigação que somente 22,5% dos indivíduos foram vacinados.

Além das características relacionadas ao local de moradia e idade, situações sexuais foram associadas significativamente à exposição ao HBV, como relações sexuais com profissionais do sexo. Sabe-se que a comercialização do sexo é uma prática de alto risco para aquisição do vírus da hepatite B e outras infecções sexualmente transmissíveis (GIAMI; LE BAIL, 2011; PUGA et al., 2018). Comportamentos como baixa adesão ao uso do preservativo nas relações sexuais e multiplicidade de parceiros sexuais, além de altas prevalências de IST entre profissionais do sexo (SCHUELTER-TREVISOL et al.,2013; DIOP et al.,2019; INGABIRE et al.,2019), colocam este grupo em posição de facilitador da transmissão de infecções sexuais (MATOS et al.,2013).

História de verruga genital também foi preditor para a hepatite B entre os participantes deste estudo. Verrugas genitais estão entre as principais manifestações clínicas das IST (HURGUER et al.,2013; PATEL et al.,2013; SONNENBERG et al.,2019). Por outro lado, curiosamente, neste estudo, relato de IST não foi preditor para hepatite B. Assim, é interessante abordar a sensibilidade da pergunta sobre “ter IST” para a população em geral. As múltiplas etiologias e apresentações clínicas das infecções sexuais podem mascarar a real presença de IST em um indivíduo. Somada a isso, a subjetividade de reconhecimento destas infecções sexuais por parte dos participantes, seja pela falta de compreensão acerca do tema ou pelo viés de memória (DIAS; CERUTTI JÚNIOR; FALQUETO, 2014), reflete na baixa sensibilidade desta pergunta. Sendo assim, recomenda-se utilizar variáveis *proxy* para aferir a veracidade da resposta sobre ter IST.

Independentemente da pergunta ao participante, a presença de IST, representado neste estudo por relato de verruga genital, possuiu associação significativa com o HBV. É evidente que IST é um facilitador para a aquisição de outras infecções sexuais, como a hepatite B (GORGOS, 2013). Além disso, por se tratar de um grupo mais velho, a oportunidade de novas IST ou reinfecções é maior, aumentando a vulnerabilidade para o HBV (ANDRADE et al., 2017; KUGLER et al., 2017).

Tão importante quanto destacar a presença de IST e a associação com o HBV, é afirmar a existência de práticas sexuais de risco do grupo investigado, como o não uso do preservativo masculino. Neste estudo, 47% dos indivíduos informaram nunca ter utilizado o preservativo masculino na vida e, considerando a última relação sexual, esta taxa se eleva para 87,2%. Este cenário é observado em outras pesquisas com idosos (ANDRADE et al., 2017; SILVA et al., 2017b). Um estudo realizado para avaliar o uso e acesso aos métodos preventivos entre mulheres de uma unidade de atenção ao idoso revelou que apenas 20,6% possuíam relações sexuais protegidas e que a maioria (79,4%) não utilizava métodos de prevenção nas relações sexuais (MOREIRA et al., 2012). Sabe-se que o não uso do preservativo entre as pessoas mais velhas deve também estar relacionado tanto à simbologia e ao significado que o preservativo tem para esse grupo, quanto à questão de gênero (CERQUEIRA; RODRIGUES, 2016).

Ao avaliar o conhecimento dos participantes em relação às hepatites virais, verificou-se que quase a metade (42,7%) errou ou não soube responder se “uma pessoa pega o vírus da hepatite B, C ou D compartilhando lâminas de barbear ou depilar”. Do mesmo modo, 38,4% não obtiveram êxito na resposta para afirmativa relacionada a transmissão dos vírus das hepatites B, C ou D ao realizar qualquer cirurgia. É sabido que a falta de conhecimento dificulta a percepção dos indivíduos mais velhos sobre sua vulnerabilidade (SILVA et al., 2017a). Assim, abordagens educativas em saúde sobre hepatites virais e outras infecções transmissíveis para populações em processo de envelhecimento são necessárias.

Nesta investigação, três indivíduos apresentaram positividade para a infecção pelo HBV, considerando a presença do marcador sorológico HBsAg e estão contribuindo para a cadeia de transmissão do vírus. Características parenterais e sexuais de risco foram identificadas neste grupo de infectados.

Embora esta investigação não tenha encontrado associação do HBV com características de transmissão parenteral, é evidente o risco de transmissão de hepatite B por esta via. Dois indivíduos portadores do vírus afirmaram compartilhar materiais cortantes de higiene, potencializando, assim, a via de transmissão horizontal. Além disso, todos relataram história de internação hospitalar. Na literatura são descritos diversos cenários de transmissão nosocomial do HBV, seja por forma direta, pelo contato com o sangue contaminado (ABDELA et al., 2016), ou indireta, elucidada por falhas no processo de controle da infecção (BÜCHNER et al., 2015;

KLINER et al., 2015). Neste sentido, é importante destacar a importância epidemiológica que idosos assumem na totalidade do número de hospitalização, constituindo a maior taxa dentre as faixas etárias (RODRIGUES et al., 2019). No presente estudo, dois portadores da infecção são idosos.

A via sexual, como meio de transmissão do HBV, também se destacou entre o grupo estudado. Em relação aos comportamentos sexuais nos últimos 12 meses, um indivíduo com infecção ativa relatou estar ativo sexualmente e não ter utilizado preservativo na última relação, contribuindo efetivamente para a transmissão do vírus.

Este estudo apresenta algumas limitações. Embora trate-se de uma amostragem por conveniência, acreditamos que a ampla divulgação do projeto em toda cidade e a oportunidade da busca ativa minimizaram a obtenção de uma amostra não probabilística. Vieses de respostas podem ter ocorrido devido à existência de perguntas de cunho íntimo, uma vez que é um grupo formado por indivíduos mais velhos e que podem sofrer influências relacionadas à moral e tradição. Entretanto, é importante salientar que todos os entrevistadores foram treinados para que prezassem pela condução ética e privativa da entrevista. Por fim, vieses de memória também devem ser considerados, visto a subjetividade sobre hábitos e comportamentos ao longo da vida. Ressalta-se que os entrevistadores tiveram um papel importante para orientar e estimular a memória dos participantes nestas ocasiões.

7. CONCLUSÕES

- Os participantes deste estudo eram majoritariamente do sexo feminino (61,8%), com cinco anos ou mais de estudo (67,6%). Além disso, quase a metade era idosos (44,3%) e 11% residiam na zona rural.
- A prevalência de exposição ao HBV foi de 14,8% (IC95%11,7%-18,5%). Esta prevalência foi cerca de 1,7 vezes maior que a encontrada em indivíduos com 40 anos ou mais de outra cidade de pequeno porte de Goiás.
- Observou-se que as seguintes variáveis foram associadas significativamente à exposição pelo HBV entre os indivíduos investigados: ter entre 50-59 anos ($p=0,023$) e idade ≥ 60 anos ($p=0,007$), residir na zona rural ($p=0,009$), ter história de verruga genital ($p=0,034$) e ter relações sexuais com profissionais do sexo ($p=0,023$).
- Do total de participantes, 91,2% afirmaram já ter ouvido falar em hepatites virais. Apesar do alto índice, 42,7% não sabiam sobre o risco de transmissão do HBV por meio do compartilhamento de lâminas de barbear e/ou depilar e 38,4% também não souberam que durante cirurgias pode ocorrer a transmissão das hepatites virais, evidenciando uma lacuna de conhecimentos a respeito da transmissão parenteral do HBV.
- Três participantes do estudo apresentaram o marcador HBsAg positivo, indicando infecção ativa para hepatite B. Comportamentos de risco parenteral e sexual foram identificados entre os portadores da infecção, contribuindo efetivamente para a transmissão do HBV.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos epidemiológicos são ferramentas eficientes para o diagnóstico de saúde de uma certa população (MEDRONHO et al., 2008). De fato, nesta investigação, dados foram gerados capazes de auxiliarem gestores a replanejarem ações de saúde voltadas para grupos populacionais em processo de envelhecimento.

Porém, a execução de uma pesquisa ultrapassa os rigores metodológicos e nos permite enxergar lacunas previamente não desejadas. Neste estudo, evidenciou-se a importância que os agentes comunitários podem exercer para o enfrentamento das IST/HIV e hepatites virais entre grupos mais velhos. Para o sucesso deste objetivo, a capacitação e qualificação da equipe em sexualidade humana é necessário e fundamental. Além disso, emerge o repensar da configuração das redes de atenção à saúde de comunidades rurais e acesso a atenção primária à saúde.

Dos idosos, não é exigido que busquem compreender o processo de vulnerabilidade que estão inseridos, mas, dos profissionais de saúde, não só se deve exigir este conhecimento, como é esperado que hajam com respeito e ética, sensibilizando e estimulando ações de prevenção combinadas para este grupo.

É preciso quebrar o tabu da velhice assexuada ainda existente em nossa sociedade, principalmente em cidades de pequeno porte, onde tradições e a moral sobressaem e mascaram a qualidade de vida de nossos idosos. Enfermeiros possuem um papel fundamental para atingir esta meta, uma vez que são profissionais líderes de equipe de saúde e partir destes dados, poderão traçar metas baseadas em evidências.

REFERÊNCIAS

ABDELA, A.; WOLDU, B.; HAILE, K.; MATHEWOS, B.; DERESSA, T. Assessment of knowledge, attitudes and practices toward prevention of hepatitis B virus infection among students of medicine and health sciences in Northwest Ethiopia. **BMC Research Notes**, v. 9, n. 1, p. 410, 2016. Disponível em: <<http://bmcresearchnotes.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13104-016-2216-y>>.

ANDRADE, J.; AYRES, J. A.; ALENCAR, R. A.; DUARTE, M. T. C.; PARADA, C. M. G. de L. Vulnerabilidade de idosos a infecções sexualmente transmissíveis. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 30, n. 1, p. 8–15, 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-21002017000100008&lng=pt&tlng=pt>.

ANJOS, G. R. L. C. dos; MARTINS, R. M. B.; CARNEIRO, M. A. dos S.; BRUNINI, S. M.; TELES, S. A. Epidemiology of hepatitis B virus infection in first-time blood donors in the southwestern region of Goiás, central Brazil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 33, n. 1, p. 38–42, 2010. Disponível em: <<http://www.rbhh.org/?doi=10.5581/1516-8484.20110013>>.

ANVISA. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 75, de 2 de maio de 2016. Altera a Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº 34, de 11 de junho de 2014, que dispõe sobre as Boas Práticas no Ciclo do Sangue**. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

ASPINALL, E. J.; HAWKINS, G.; FRASER, A.; HUTCHINSON, S. J.; GOLDBERG, D. Hepatitis B prevention, diagnosis, treatment and care: a review. **Occupational Medicine**, v. 61, n. 8, p. 531–540, 2011.

AYOUB, W.; COHEN, E. Hepatitis B management in the pregnant patient: an update. **Journal of Clinical and Translational Hepatology**, v. 4, n. 3, p. 241–247, 2016. Disponível em: <<http://www.xiahepublishing.com/ArticleFullText.aspx?sid=2&jid=1&id=10.14218%2FJCTH.2016.00014>>.

AYUB, A.; ASHFAQ, U. A.; HAQUE, A. HBV induced HCC: major risk factors from genetic to molecular level. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 1–14, 2013. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/810461/>>.

BAPTISTE, A. E. J.; CHEVALIER, M. S.; POLO, E.; NOEL, E.; HULLAND, E. N.; ARCHER, W. R. Trends in hepatitis B and hepatitis C seroprevalence among blood donors - Haiti, 2005-2014. **ISBT Science Series**, v. 13, n. 2, p. 150–157, 2018. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/voxs.12427>>.

BLUMBERG, B. S.; ALTER, H. J.; VISNICH, S. A “new” antigen in leukemia sera. **The Journal of the American Medical Association**, v. 191, n. 7, p. 541–546, 1965. Disponível em:

<<http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.1965.03080070025007>>.

BOND, W. W.; FAVERO, M. S.; PETERSEN, N. J.; EBERT, J. W. Inactivation of hepatitis B virus by intermediate-to-high-level disinfectant chemicals. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 18, n. 3, p. 535–538, 1983. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6630443>>.

BRITO, N. M. I.; ANDRADE, S. S. C.; SILVA, F. M. C.; FERNANDES, M. R. C. C.; BRITO, K. K. G.; OLIVEIRA, S. H. S. Idosos, infecções sexualmente transmissíveis e aids: conhecimentos e percepção de risco. **ABCS Health Sciences**, v. 41, n. 3, p. 140–145, 2016.

BÜCHNER, A.; DU PLESSIS, N. M.; REYNDERS, D. T.; OMAR, F. E.; MAYAPHI, S. H.; HAERI MAZANDERANI, A. F.; et al. Nosocomial outbreak of hepatitis B virus infection in a pediatric hematology and oncology unit in South Africa: Epidemiological investigation and measures to prevent further transmission. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 62, n. 11, p. 1914–1919, 2015. Disponível em:

<<http://doi.wiley.com/10.1002/pbc.25605>>.

CAETANO, K. A. A.; DEL-RIOS, N. H. A.; PINHEIRO, R. S.; BERGAMASCHI, F. P. R.; CARNEIRO, M. A. dos S.; TELES, S. A. Low immunogenicity of recombinant hepatitis B vaccine derived from *hansenula polymorpha* in adults aged over 40 years. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 96, n. 1, p. 118–121, 2017. Disponível em: <<http://www.ajtmh.org/lookup/doi/10.4269/ajtmh.16-0475>>.

CARVALHO, P. M. R. dos S.; MATOS, M. A. de; MARTINS, R. M. B.; PINHEIRO, R. S.; CAETANO, K. A. A.; SOUZA, M. M. de; et al. Prevalence, risk factors and hepatitis B immunization: helping fill the gap on hepatitis B epidemiology among homeless people, Goiânia, Central Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 33, n. 7, p. 1–9, 2017. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2017000705013&lng=en&tlnh=en>.

CHEN, P.; XIE, Q.; CHEN, T.; WU, J.; WU, J.; RUAN, B.; et al. Hepatitis B virus infection in hilly/mountainous regions of southeastern China: a locality-dependent epidemiology. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 809, 2017. Disponível em: <<https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-017-2922-7>>.

CHEVALIEZ, S.; RODRIGUEZ, C.; PAWLOTSKY, J. New Virologic Tools for Management of Chronic Hepatitis B and C. **Gastroenterology**, v. 142, n. 6, p. 1303–1313.e1, 2012. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508512002405>>.

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

DASH, S.; RAO, K. V.; JOSHI, B.; NAYAK, N. C.; PANDA, S. K. Significance of natural polymerized albumin and its receptor in hepatitis B infection of hepatocytes. **Hepatology**, v. 13, n. 1, p. 134–142, 1991.

DATTA, S. Recent advances in molecular diagnostics of hepatitis B virus. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 40, p. 14615–14625, 2014. Disponível em: <<http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v20/i40/14615.htm>>.

DEBERT, G.; BRIGEIRO, M. Fronteiras de gênero e a sexualidade na velhice. **Revista Brasileira de Ciências Sociais**, v. 27, n. 80, p. 37–54, out. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-69092012000300003&lng=pt&nrm=iso&tlng=en>.

DÉNY, P.; ZOULIM, F. Hepatitis B virus: from diagnosis to treatment. **Pathologie-biologie**, v. 58, n. 4, p. 245–253, 2010.

DIAS, J. A.; CERUTTI JÚNIOR, C.; FALQUETO, A. Fatores associados à infecção pelo vírus da hepatite B: um estudo caso-controle no município de São Mateus, Espírito Santo. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 23, n. 4, p. 683–690, 2014.

DOO, E. C.; GHANY, M. G. Hepatitis B virology for clinicians. **Clinics in Liver Disease**, v. 14, n. 3, p. 397–408, 2010. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1089326110000309>>.

DUFFELL, E. F.; MILNE, L. M.; SENG, C.; YOUNG, Y.; XAVIER, S.; KING, S.; et al. Five hepatitis B outbreaks in care homes in the UK associated with deficiencies in infection control practice in blood glucose monitoring. **Epidemiology and Infection**, v. 139, n. 3, p. 327–335, 2011. Disponível em: <http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0950268810001007>.

EASL. Management of chronic hepatitis B virus infection. **Journal of Hepatology**, v. 57, p. 167–185, 2017.

EL KHOURI, M.; CORDEIRO, Q.; DA LUZ, D. A. B. P.; DUARTE, L. S.; GAMA, M. E. A.; CORBETT, C. E. P. Endemic hepatitis B and C virus infection in a Brazilian Eastern Amazon region. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 47, n. 1, p. 35–41, 2010.

EPSTEIN, M.; BAILEY, J. A.; MANHART, L. E.; HILL, K. G.; HAWKINS, J. D.; HAGGERTY, K. P.; et al. Understanding the link between early sexual initiation and later sexually transmitted infection: test and replication in two longitudinal studies. **Journal of Adolescent Health**, v. 54, n. 4, p. 435–441, abr. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1054139X13005144>>.

GADELHA, C.; AZEVEDO, N. Inovação em vacinas no Brasil: experiência recente e constrangimentos estruturais. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, v. 10, n. Supl 2, p. 697–724, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-59702003000500012&lng=pt&tlng=pt>.

GERLICH, W. H. Medical virology of hepatitis B: how it began and where we are now. **Virology Journal**, v. 10, n. 1, p. 239, 2013. Disponível em: <<https://virologyj.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-422X-10-239>>.

GERLICH, W. H. Prophylactic vaccination against hepatitis B: achievements, challenges and perspectives. **Medical Microbiology and Immunology**, v. 204, n. 1, p. 39–55, 2014. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00430-014-0373-y>>.

GIAMI, A.; LE BAIL, J. Infecção pelo HIV e DST na população trans: uma revisão crítica. **Revue d'Epidémiologie et de Santé Publique**, v. 59, n. 4, p. 259–268, 2011.

GISH, R. G.; GIVEN, B. D.; LAI, C.-L.; LOCARNINI, S. A.; LAU, J. Y. N.; LEWIS, D. L.; et al. Chronic hepatitis B: virology, natural history, current management and a glimpse at future opportunities. **Antiviral Research**, v. 121, p. 47–58, 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166354215001394>>.

GORGOS, L. Sexual transmission of viral hepatitis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 27, n. 4, p. 811–836, 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891552013000652>>.

IBGE. **Censo Demográfico 2010**. Disponível em: <<https://censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?dados=12&uf=00>>.

IBGE. **Cidades - Goiandira/Goiás**. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/go/goiandira/panorama>>.

IBGE. **Expectativa de vida do brasileiro sobe para 75,8 anos**. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/18469-expectativa-de-vida-do-brasileiro-sobe-para-75-8-anos.html>>. Acesso em: 6 jun. 2018.

ICTV. **Virus taxonomy: 2017 release**. Disponível em: <<https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>>. Acesso em: 3 maio. 2018.

INOUE, T.; TANAKA, Y. Hepatitis B virus and its sexually transmitted infection – an update. **Microbial Cell**, v. 3, n. 9, p. 420–437, 2016. Disponível em: <<http://microbialcell.com/researcharticles/hepatitis-b-virus-and-its-sexually-transmitted-infection-an-update>>.

KARNSAKUL, W.; SCHWARZ, K. B. Hepatitis B and C. **Pediatric Clinics of North America**, v. 64, n. 3, p. 641–658, 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003139551730007X>>.

KIM, H.; SHIN, A. R.; CHUNG, H. H.; KIM, M. K.; LEE, J. S.; SHIM, J.-J.; et al. Recent trends in hepatitis B virus infection in the general Korean population. **The Korean Journal of Internal Medicine**, v. 28, n. 4, p. 413–419, 2013. Disponível em: <<http://kjim.org/journal/view.php?doi=10.3904/kjim.2013.28.4.413>>.

KLINER, M.; DARDAMISSIS, E.; ABRAHAM, K. A.; SEN, R.; LAL, P.; PANDYA, B.; et al. Identification, investigation and management of patient-to-patient hepatitis B transmission within an inpatient renal ward in North West England. **Clinical Kidney Journal**, v. 8, n. 1, p. 102–106, 2015. Disponível em: <<https://academic.oup.com/ckj/article-lookup/doi/10.1093/ckj/sfu130>>.

KOLDAŞ, Z. L. Vaccination in the elderly population. **Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi-Archives of the Turkish Society of Cardiology**, v. 45, n. 5, p. 124–127, 2017. Disponível em: <<http://archivestsc.com/jvi.aspx?un=TKDA-62379>>.

KRAMVIS, A. Genotypes and Genetic Variability of Hepatitis B Virus. **Intervirolgy**, v. 57, n. 3–4, p. 141–150, 2014. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/FullText/360947>>.

KRAWCZYK, A.; LUDWIG, C.; JOCHUM, C.; FIEDLER, M.; HEINEMANN, F. M.; SHOUVAL, D.; et al. Induction of a robust T- and B-cell immune response in non- and low-responders to conventional vaccination against hepatitis B by using a third generation PreS/S vaccine. **Vaccine**, v. 32, n. 39, p. 5077–5082, 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0264410X14008779>>.

KUGLER, K. C.; VASILENKO, S. A.; BUTERA, N. M.; COFFMAN, D. L. Long-term consequences of early sexual initiation on young adult health. **The Journal of Early Adolescence**, v. 37, n. 5, p. 662–676, 2017. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0272431615620666>>.

KUMAR, H. N. H.; NAMBIAR, R. P.; MOHAPATRA, S.; KHANNA, A.; PRAVEEN, R.; BHAWANA, D. S. A cross-sectional study on hepatitis B vaccination status and post-exposure prophylaxis practices among health care workers in teaching hospitals of Mangalore. **Annals of Global Health**, v. 81, n. 5, p. 664–668, 2015. Disponível em: <<https://annalsofglobalhealth.org/article/10.1016/j.aogh.2015.08.015/>>.

LAMPE, E.; MELLO, F. C. A.; DO ESPÍRITO-SANTO, M. P.; OLIVEIRA, C. M. C.; BERTOLINI, D. A.; GONÇALES, N. S. L.; et al. Nationwide overview of the distribution of hepatitis B virus genotypes in Brazil: a 1000-sample multicentre study. **Journal of General Virology**, v. 98, n. 6, p. 1389–1398, 2017. Disponível em: <<http://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/jgv.0.000789.v1>>.

LEWIS-XIMENEZ, L. L.; DO Ó, K. M.; GINUINO, C. F.; SILVA, J. C.; SCHATZMAYR, H. G.; STUVER, S.; et al. Risk factors for hepatitis B virus infection in Rio de Janeiro, Brazil. **BMC Public Health**, v. 2, n. 1, p. 26, 2002. Disponível em: <<http://0-www.biomedcentral.com.wam.leeds.ac.uk/1471-2458/2/26%0Ahttp://0-ovidsp.ovid.com.wam.leeds.ac.uk/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed7&NEWS=N&AN=38994271>>.

LIANG, T. J. Hepatitis B: the virus and disease. **Hepatology**, v. 49, n. S5, p. S13–S21, 2009. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/hep.22881>>.

LIANG, X.; BI, S.; YANG, W.; WANG, L.; CUI, G.; CUI, F.; et al. Reprint of: epidemiological serosurvey of hepatitis B in China - declining HBV prevalence due to hepatitis B vaccination. **Vaccine**, v. 31, n. 9, p. J21–J28, 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0264410X13010967>>.

LIAW, Y.; CHU, C. Hepatitis B virus infection. **The Lancet**, v. 373, n. 9663, p. 582–592, 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673609602075>>.

LOCARNINI, S.; LITTLEJOHN, M.; AZIZ, M. N.; YUEN, L. Possible origins and evolution of the hepatitis B virus (HBV). **Seminars in Cancer Biology**, v. 23, n. 6, p. 561–575, 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1044579X13000825>>.

MACHADO, D. F. G. P.; MARTINS, T.; TREVISOL, D. J.; SILVA, R. A. V.; NARCISO-SCHIAVON, J. L.; TREVISOL, F. S.; et al. Prevalence and factors associated with hepatitis B virus infection among senior citizens in a Southern Brazilian city. **Hepatitis Montlily**, v. 13, n. 5, p. 1–10, 2013.

MANSOUR-GHANAIE, F.; JOUKAR, F.; YASERI, M.; SOATI, F.; ATRKAR-ROUSHAN, Z. Intrafamilial spread of hepatitis B virus in Guilan Province - North of Iran. **International Journal of Molecular Epidemiology and Genetics**, v. 4, n. 4, p. 250–257, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24319540>>.

MARINHO, T. A.; LOPES, C. L. R.; TELES, S. A.; MATOS, M. A. de; MATOS, M. A. D. de; KOZLOWSKI, A. G.; et al. Epidemiology of hepatitis B virus infection among recyclable waste collectors in Central Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 1, p. 18–23, 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822014000100018&lng=en&tlng=en>.

MATOS, S. B.; JESUS, A. L. S. R.; PEDROZA, K. C. M. C.; SODRE, H. R. S.; FERREIRA, T. L. H.; LIMA, F. W. M. Prevalence of serological markers and risk factors for bloodborne pathogens in Salvador, Bahia State, Brazil. **Epidemiology and Infection**, v. 141, n. 1, p. 181–187, 2013.

MCALÉER, W. J.; BUYNAK, E. B.; MAIGETTER, R. Z.; WAMPLER, D. E.; MILLER, W. J.; HILLEMANN, M. R. Vacina contra hepatite B humana a partir de levedura recombinante. **Natureza**, v. 307, p. 178–180, 1984.

MCDERMOTT, A. B.; COHEN, S. B.; ZUCKERMAN, J. N.; MADRIGAL, J. A. Hepatitis B third-generation vaccines: improved response and conventional vaccine non-response - evidence for genetic basis in humans. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 5, n. Suppl 2, p. 9–11, 1998.

MEDRONHO, R. A.; BLOCH, K. V.; LUIZ, R. R.; WERNECK, G. L. **Epidemiologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria nº 1.376 de 1993. Aprova alterações na Portaria nº 721/GM, de 09.08.89, que aprova Normas Técnicas para coleta, processamento e transfusão de sangue, componentes e derivados, e dá outras providências.** Disponível em:

<http://redsang.ial.sp.gov.br/site/docs_leis/ps/ps29.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **PNI- Programa Nacional de Imunizações 25 anos**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 1998.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Programa Nacional de Hepatites Virais: avaliação da assistência às hepatites virais no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria Nº 112 de 2004. Dispõe sobre a implantação, no âmbito da Hemorrede Nacional, da realização dos testes de amplificação e detecção de ácidos nucleicos (NAT), para HIV e HCV**. Disponível em:

<http://www.hemocentro.fmrp.usp.br/wp-content/uploads/legislacao/portaria_112_de_29_01_2004.pdf>.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria nº 1.028, de 1º de julho de 2005. Determina que as ações que visam à redução de danos sociais e à saúde, decorrentes do uso de produtos, substâncias ou drogas que causem dependência, sejam reguladas por esta Portaria**. Disponível em:

<http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2005/prt1028_01_07_2005.html>. Acesso em: 16 dez. 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de estrutura física das Unidades Básicas de Saúde**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 72 p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Inquérito Nacional de Hepatites A, B e C**. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de Treinamento para Teste Rápido Hepatites B (HBsAg) e C (anti-HCV)**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011a.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria Nº. 1.459, de 24 julho de 2011. Institui, no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS - a Rede Cegonha.** Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt1459_24_06_2011.html>. Acesso em: 15 dez. 2018b.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Ampliação da oferta da vacina hepatite B para a faixa etária de 30 a 49 anos em 2013.** Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pt-br/legislacao/nota-tecnica-conjunta-no-022013cgpniidevep-e-cgdhrvdst-aidssvsems>>.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Atenção Integral às Pessoas com Infecções Sexualmente Transmissíveis.** Brasília: Ministério da Saúde, 2015a.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Nota Técnica Conjunta Nº149 de 2015 Informa as mudanças no Calendário Vacinal de Vacinação para o ano de 2016.** Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pt-br/legislacao/nota-informativa-no-1492015>>. Acesso em: 10 dez. 2018b.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de vigilância sanitária para o transporte de sangue e componentes no âmbito da hemoterapia.** 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2016a.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Pesquisa de conhecimento, atitudes e práticas na população brasileira.** Brasília: Ministério da Saúde, 2016b.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite B e Coinfecções.** Brasília: Ministério da Saúde, 2017a.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Profilaxia Pós-Exposição de Risco à Infecção pelo HIV, IST e Hepatites Virais.** Brasília: Ministério da Saúde, 2017b.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Prevenção da Transmissão Vertical de HIV, Sífilis e Hepatites Virais.** Brasília: Ministério da Saúde, 2017c.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico- Hepatites Virais 2018.** Brasília: Ministério da Saúde, 2018.

MOREIRA, T. M.; PARREIRA, B. D. M.; DINIZ, M. A.; DA SILVA, S. R. Conhecimento das mulheres idosas sobre doenças sexualmente transmissíveis, conhecimento, uso e acesso aos métodos preventivos. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 14, n. 4, p. 803–810, 2012.

MOTTA-CASTRO, A. R. C.; MARTINS, R. M. B.; ARAUJO, N. M.; NIEL, C.; FACHOLI, G. B.; LAGO, B. V.; MELLO, F. C. A.; et al. Molecular epidemiology of hepatitis B virus in an isolated Afro-Brazilian community. **Archives of Virology**, v. 153, n. 12, p. 2197–2205, 2008. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00705-008-0237-0>>.

NELSON, N. P.; EASTERBROOK, P. J.; MCMAHON, B. J. Epidemiology of Hepatitis B Virus Infection and Impact of Vaccination on Disease. **Clinics in Liver Disease**, v. 20, n. 4, p. 607–628, 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1089326116300514>>.

NUNES, H. M.; SOARES, M. do C. P.; SARMENTO, V. P.; MALHEIROS, A. P.; NUNES, M. R. T. Infecção oculta pelo vírus da hepatite B em comunidade amazônica submetida a intenso fluxo migratório, estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 8, n. 3, p. 35–49, 2017. Disponível em: <http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232017000300035&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

O'HARA, G. A.; MCNAUGHTON, A. L.; MAPONGA, T.; JOOSTE, P.; OCAMA, P.; CHILENGI, R.; et al. Hepatitis B virus (HBV) infection as a neglected tropical disease (NTD). **Supporting Information**, p. 1–11, 2017.

OKAMOTO, H.; TSUDA, F.; SAKUGAWA, H.; SASTROSOEWIGNJO, R. I.; IMAI, M.; MIYAKAWA, Y.; et al. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. **Journal of General Virology**, v. 69, n. 10, p. 2575–2583, 1988. Disponível em: <<http://jgv.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/0022-1317-69-10-2575>>.

OLIVEIRA, C. M. A. de; SILVA, I. S. da; VIEIRA, J. J. S.; BARBOSA, K. M. V.; FREITAS, P. E. B. de; SARMENTO, V. P.; et al. Soroprevalência das infecções pelos vírus das hepatites B e C e situação vacinal para o vírus da hepatite B em servidores da Polícia Rodoviária Federal, estado do Pará, Brasil, 2013-2014. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 8, n. 4, p. 27–34, 2017. Disponível em: <http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232017000400027&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

OLIVEIRA, F. A.; SOUSA, F. S.; CAVALCANTE, S. L.; COUTO, A. R. M.; ALMEIDA, A. N. S. de; CASTELO BRANCO, M. S. C. Atividades de educação em saúde realizadas com grupo de idosos para promoção do autocuidado em saúde. **Revista Eletrônica de Extensão**, v. 15, n. 28, p. 137-150, 2018.

PARK, N. H.; CHUNG, Y.-H.; LEE, H.-S. Impacts of vaccination on hepatitis B viral infections in Korea over a 25-year period. **Intervirology**, v. 53, n. 1, p. 20–28, 2010. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/FullText/252780>>.

PERKINS, J. A. **Hepatitis B virus**. Disponível em: <<http://www.ibibiobase.com/projects/hepatitis/hepatitis-aB.html>>. Acesso em: 14 fev. 2018.

POYNTEN, I. M.; GRULICH, A. E.; TEMPLETON, D. J. Sexually transmitted infections in older populations. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 26, n. 1, p. 80–85, 2013. Disponível em: <<http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00001432-201302000-00012>>.

PRINCE, A. M. An antigen detected in the blood during the incubation period of serum hepatitis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 60, n. 3, p. 814–821, 1968. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4970112>>.

PUDELCO, P.; KOEHLER, A. E.; BISETTO, L. H. L. Impact of vaccination in the reduction of hepatitis B in Paraná. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, v. 35, n. 1, p. 78–86, 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1983-14472014000100078&lng=en&tlng=en>.

PUGA, M. A. M.; BANDEIRA, L. M.; WEIS, S. M. dos S.; FERNANDES, F. R. P.; CASTRO, L. S.; TANAKA, T. S. O.; et al. High-risk behaviors for hepatitis B and C infections among female sex workers. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 2, p. 198–202, 2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822018000200198&lng=en&tlng=en>.

RODRIGUES, M. M.; ALVAREZ, A. M.; RAUCH, K. C. Tendência das internações e da mortalidade de idosos por condições sensíveis à atenção primária. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 22, p. e190010, 2019. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1415-790X2019000100403&lng=pt&nrm=iso

RODRIGUEZ-FRIAS, F.; BUTI, M.; TABERNERO, D.; HOMS, M. Quasispecies structure, cornerstone of hepatitis B virus infection: Mass sequencing approach. **World Journal of Gastroenterology**, v. 19, n. 41, p. 6995–7023, 2013. Disponível em: <<http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v19/i41/6995.htm>>.

SAGNELLI, E.; STROFFOLINI, T.; SAGNELLI, C.; MORISCO, F.; COPPOLA, N.; SMEDILE, A.; et al. Influence of universal HBV vaccination on chronic HBV infection in Italy: results of a cross-sectional multicenter study. **Journal of Medical Virology**, v. 89, n. 12, p. 2138–2143, 2017. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/jmv.24873>>.

SCHWEITZER, A.; HORN, J.; MIKOLAJCZYK, R. T.; KRAUSE, G.; OTT, J. J. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. **The Lancet**, v. 386, n. 10003, p. 1546–1555, 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014067361561412X>>.

SILVA, R. do S. U. da; MORAIS, I. O.; GONÇALVES, D. M.; MATOS, I. S. de; ROCHA, F. F. da; TORRES, G. M. do N.; et al. Prevalência da infecção pelo vírus da hepatite B em um município do interior do estado do Acre, Amazônia Ocidental, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 8, n. 3, p. 19–26, set. 2017a. Disponível em: <http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232017000300019&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

SILVA, J. D. B.; OLIVEIRA, D. M.; FILHO, D. R. R.; MESQUITA, N. M. C. B.; TEIXEIRA, H. K. S.; LIMA, M. T. N.; et al. Vulnerabilidade às infecções sexualmente transmissíveis/AIDS em idosos. **Revista Uningá**, v. 53, n. 1, p. 19–24, 2017b.

SMITH, J. M.; UVIN, A. Z.; MACMADU, A.; RICH, J. D. Epidemiology and treatment of hepatitis B in prisoners. **Current Hepatology Reports**, v. 16, n. 3, p. 178–183, 2017. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11901-017-0364-8>>.

SOUTO, F. J. D.; FONTES, C. J. F.; OLIVEIRA, S. S.; YONAMINE, F.; SANTOS, D. R. L. dos; GASPARELLO, A. M. C. Prevalência da hepatite B em área rural de município hiperendêmico na Amazônia Mato-grossense: situação epidemiológica. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 13, n. 2, p. 93–102, 2004. Disponível em: <http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742004000200003&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

SUNBUL, M. Hepatitis B virus genotypes: global distribution and clinical importance. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 18, p. 5427–5434, 2014. Disponível em: <<http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v20/i18/5427.htm>>.

SZMUNESS, W.; STEVENS, C. E.; HARLEY, E. J.; ZANG, E. A.; OLESZKO, W. R.; WILLIAM, D. C.; et al. Hepatitis B Vaccine: demonstration of efficacy in a controlled clinical trial in a high-risk population in the United States. **New England Journal of Medicine**, v. 303, n. 15, p. 833–841, 1980. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM198010093031501>>.

TAJIRI, K.; SHIMIZU, Y. Unsolved problems and future perspectives of hepatitis B virus vaccination. **World Journal of Gastroenterology**, v. 21, n. 23, p. 7074–7083, 2015. Disponível em: <<http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v21/i23/7074.htm>>.

THIAGO, C. C.; RUSSO, J. A.; CAMARGO-JR, K. R. Hormones, sexuality and male aging: a study of website images. **Interface (Botucatu)**, v. 20, n. 56, p. 37–50, 2016.

THOMAS, E.; YONEDA, M.; SCHIFF, E. R. Viral Hepatitis: past and future of HBV and HDV. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 5, n. 2, 2015. Disponível em: <<http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/cshperspect.a021345>>.

THUNG, S.; GERBER, M. Polyalbumin receptors: their role in the attachment of hepatitis B virus to hepatocytes. **Seminars in Liver Disease**, v. 4, n. 01, p. 69–75, 1984. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-2008-1040647>>.

TIAN, Q.; JIA, J. Hepatitis B virus genotypes: epidemiological and clinical relevance in Asia. **Hepatology International**, v. 10, n. 6, p. 854–860, 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s12072-016-9745-2>>.

TIOLLAIS, P.; POURCEL, C.; DEJEAN, A. The hepatitis B virus. **Nature**, v. 317, n. 10, 1985.

VAN DER MEEREN, O.; CRASTA, P.; CHEUVART, B.; DE RIDDER, M. Characterization of an age-response relationship to GSK's recombinant hepatitis B vaccine in healthy adults: an integrated analysis. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, v. 11, n. 7, p. 1725–1728, 2015. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21645515.2015.1039758>>.

VELKOV, S.; OTT, J.; PROTZER, U.; MICHLER, T. The global hepatitis B virus genotype distribution approximated from available genotyping data. **Genes**, v. 9, n. 10, p. 495, 2018. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2073-4425/9/10/495>>.

VERMEULEN, M.; SWANEVELDER, R.; CHOWDHURY, D.; INGRAM, C.; REDDY, R.; BLOCH, E. M.; et al. Use of blood donor screening to monitor prevalence of HIV and hepatitis B and C viruses, South Africa. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 9, p. 1560–1563, 2017. Disponível em: <http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/23/9/16-1594_article.htm>.

VILLAR, L. M.; CRUZ, H. M.; BARBOSA, J. R.; BEZERRA, C. S.; PORTILHO, M. M.; SCALIONI, L. de P. Update on hepatitis B and C virus diagnosis. **World Journal of Virology**, v. 4, n. 4, p. 323–342, 2015. Disponível em: <<http://www.wjgnet.com/2220-3249/full/v4/i4/323.htm>>.

VISCONTI, A. J.; SELL, J.; GREENBLATT, A. D. Primary care for persons who inject drugs. **American Family Physician**, v. 99, n. 2, p. 109–116, 2019. Disponível em: <<https://www.aafp.org/afp/2019/0115/p109.html>>.

WEINBERGER, B. Vaccines for the elderly: current use and future challenges. **Immunity & Ageing**, v. 15, n. 3, p. 1–8, 22 dez. 2018. Disponível em: <<https://immunityageing.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12979-017-0107-2>>.

WHA. **Dia Mundial das Hepatites 2018: encontre os milhões de pessoas que faltam kit de ferramentas da campanha**. Geneve: WHO; World Hepatitis Alliance, 2018.

WHO. **Envelhecimento ativo: uma política de saúde**. Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, 2005.

WHO. **Guidelines for the prevention, care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection**. Geneve: WHO - World Health Organization, 2015a.

WHO. **Resumo: Relatório mundial de envelhecimento e saúde**. Geneve: WHO - World Health Organization, 2015b.

WHO. **Global Hepatitis Report 2017**. Geneve: WHO - World Health Organization, 2017.

WHO. **Hepatitis B**. Disponível em:
<<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>>. Acesso em: 18 fev. 2019.

WHO. Hepatitis B vaccines: WHO position paper, July 2017 – Recommendations. **Vaccine**, v. 37, n. 2, p. 223–225, 2019. Disponível em:
<<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.07.046>>.

WIKIPEDIA. **Goiandira**. Disponível em:
<https://pt.wikipedia.org/wiki/Goiandira#/media/File:Goias_Municip_Goiandira.svg>. Acesso em: 15 maio. 2018.

WOLFFENBÜTTEL, K.; CARNEIRO, N. Uma breve história dos Centros de Testagem e Aconselhamento (CTA) enquanto organização tecnológica de prevenção de DST/Aids no Brasil e no estado de São Paulo. **Saúde Coletiva**, v. 4, n. 18b, p. 183–187, 2007.

YANG, S.; WANG, D.; ZHANG, Y.; YU, C.; REN, J.; XU, K.; DENG, M.; et al. Transmission of hepatitis B and C virus infection through body piercing. **Medicine**, v. 94, n. 47, p. 1–14, 2015. Disponível em:
<<https://insights.ovid.com/crossref?an=00005792-201511240-00009>>.

YOODA, A. P.; SAWADOGO, S.; SOUBEIGA, S. T.; OBIRI-YEBOAH, D.; NEBIE, K.; OUATTARA, A. K.; et al. Residual risk of HIV, HCV, and HBV transmission by blood transfusion between 2015 and 2017 at the Regional Blood Transfusion Center of Ouagadougou, Burkina Faso. **Journal of Blood Medicine**, v. 10, p. 53–58, 2019. Disponível em: <<https://www.dovepress.com/residual-risk-of-hiv-hcv-and-hbv-transmission-by-blood-transfusion-bet-peer-reviewed-article-JBM>>.

YUEN, M.; CHEN, D.; DUSHEIKO, G. M.; JANSSEN, H. L. A.; LAU, D. T. Y.; LOCARNINI, S. A.; et al. Chronic hepatitis B virus infection. **The Lancet**, v. 392, n. 10161, p. 2313–2324, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2018.35>>.

ZHANG, L.; KO, S.; LV, J.; JI, F.; YAN, B.; XU, F.; et al. Perinatal hepatitis B prevention program in Shandong Province, China. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, v. 10, n. 9, p. 2755–2760, 2014. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/hv.29648>>.

APÊNDICES

Apêndice A - Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE ENFERMAGEM

Rua 227, Qd. 68 s/nº, S. Leste Universitário, CEP74605-080, Goiânia, Goiás.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado Senhor (a),

Você está sendo convidado para participar, como voluntário, em uma pesquisa. Meu nome é Karlla Antonieta Amorim Caetano, sou professora da Faculdade de Enfermagem/UFG e pesquisadora responsável. Minha área de atuação é epidemiologia, prevenção e controle das doenças sexualmente transmissíveis. Este documento irá lhe fornecer informações importantes sobre o estudo. Por favor, leia as instruções abaixo atentamente e, em caso de dúvidas, esclareça-as junto à equipe, para decidir se participa ou não do estudo. No caso de aceitar fazer parte do mesmo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Se ainda permanecer dúvidas, você poderá entrar em contato com o pesquisador listado abaixo e em caso de dúvidas sobre os seus direitos como participante nesta pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás, no telefone (62)3521-1215.

Título da pesquisa: Epidemiologia das IST/HIV/AIDS, hepatites virais e avaliação da imunogenicidade da vacina brasileira contra hepatite B em indivíduos acima de 40 anos

Pesquisador responsável: Profa. Karlla Antonieta Amorim Caetano.
Telefone para contato: (62) 3209-6280 Ramal: 208

Objetivo da pesquisa: Investigar a epidemiologia das hepatites virais B e C, HIV/aids e sífilis e avaliar a imunogenicidade da vacina brasileira contra hepatite B em indivíduos com idade \geq 40 anos de uma cidade do sudeste de Goiás.

Condução do estudo: você será orientado (a) sobre a importância, objetivos, riscos e benefícios da participação neste estudo. Seu nome não será divulgado, mantendo assim o seu anonimato. Você terá garantia de sigilo e direito de retirar seu consentimento a qualquer tempo, sem nenhum prejuízo à continuidade da pesquisa. Sua participação será oito etapas, por um período aproximado de 1 hora no primeiro encontro, no qual conversaremos sobre o tema em questão e cerca de 15 min para os próximos encontros para a vacinação contra hepatite B e/ou coleta de sangue para avaliação da resposta vacinal. Pedimos sua autorização para que responda ao instrumento de coleta de dados contendo perguntas sobre características sociodemográficas e comportamentos de risco para hepatites virais B e C, HIV/aids e sífilis. Em caso de dúvida no preenchimento do instrumento, o entrevistador permanecerá ao seu lado para os devidos esclarecimentos. Após a coleta de dados, você será orientado, por meio de ações educativas, sobre prevenção e controle das infecções de transmissão sexual. Ainda, serão coletados 10 ml de sangue por veia periférica para a realização da sorologia para as infecções hepatites virais B e C, HIV/aids e sífilis. Os tubos serão acondicionados em caixas térmicas e transportados para o Laboratório Municipal, onde os soros serão separados e estocados a -20°C até serem transportados para o Laboratório Multiusuário da Universidade Federal de Goiás, onde serão submetidos aos testes sorológicos. Todos os testes sorológicos serão realizados no Laboratório Multiusuário da FEN/FANUT/UFG. Se após a realização desses testes, ainda restar algum "sangue" (soro), esse permanecerá congelado, podendo ser utilizado em futuras pesquisas com outros agentes infecciosos que também causam hepatite, mediante a sua autorização e aprovação do(s) novo(s) projeto(s) pelo CEP da UFG e, quando for o caso, da CONEP. Ainda, aqueles que relataram nunca ter recebido a

vacina contra hepatite B receberá a primeira dose. A concentração da dose da vacina poderá ser a convencional ou a reforçada, ambas utilizadas pelo Ministério da Saúde. Assim, aqueles que iniciarem o esquema vacinal contra hepatite B, receberão as outras duas doses no período determinado pelo Programa Nacional de Imunização (1 mês após a 1ª dose e 5 meses após a 2ª dose). Por fim, após cerca de 30 dias a partir da administração da última dose vacinal, serão coletados novamente 10 mL de sangue por veia periférica, para a testagem da proteção da vacina contra hepatite B.

Riscos: os riscos da sua participação no estudo referem-se à coleta de sangue, que será realizada por meio de punção da sua veia, como a que você faz quando precisa fazer outros exames laboratoriais que necessitam de sangue para sua realização e à administração da vacina contra hepatite B, utilizando dosagens previstas pelo Ministério da Saúde. Essas técnicas serão realizadas por um profissional capacitado, sendo asseguradas todas as medidas para prevenção de infecção no local da punção e vacina. Em alguns poucos casos, pode ocorrer a formação de uma área arroxeadada/escurecida no local da coleta do sangue (hematoma), o qual desaparece após alguns dias. Em relação à vacina contra hepatite B, você poderá receber três doses ou quatro doses, sendo que algumas pessoas receberão maior concentração da vacina do que o convencional, mas que já é administrada em diversos grupos específicos pelo Ministério da Saúde, sem nenhum prejuízo da saúde e nenhuma contraindicação. Porém, podem ocorrer, em poucos casos, reações adversas, como dor, vermelhidão e endurecimento no local da administração da vacina, que desaparece em poucos dias. Cerca de 1 a 6% de todas as pessoas que recebem esta vacina também podem ter febre no primeiro dia e geralmente é bem tolerada. Cansaço, tontura, dor de cabeça, irritabilidade, desconforto gastrointestinal leve (1%-20%) podem estar presentes; reação de hipersensibilidade ocorre excepcionalmente (1 caso para 600.000 vacinados); a púrpura trombocitopênica idiopática (PTI) após vacina contra hepatite B é um evento raro, cuja relação causal é difícil de ser comprovada. Se no momento da participação do estudo, você estiver com uma doença aguda febril é contraindicado a administração da vacina contra hepatite B, sobretudo para que seus sinais e sintomas não sejam atribuídos ou confundidos com possíveis efeitos adversos das vacinas. Indivíduos com câncer devem vacinar preferencialmente antes do início da terapia imunossupressora. Além desses desconfortos físicos, você pode se sentir incomodado em responder algumas perguntas de sua intimidade. Assim, você pode escolher o local que considerar o mais privativo em sua casa ou na unidade de saúde para responder as perguntas.

Benefícios: os benefícios indiretos com a participação neste estudo incluem o conhecimento sobre a prevalência das infecções hepatites virais B e C, HIV/aids e sífilis na população acima de 40 anos de Goiandira-Goiás, o que fornecerá informações que serão valiosas na elaboração de medidas educativas-preventivas que contribuirão para a melhoria da qualidade de vida desse grupo populacional. Ainda, entre os benefícios diretos, vocês serão submetidos ao tratamento e ao acompanhamento imediato caso o teste sorológico seja positivo para esta infecção. Por meio da Educação em Saúde, vocês também receberão informações, podendo esclarecer dúvidas com relação à sua saúde e como prevenir as DST/HIV/Aids. Por fim, a vacinação oferecida é o único meio eficaz de prevenção da hepatite B e por meio deste projeto você, além de receber todas as doses necessárias, ainda saberá se está realmente protegido, após o exame sorológico.

Confidenciabilidade e período de participação: sua participação se dará no período da entrevista, no teste sorológico, atividades educativas, administração das três doses da vacina contra hepatite B, além da última coleta de sangue, para avaliar a soroproteção à hepatite B. Se você consentir em participar do mesmo, as informações obtidas serão registradas em formulário próprio e serão mantidas em maior sigilo por todo o período. Portanto, seu nome não constará nos formulários, registros ou publicações. Como falei acima, no tópico relacionado aos riscos de se participar do estudo, você poderá se sentir constrangido ao responder perguntas íntimas. Por outro lado, você tem liberdade de retirar seu consentimento a qualquer tempo.

Ressarcimento de despesas: você não terá custo ao participar deste estudo, como também não receberá pagamento ou qualquer gratificação financeira. Caso você se sinta lesado, poderá pleitear junto aos órgãos competentes, indenização, que será concedida, por determinação legal, caso seja comprovado à ocorrência de eventuais danos decorrentes da sua participação nesta pesquisa.

Nome e Assinatura do pesquisador _____

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO DA PESQUISA

Eu, _____,
RG/CPF: _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo, sob a
responsabilidade da Profa. Karlla Antonieta Amorim Caetano como sujeito voluntário. Fui devidamente
informado e esclarecido pelo pesquisador _____ sobre
a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes
de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento,
sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/
tratamento.

Local e data _____

Nome e Assinatura do sujeito ou responsável:

Assinatura Dactiloscópica:

**Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimento sobre a pesquisa e aceite do
sujeito em participar.**

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____ Assinatura: _____

Nome: _____ Assinatura: _____

Apêndice B - Instrumento da Coleta de Dados

SEÇÃO I – DADOS PESSOAIS	
1- Onde você Mora? 1-() Zona Urbana 2-() Zona Rural	zona()
2- Sexo: 1- Masculino () 2- Feminino ()	sex()
3- Nome (INICIAIS): _____	
4- Tel: - _____ ;Tel 2: - _____	fone()
5- Data de nascimento: / /	dnasc_ / /
6- Aonde você nasceu (cidade e estado)? _____	natest() natreg()
7- Você estudou até que série (especifique em anos de estudo)?	escol()
8- Você está estudando atualmente? 1-() Sim 2-() Não	escolatual()
Qual é a sua situação de trabalho atual? 1-() Aposentado; 2-() Empregado com carteira de trabalho; 3-() Empregado sem carteira de trabalho; 4-() Trabalha por conta própria e não tem empregados; 5-()Empregador; 6-() Não trabalha atualmente/desempregado	trabalho ()
Você tem acesso à internet? 1-()Não; 2-()Sim; Se sim, aonde? (Marque mais de uma alternativa, se for o caso) 1-()Em casa/internet fixa 2-()No trabalho; 3-() No celular ; 4-() Outros, especifique: _____	internet() ondenet()
12- Em relação à cor da sua pele, como você se considera? 1-() Branco; 2-()Pardo; 3-() Preto; 4-() Amarelo (oriental); 5-() Vermelho(indígena)	cor()
13- Você Tem Religião? 1-() Sem Religião; 2-() Católica; 3-() Evangélica; 4-() Espírita; 5-() Outra: especifique _____	rel()
14- Qual o seu estado civil? 1-() Casado/união consensual; 2-() Solteiro; 3-() Separado; 4- Viúvo()	estciv ()
15- Você tem filhos? 1-() Não; 2-() Sim;	filho()
16- Quantos: _____	nfilho ()
17- Número de pessoas que moram na sua casa?	npessoa ()
Renda mensal familiar (soma de todas as rendas daqueles que trabalham e moram na casa): R\$ _____	rendafam ()
Renda mensal individual (soma de todas as renda daqueles que trabalham e moram na casa dividido pelo total de pessoas que moram na casa): R\$ _____	rendaind()
SEÇÃO II – DADOS DA MORADIA ATUAL	
20- Número de quartos da casa? _____	nquarto ()
Como é o fornecimento de água na região? 1- Poços/minas/represas-reservatório (); 2- encanada-cisterna (); 3- Encanada-poço artesiano (); 4- Encanada-lagos/represas/rio (); 5- Encanada-empresa-SANEAGO (); 6- Não sabe ()	agua ()
22- Tratamento dado a água consumida: 1- Filtra água (); 2- Ferve a água (); 3- Não trata (); 4- outro (), especifique: _____	tagua ()
23- Neste domicílio existe banheiro ou sanitário? 1- Não (); 2- Sim ()	banheiro ()
Para onde vão os dejetos deste banheiro ou sanitário? 1- Fossa séptica(); 2- Fossa rudimentar (); 3- Direto para rio, lago, represa (), 4- Esgoto (); 5- Outros (), especifique: _____	dejeto ()
25- Qual o destino do lixo? 1- Queimado (); 2- Enterrado (); 3- Coleta (); 4- Outro (), especifique: _____	lixo ()
SEÇÃO III – CONDIÇÃO DE SAÚDE ATUAL	
26- Qual é a sua altura? _____	altura()
27- Qual é o seu peso? _____	peso()
28- IMC:	IMC()
29- Você recebe visitas de um agente comunitário? 1-() Não; 2-() Sim	agente ()

30- Quando você precisa consultar, procura qual serviço de saúde? 1- SUS (); 2- Plano de saúde (); 3-Particular ()	atensaude ()
31- Você toma remédio para alguma doença? 1-() Não; 2-() Sim; 3-() Não sabe;	remedio()
32- Se sim, qual doença? _____	doenca()
33- Você tem Pressão Alta (Hipertensão Arterial Sistêmica)? 1-() Não; 2- ()Sim; 3-()Não sabe;	has()
34- Você tem diabetes? 1-() Não; 2- ()Sim; 3-()Não sabe;	diabet()
Em caso de homem, você já realizou o exame de próstata (PSA- de sangue)? 1-() Não; 2- ()Sim; 3-()Não sabe; Se sim, resultado: 1-()Não Alterado; 2-() Alterado; 3-()Não sabe	psas() psasres()
Em caso de homem, você já realizou o exame de próstata (toque retal)? 1-() Não; 2- ()Sim; 3-()Não sabe; Se sim, resultado: 1-()Não Alterado; 2-() Alterado; 3-()Não sabe	psat() psatres()
Em caso de mulher, você já fez exame ginecológico? 1-() Sim; 2-() Não Se sim, quando foi a última vez que você fez um exame ginecológico? 1-() últimos 12 meses; 2-() há 3 anos; 3-() há quatro-cinco anos; 4-() Há mais de 5 anos; 5-() Não sabe;	gineco ()) congineco()
41- Em caso de mulher, pensando nessa última vez que você fez exame ginecológico, você fez o exame preventivo (Papanicolau)? 1-() Sim; 2-() Não; 3-() Não sabe	papanicolau()
42- Você já esteve internado em algum momento da vida? 1- Não (); 2- Sim (), Se sim, qual o motivo da internação: 1- cirurgia (); 2- clínico ()	inter()
43- Você já foi ao dentista prático na vida (Profissional não formado)? 1- Não (); 2- Sim	dentpratico()
44- Quantas vezes você ou sua parceira esteve grávida? _____	grav()
45- Você ou sua parceira já sofreu aborto? 1-() Não; 2-() Sim; Se sim, quantos? _____	abor() nabor()
SEÇÃO IV – HÁBITOS E COSTUMES ASSOCIADOS AO USO DE DROGAS LÍCITAS E ILÍCITAS Vamos falar um pouco sobre hábitos e costumes	
Você fuma Tabaco/cigarro? 1-() Não; 2-() Sim; Se sim, quantos cigarros por dia? _____	fuma() nfuma()
Você já usou algum tipo de droga na vida? 1-() Não; 2-() Sim; Se sim, qual(is)? 1-() Álcool; 2-() Crack; 3-() Maconha; 4-() Cocaína; 5-() Droga injetável; 6-() Outra: Especifique: _____	droga() tipdroga()
50- Em caso de uso de drogas: Com qual idade você começou a usar drogas? _____	idadroga()
Em caso de uso de drogas: Você fez uso de drogas nos últimos 12 meses? 1-() Não; 2-() Sim; Se sim, qual(is)? 1-() Álcool; 2-() Crack; 3-() Maconha; 4-() Cocaína; 5-() Droga injetável; 6-() Outra: Especifique: _____	droga12()) tipdroga12()
53- Em caso de uso de drogas: Com que frequência você fez uso de drogas nos últimos 12 meses? 1-() Todos os dias; 2-() 1x/ semana; 3-() 2x/ semana; 4-() 1x/ mês;	freqdroga12
54- Em caso de uso de cocaína: Você já compartilhou o canudo para o uso da cocaína em pó? 1-() Não; 2-() Sim	canudo()
55- Em caso de uso de drogas injetável: Você já se injetou com seringa/agulha que havia sido usada antes por outra pessoa? 1-() Não; 2-() Sim	compseringa()
56- Você já fez uso de bebida alcoólica na sua vida (cerveja, pinga)? 1-() Não; 2-() Sim	alcohol()
Você fez uso de álcool nos últimos 12 meses? 1-() Não; 2-() Sim, Se sim, com que frequência? 1-() Todos os dias; 2-() 1x/ semana; 3-() 2x/semana; 4-() 1x/mês;	alcohol12() freqalcohol12()

Alguma vez em sua vida você já usou anfetamina (são drogas estimulantes como bolinhas, rebites, medicamentos para emagrecer, ritalina, modafinil, ecstasy, etc.)? 1-()Não; 2-() Sim Se sim, utilizou nos últimos 12 meses? 1-()Não; 2-() Sim;	anfeta() anfeta12()
SEÇÃO V – COMPORTAMENTOS DE RISCO	
Você tem alguma tatuagem/piercing no corpo? 1-()Não; 2-() Sim, Se sim: quantos_____	tatoo() ntatoo()
63- Você já fez hemodiálise? 1-Não (); 2- Sim (), em que mês e ano parou?_____/____	hemo()
64- Atualmente, você fez hemodiálise? 1-Não (); 2- Sim ()	hemoatual()
65- Você já fez transfusão de sangue (recebeu sangue na veia)? 1-Não (); 2- Sim ()	transf ()
66- Caso afirmativo, transfusão foi antes de 1994? 1-Não (); 2-Sim (); 3-Não lembra ()	transf94 ()
Já compartilhou material de higiene (alicate de unha, prestobarba, escova de dente e outros)? 68- 1- Não (); 2- Sim ()	hig()
Já foi preso? 1-Não (); 2- Sim (); Se sim, quantas vezes?_____	preso() npris()
71- Qual o ano da sua última experiência na prisão?_____	anopris()
72- Por quanto tempo você ficou preso? (se mais de uma prisão o tempo total considerando todas as prisões) resposta em meses:_____	tempri()
SEÇÃO VI – COMPORTAMENTO SEXUAL	
Agora, gostaria que você respondesse a algumas perguntas sobre seu comportamento sexual. Lembrando que nenhuma pessoa ficará sabendo destas informações, este questionário não tem seu nome.	
73- Já iniciou atividade sexual? 1-() Não 2-() Sim	inisex()
74- Idade da primeira relação sexual:_____	sexarca ()
75- Qual foi o número de parceiros sexuais nos últimos 12 meses?_____	nsex12()
76- Você sente atração sexual por: 1-()Homem; 2-()Mulher; 3-()Homem e Mulher	atralsex()
77- Você já teve relação sexual com pessoa do mesmo sexo? 1-() Não; 2-() Sim	homosex()
78- Tipo de parceiros (as) sexuais nos últimos 12 meses? 1-() Não teve relações sexuais; 2-() Só homens; 3-() Só mulheres; 4-() Homens/Mulheres; 5-() Travestis/Transexuais;	parcesex()
79- Qual (ais) tipo (s) de prática sexual você tem ou teve neste período (12 meses)? 1- () Vaginal; 2- Oral (); 3- () Anal; 4-() Oro-anal (boca no ânus); 5-() Todos	tiposex12()
Você conhece o preservativo masculino? 1-() Não; 2-Sim; Se sim, já utilizou? 1-() Sim; 2-() Não	psvmas() usapsvmasc()
Você conhece preservativo feminino? 1-() Sim; 2-() Não; Se sim, já utilizou? 1-() Sim; 2-() Não	psvfem () usapsvfem()
84- Pensando na última relação sexual, você usou o preservativo? 1-() Sim; 2-() Não	psvultsex()
85- Frequência do uso do preservativo nos últimos 12 meses? 1-() Sempre; 2-() As vezes; 3-() Nunca	fprv12 ()
Você teve relação sexual com parceiros(a) casuais [paqueras, “ficantes”, rolos, amigo(a)] nos últimos 12 meses? 1-() Não; 2-() Sim; Se sim, usaram preservativo? 1-() Sempre; 2-() As vezes; 3-() Nunca	sexcasual() psvsescasual()
88- Em quais lugares/pessoas você obtém os preservativos? 1- ONG (); 2- Unidade de Saúde (CTA, cais/siams, outros) (); 3- Comércio (); 4 - Outros () especifique:_____	obtempsv()
Você conhece lubrificantes íntimos (gel) mesmo que só de ouvir falar? 1-() Sim; 2-() Não; Já usou estes lubrificantes? 1-() Sim; 2-() Não	lubrif() usolubrif()

<p>Você concorda com a seguinte afirmação: “o uso de álcool ou drogas pode fazer com que as pessoas tenham relação sexual sem usar camisinha”? 1-() Não; 2-() Sim; Se sim, isso já aconteceu com você? 1-() Não; 2-() Sim</p>	<p>afirmalcosex() alcosexdespr()</p>
<p>93- Você já teve relação sexual com profissional do sexo? 1-() Não; 2-() Sim</p>	<p>profisex()</p>
<p>Você já recebeu dinheiro ou pagou em troca de sexo? 1-() Não; 2-() Sim; Sim; Se sim: usou preservativo? 1-() Sim; 2-() Não</p>	<p>prost() psvprost()</p>
<p>Você já teve relação sexual com alguém que conheceu pela internet? 1-() Não; 2-() Sim; Se sim: usou preservativo? 1-() Sim; 2-() Não</p>	<p>sexnet() psvnet()</p>
<p>Você já utilizou dispositivo móvel-celular (tinder, badoo, happn) para busca de parceiro sexual: 1-() Não; 2-() Sim Você já fez sexo com parceiro sexual que conheceu pelo celular (dispositivo móvel)? 1-() Não; 2-() Sim Se sim, frequência do uso do preservativo com estes parceiros advindos de dispositivo móvel? 1-() Sempre; 2-() As vezes; 3-() Nunca</p>	<p>buscacerular() sexcelular() psvcelular()</p>
<p>101- Em caso de homem, você já operou de fimose ou fez circuncisão? 1-() Não; 2-() Sim;</p>	<p>fimose()</p>
<p>102- Já contraiu algum tipo de IST (doença do mundo, venérea, doença que pega pelo sexo)? 1-() Não; 2-() Sim</p>	<p>relatoist()</p>
<p>· Durante a sua vida, você já teve algum desses problemas na genitália (vagina, ânus, pênis)? a) Feridas? 1-() Não; 2-() Sim; Se sim, idade último episódio: _____ Pequenas bolhas? 1-() Não; 2-() Sim; Se sim, idade último episódio: _____ Verrugas? 1-() Não; 2-() Sim; Se sim, idade último episódio: _____ d) Corrimento pelo canal da urina? 1-() Não; 2-() Sim; Se sim, idade último episódio: _____</p>	<p>feri() bolhas() verruga() corr()</p>
<p>· E nos últimos 12 meses, você já teve algum desses problemas na genitália (vagina, ânus, pênis)? a) Feridas? 1-() Não; 2-() Sim; Se sim, idade último episódio: _____ Pequenas bolhas? 1-() Não; 2-() Sim; Se sim, idade último episódio: _____ Verrugas? 1-() Não; 2-() Sim; Se sim, idade último episódio: _____ d) Corrimento pelo canal da urina? 1-() Não; 2-() Sim; Se sim, idade último episódio: _____</p>	<p>feri12() bolhas12() verruga12() corr12()</p>
<p>· Você procurou tratamento em alguma unidade de saúde (quando apresentou IST ou corrimento ou ferida/úlceras)? 1- Não (); 2- Sim () caso não, o que fez para tratar? _____</p>	<p>tratulc()</p>
<p>· Na última vez que você teve um desses problemas, recebeu alguma dessas orientações? Usar regularmente preservativo 1-() Sim; 2-() Não; Informar aos(as) parceiros(as) 1-() Sim; 2-() Não; Fazer o teste de HIV 1-() Sim; 2-() Não; Fazer o teste de sífilis 1-() Sim; 2-() Não; Fazer os testes para as hepatites B e C 1-() Sim; 2-() Não;</p>	<p>orientpsv() orientparc() orienthiv() orientsífilis() orienthepat()</p>
<p>SEÇÃO VII- VIOLÊNCIA</p>	
<p>107- Você já foi vítima de violência (sexual, física, psicológica, negligência/abandono)? 1-() Não; 2-() Sim; Se sim, responder as questões 106 a 109</p>	<p>violencia()</p>
<p>108- Se sim, qual(is) o(s) tipo(s) de violência você vivenciou (fale os tipos de violência)? 1-Sexual(); 2- Física (); 3- Psicológica (); 4- Negligência/Abandono; 5- Outro (), especifique: _____</p>	<p>tipviolencia()</p>

109- Quem praticou atos de violência contra você? 1() - Familiar/parente, especifique grau de parentesco: _____; 2-() Comunidade-conhecido; 3-() Desconhecido	quemviolencia()
Em caso de abuso sexual, quantos anos você tinha? _____	daviolsexual()
Em caso de abuso sexual, convive com o indivíduo? 1-() Não; 2-() Sim;	conviolsexual()
SEÇÃO VIII- DISCRIMINAÇÃO	
112- Nos últimos 12 meses, você se sentiu discriminado por alguma pessoa ou instituição, por algum motivo? 1-() Não; 2-() Sim, Se sim, qual? _____	discri()
113- Em relação à afirmação “um casal gay tem direito a adotar uma criança”, você: 1-() concorda; 2-() Discorda	discrigay()
114- Se você soubesse que há uma criança com aids na escola de seu filho/neto, você continuaria a mandar seu filho a essa escola. 1-() Sim; 2-() Não	discri_escolaid()
Se você soubesse que alguém que trabalha vendendo legumes e verduras está com o vírus da AIDS, você continuaria comprando esses alimentos dessa pessoa? 1-() Sim; 2-() Não	discri_trabaid()
SEÇÃO IV- VACINA	
116- Você possui cartão de vacina? 1- Não (); 2- Sim ()	carvac()
117- Você já foi vacinado contra hepatite B? 1- Não(); 2- Sim(); 3- Não sabe () Caso afirmativo, quantas doses da vacina você recebeu? 1 dose (), data: ___/___/___; 2 doses (), data: ___/___/___; 3 doses (), data: ___/___/___;	vacb()
118- Quais destas outras vacinas você já recebeu depois de adulto? Anti-tetânica: 1- Não (); 2- Sim (); 3- Não sabe () DATA: ___/___/___ Anti-rubéola: 1- Não (); 2- Sim (); 3- Não sabe () DATA: ___/___/___ Anti-febre amarela: 1- Não (); 2- Sim (); 3- Não sabe () DATA: ___/___/___	vactet() vacrub() vacfa()
SEÇÃO X- AUDIT – TESTE PARA IDENTIFICAÇÃO DE PROBLEMAS RELACIONADOS AO USO DE ÁLCOOL Instruções para preenchimento: a) escolha uma opção para cada pergunta e passe o número dela para a “caixinha” do lado direito;	
Com que frequência você toma bebidas alcoólicas? Nunca 3 Duas a três vezes por semana Uma vez por mês ou menos 4 Quatro ou mais vezes por semana Duas a quatro vezes por mês	<input type="checkbox"/>
Nas ocasiões em que bebe, quantas doses você costuma tomar? (1 a 2 doses) 3 (7 a 9 doses) (3 ou 4 doses) 4 (10 ou mais doses) (5 ou 6 doses)	<input type="checkbox"/>
Com que frequência você toma “seis ou mais doses” em uma ocasião? Nunca 3 Duas a três vezes por semana Uma vez por mês ou menos 4 Quatro ou mais vezes por semana Duas a quatro vezes por mês	<input type="checkbox"/>
Com que frequência, durante o último ano, você achou que não seria capaz de controlar a quantidade de bebida depois de começar? Nunca 3 Duas a três vezes por semana Uma vez por mês ou menos 4 Quatro ou mais vezes por semana Duas a quatro vezes por mês	<input type="checkbox"/>
Com que frequência, durante o último ano, você não conseguiu cumprir com algum compromisso por causa da bebida? Nunca 3 Duas a três vezes por semana Uma vez por mês ou menos 4 Quatro ou mais vezes por semana Duas a quatro vezes por mês	<input type="checkbox"/>

18-Tomar uma ducha ou lavar os órgãos genitais depois do sexo previne que a pessoa pegue HIV	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
19-Comer alimentos saudáveis impedem que uma pessoa pegue o HIV	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
20-Todas as mulheres grávidas com HIV terão bebês que nascerão com aids	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
21-Usar camisinha diminui a chance de uma pessoa pegar o HIV	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
22-Uma pessoa com HIV pode parecer e sentir-se saudável	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
23-As pessoas com HIV rapidamente mostram sérios sinais de estarem com vírus	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
24-Uma pessoa pode estar com HIV por 5 anos ou mais sem ter aids	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
25-Existe uma vacina que impede as pessoas de pegarem o HIV	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
26-Existem medicamentos para o tratamento da aids	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
27-Mulheres são testadas para o HIV durante o exame preventivo do câncer (papanicolau)	1-()Verdadeiro	2-() Falso	3-()Não sabe
28-Uma pessoa não pega o HIV por praticar sexo oral (boca no pênis) em um homem com HIV	1-()Verdadeiro	2-() Falso	3-()Não sabe
29-Uma pessoa pode pegar HIV ainda que faça sexo com outra pessoa uma única vez	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
30-É possível que uma pessoa pegue o HIV através de um beijo, quando se põe a língua na boca de um parceiro que está com HIV	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
31-Uma pessoa pode pegar o HIV ao doar sangue	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
32-Uma mulher não pega o HIV se fizer sexo durante a menstruação	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
33-Normalmente, é possível saber se alguém tem HIV apenas olhando para ela	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
34-Existe uma camisinha feminina que ajuda a diminuir as chances de uma mulher pegar o HIV	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
35-Uma pessoa NÃO pegará o HIV se estiver tomando antibióticos	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
36-Fazer sexo com mais de um parceiro aumenta as chances de se infectar com (pegar o) HIV	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
37-Fazer o teste para HIV uma semana depois de fazer sexo dirá se uma pessoa tem HIV	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
38-Uma pessoa pode pegar HIV ao entrar em uma piscina ou banheira com alguém que tem HIV	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
39-Uma pessoa pode pegar HIV através do contato com saliva, lágrimas, suor ou urina	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
40-Uma pessoa pode pegar o HIV através das secreções vaginais da mulher	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
41-Uma pessoa pode pegar o HIV se fizer sexo oral (boca na vagina) em uma mulher	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
42-Utilizar vaselina ou óleo de bebê na camisinha diminui a chance de pegar o HIV	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
43-A lavagem com água fria do material utilizado no uso de drogas mata o HIV	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
44-Se uma pessoa tiver um teste positivo para o HIV, o local onde o teste foi feito terá que avisar todos seus parceiros sexuais	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
45-Uma mulher pode pegar o HIV se fizer sexo vaginal com um homem que tem HIV	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe

46-Pessoas que utilizam anabolizantes e esteroides (bomba) injetáveis podem pegar HIV ao compartilhar as agulhas	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
47-Tomar banho após o sexo evita que a mulher pegue o HIV	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
48-Tomar vitaminas evita que uma pessoa pegue o HIV	1-()Verdadeiro	2-()Falso	3-()Não sabe
CORREÇÃO ESCALA (6-48)			
CORREÇÃO TOTAL	Certas:	Erradas ou Não sabe:	

Nome do Entrevistador: _____

Apêndice C - Laudo do Diagnóstico

	UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS FACULDADE DE ENFERMAGEM	
Laudo do Diagnóstico		
ID: _____		
Data da coleta: ____/____/____		
Nome do paciente: _____		
Data de Nascimento: ____/____/____ Sexo: () M () F		

TESTE RÁPIDO PARA DETECÇÃO DE ANTÍGENO DE SUPERFÍCIE PARA HEPATITE B - HBsAg	
Amostra: sangue total	
Nome do produto: _____	
Método: Imunocromatografia	
Resultado do teste:	
() Amostra REAGENTE para o antígeno de superfície da Hepatite B	REFERÊNCIA: Não Reagente
() Amostra NÃO REAGENTE para o antígeno de superfície da Hepatite B	
TESTE RÁPIDO PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS PARA HEPATITE C	
Amostra: sangue total	
Nome do produto: _____	
Método: Imunocromatografia	
Resultado do teste:	
() Amostra REAGENTE para o anticorpo para Hepatite C (anti-HCV)	REFERÊNCIA: Não Reagente
() Amostra NÃO REAGENTE para o anticorpo para Hepatite C (anti-HCV)	
TESTES RÁPIDOS PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS PARA SÍFILIS	
Amostra: sangue total	
Nome do produto: _____	
Método: Imunocromatografia	
Resultado do teste:	
() Amostra REAGENTE para sífilis	REFERÊNCIA: Não Reagente
() Amostra NÃO REAGENTE para sífilis	
TESTES RÁPIDOS PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-HIV	
TESTE 1:	
Amostra: sangue total	
Nome do produto: _____	
Método: Imunocromatografia	
Resultado do teste:	
() Amostra REAGENTE para HIV	
() Amostra NÃO REAGENTE para HIV	
TESTE 2: (se realizado)	
Amostra: sangue total	
Nome do produto: _____	
Método: Imunocromatografia	
Resultado do teste:	
() Amostra REAGENTE para HIV	REFERÊNCIA: Não reagente
() Amostra NÃO REAGENTE para HIV	

Responsável Técnico: _____
(carimbo e assinatura)

OBSERVAÇÕES

- ✓ Caso persista a suspeita de infecção pelo HIV, mesmo diante de um teste com resultado não reagente, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta nesta amostra.
 - Exame realizado conforme portaria SVS/MS nº 29, de 17 de dezembro de 2013, que aprova o Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV em adultos e Crianças e dá outras providências.
- ✓ O teste rápido utilizado para Sífilis é um teste treponêmico, representa um teste de triagem qualitativa para detecção de anticorpos para o *T.Pallidum* em amostras de sangue.
 - Amostras com resultados reagente para Sífilis: o paciente deverá realizar um teste não treponêmico para finalização do diagnóstico e acompanhamento do caso.
 - Amostras não reagente para Sífilis: em caso de suspeita de Sífilis, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta dessa amostra e submetida ao teste.
- ✓ O teste rápido utilizado para Hepatite B é de triagem.
 - Amostra com resultado reagente no teste rápido para triagem do HBsAg: o paciente deverá ser encaminhado para realização de testes complementares para conclusão do diagnóstico.
 - Um resultado não reagente em HBsAg não permite excluir a infecção pelo vírus da Hepatite B.
 - Se a suspeita clínica para Hepatite B permanecer, repetir o exame após 60 dias.
- ✓ O teste rápido utilizado para Hepatite C é de triagem.
 - Se o resultado do teste for não reagente e os sintomas clínicos persistirem, testes adicionais de acompanhamento utilizando outros métodos clínicos são recomendados. Um resultado não reagente em qualquer tempo não exclui a possibilidade de infecções recentes de Hepatite C: avaliar a janela imunológica e retornar após 90 dias para realizar novo exame.
 - Amostra com resultado reagente no teste rápido para triagem do anti-HCV: encaminhar o paciente para realização do teste confirmatório.

Independente dos resultados dos testes rápidos, a situação clínica e epidemiológica do paciente deverá ser observada.

Anti HBe SYM

96 testes 192 testes 480 testes 960 testes
(Cod.10006) (Cod. 10007) (Cod. 10061) (Cod. 10062)

KIT IMUNOENZIMÁTICO PARA DETECÇÃO DE
ANTICORPOS CONTRA O ANTÍGENO "core" DO VÍRUS
DA HEPATITE B EM SORO OU PLASMA HUMANO

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO "IN VITRO"
MS nº 80105220100

Fabricado por:

Symbiosys Diagnóstica Ltda. CNPJ: 04.299.232/0001-43

Rua Biazio Vicentini 350/360 - Leme - S.P. 13614-330

Fone: (19) 3554 8621

Responsável Técnico:

Sílvia Maria Melges Duarte - CRF - SP: 15.502

1. Introdução

A detecção dos anticorpos contra o antígeno "core" da Hepatite B (anti HBe) é utilizado no monitoramento da Hepatite do vírus B. Os anticorpos anti HBe aparecem no sangue dos pacientes pouco depois do aparecimento do antígeno da superfície do vírus (HBsAg) e permanecem também quando este desaparece e os anticorpos anti HBs ainda não são reveláveis; portanto, na ausência do HBsAg e dos anticorpos anti HBs, a presença dos anticorpos anti HBe indicam infecção recente, portanto, sangue potencialmente infeccioso. Os anticorpos contra HBcAg podem ser tanto da classe IgM quanto IgG. Os anticorpos da classe IgM aparecem mais precocemente e chegam a um máximo na fase aguda da doença, ao contrário os anticorpos da classe IgG que podem permanecer durante anos sem indicar infecções ativas.

Como os testes ELISA não são 100% seguros na detecção dos anticorpos anti HBe, o resultado positivo para anticorpos anti HBe deve ser confirmado utilizando um outro método específico.

O resultado negativo de um teste ELISA para anticorpos anti HBe, todavia, não exclui com certeza a presença dos anticorpos anti HBe. Contudo, o teste ELISA é hoje em dia ainda o melhor método sorológico para identificação do sangue procedente das pessoas positivas para anti HBe, com ampla margem de segurança.

2. Descrição da finalidade

O kit "Anti HBe SYM" é um ensaio baseado na técnica de ELISA, competitivo para a detecção de anticorpos contra o antígeno "core" do vírus da Hepatite B em soro ou plasma. Para uso Diagnóstico "In vitro". Para uso por profissionais da saúde.

3. Descrição do princípio de ação

Nas cavidades das microplacas sensibilizadas com o antígeno "core" (HBcAg) purificado, adicionam-se as amostras e anticorpos anti HBe conjugados com peróxido de rúbano (HRPO), que competem com as amostras em ligar-se ao antígeno na fase sólida. Após aspiração e lavagem, outros componentes da

ANEXOS

Anexo A – Teste Anti-HBc Total

amostra e do conjugado não ligados são removidos.

A atividade enzimática fixada na fase sólida, agindo com a solução cromógeno substrato, gera um sinal óptico que é inversamente proporcional a quantidade de anti HBe presente na amostra.

A intensidade da cor desenvolvida é medida por meio de leitura espectrofotométrica a 450 nm com referência em 620/630 nm.

4. Reagentes do Kit

Os reagentes são suficientes para 96, 192, 480 e 960 determinações.

Configuração	96	192	480	960
Microplaca	1	2	5	10
Controle Negativo	1 frasco 1,2 mL	1 frasco 2,0 mL	1 frasco 4,0 mL	2 frascos 4,0 mL
Controle Positivo	1 frasco 1,2 mL	1 frasco 2,0 mL	1 frasco 4,0 mL	2 frascos 4,0 mL
Conjugado	1 frasco 7,5 mL	1 frasco 15 mL	1 frasco 30 mL	1 frasco 60 mL
Solução Lavagem	1 frasco 30 mL	1 frasco 60 mL	2 frascos 60 mL	3 frascos 60 mL
Cromógeno	1 frasco 6,0 mL	1 frasco 12 mL	1 frasco 30 mL	1 frasco 60 mL
Substrato	1 frasco 6,0 mL	1 frasco 12 mL	1 frasco 30 mL	1 frasco 60 mL
Solução Bloqueadora	1 frasco 6,0 mL	1 frasco 12 mL	1 frasco 30 mL	1 frasco 60 mL

- Microplaca sensibilizadas: microplacas sensibilizadas com antígeno "core" do vírus HBV purificado. Cada microplaca vem dentro de um envelope lacrado. Deixar que as microplacas atinjam a temperatura ambiente antes de abrir o envelope; fechar as tiras não usadas no envelope e armazenar em 2-8°C.
- Controle Negativo: Solução tampão não reativo para anticorpo anti HBe. Contém 0,1% de Proclim como conservante. Pronto para uso.
- Controle Positivo: Solução tampão contendo plasma humano reativo para anticorpo anti HBe. Contém 0,1% de Proclim como conservante. Pronto para uso.
- Conjugado: Solução tampão contendo anticorpos monoclonais anti HBe conjugados com peróxido de rúbano (HRPO). Contém 0,1% de Proclim como conservante. Pronto para uso.
- Solução de Lavagem (concentrada): Tampão PBS-Tween 20 e Kathon como conservante; concentrada 20x. Diluir o conteúdo do frasco antes do uso. (Ver Item Preparo de Reagentes) ESTE REAGENTE É COMUM A TODOS OS KITS SYM.
- Cromógeno: Tetrametilbenzidina em solução tampão. Pronto para uso. Nota: conservar protegido da luz.
- Substrato: Solução de Peróxido de hidrogênio. Pronto para uso.
- Solução bloqueadora: H₂SO₄ 1N. Pronto para uso. ESTE REAGENTE É COMUM A TODOS OS KITS SYM.
- Etiqueta adesiva para a microplaca.
- Instruções de Uso.

5. Materiais, artigos, acessórios, insumos ou equipamentos necessários e não fornecidos:

- Micropipetas automáticas e ponteiros descartáveis com capacidade 50, 300 µL e 1000 µL.
- Vidraria graduada.
- Timer (Temporizador).
- Estufa com temperatura regulável a 37°C ± 1°C.
- Bomba aspiradora ou aparelho automático para lavagem das microplacas.
- Espectrofotômetro de precisão para microplacas, com possibilidade de medida em absorbância no intervalo 0-3.0 A e com comprimento de onda de 450 e 620-630 nm.
- H₂O destilada.

6. Condições de armazenamento e transporte do produto

- O kit deve ser mantido em 2 – 8°C.
- Manter as tiras não utilizadas em 2 – 8°C no envelope da microplaca, seguramente fechado, dessa forma as tiras são estáveis até dois meses após aberta.
- Fechar adequadamente os reagentes após o uso e mantê-los em 2 – 8°C, dessa forma os reagentes que compõem o kit são estáveis até dois meses após abertura dos frascos.
- As datas do vencimento de cada reagente são indicadas nos respectivos rótulos.
- Evitar a exposição do cromógeno-substrato à luz.

7. Precauções com o uso do produto

- O kit "Anti HBe SYM" é somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Não misturar reagentes de lotes ou produtos diferentes.
- Não usar os reagentes depois da data do vencimento.
- Usar vidraria perfeitamente limpa e lenta de contaminações de íons metálicos ou substâncias oxidantes.
- Usar água destilada, conservada em recipientes perfeitamente limpos.
- Evitar contaminações entre amostras e reagentes; para tal fim é aconselhável usar pipetas com ponteiros descartáveis para cada amostra e para cada reagente. Evitar o contato das ponteiros com as bordas das cavidades das microplacas para não ocorrer contaminação cruzada.
- Realizar todas as etapas do procedimento do teste cuidadosamente, a fim de obter resultados confiáveis. Respeitar os tempos de incubação dispensando o cromógeno-substrato e a solução bloqueadora em um tempo não superior aos 3-4 minutos; dispensar os dois reagentes na mesma sequência.
- Caso a solução do cromógeno-substrato apresente cor azulada, antes do uso, descarte-a. Viragem inespecífica do substrato pode às vezes acontecer devido à contaminação durante o manuseio.

8. Instruções de Biossegurança

- Os materiais de origem humana utilizados no preparo desta kit foram testados para a presença dos anticorpos anti HIV, anti HCV e do HBsAg e resultaram negativos repetidas vezes. De qualquer modo nenhum teste atualmente disponível no mercado garante a ausência dos agentes virais responsáveis pela Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (HIV), Hepatite B e C. Todos os reagentes e todas as amostras de soro humano precisam ser considerados potencialmente infectantes; portanto os descartes da dosagem precisam ser descontaminados e eliminados conforme oportunas regras de segurança.
- Orientações para o descarte dos reagentes: ANVISA RDC 306 Resíduos de Serviço de Saúde - D.O.U. de 10/12/2004.
 - Todo reagente e material descartável que for desprezado deve ser encaminhado em seu conteúdo íntegro para coleta de resíduos de serviço de saúde especializado de materiais potencialmente infectantes.
 - Todos os resíduos de reagentes e materiais reutilizáveis, provenientes da reação devem ser imersos em solução de hipoclorito de sódio 0,5% por no mínimo 4 horas e enxaguado com água em abundância.
- A solução bloqueadora contém ácido sulfúrico, irritante para os olhos e pele, em caso de contato, lavar abundantemente com água.
- A azida sódica utilizada como conservante em alguns reagentes pode reagir com o chumbo e o cobre dos canos e tubulações, formando ázidas de metal explosivo. Ao dispensar resíduos de reagentes nas pias, permitir que grande quantidade de água seja desprezada em seguida.
- Não pipetar com a boca.
- Não comer, beber ou fumar no laboratório.
- Usar luvas descartáveis e proteger os olhos quando manusear amostras e durante o teste.
- Lavar as mãos quando terminar o procedimento.

9. Orientações sobre os cuidados com a amostra biológica

- A dosagem pode ser realizada usando soro ou plasma.
- As amostras fortemente lipêmicas, ictericas ou hemolizadas podem dar resultados errôneos.
- As amostras podem ser conservadas em 2 – 8°C por 24 horas; para períodos de tempo maiores conservá-las em -20°C. Aconselha-se não congelar e

- descongelar várias vezes as amostras.
- Evitar a adição de conservante nas amostras, especialmente azida sódica, que inibe a reação enzimática.

10. Preparo de Reagentes

- **Solução de Lavagem (concentrada):** Para o frasco de 30 mL, diluir o conteúdo até 600 mL de H₂O destilada, para os frascos de 60 mL, diluir o conteúdo até 1200 mL de H₂O destilada. Caso estejam presentes cristais não dissolvidos, suspendê-los outra vez, colocando o frasco em 37°C por alguns minutos. A solução diluída permanece estável por 1 mês em 2-8°C.

11. Instruções de Lavagem

Um bom procedimento de lavagem é essencial para obtenção de resultados corretos e confiáveis. Recomendamos o uso de uma lavadora de microplacas, com parâmetros padronizados de dispensação e aspiração.

Geralmente são realizados 4 a 5 ciclos de aspiração e dispensação da solução de lavagem, sendo que utiliza-se um volume de aproximadamente 300 µL para cada cavidade por ciclo de lavagem.

Este procedimento realizado corretamente evita resultados falso positivos devido a lavagens inadequadas.

Usando-se este tipo de equipamento, recomendamos realizar um ciclo inicial com água destilada antes de começar a lavagem da placa com a Solução de Lavagem. Se após todos os ciclos houver sobra de solução nas cavidades, venter a placa sobre um papel absorvente e batê-la contra o papel para retirar o excesso do líquido.

Em caso de procedimento manual realizar o procedimento como descrito acima, porém tomando cuidado com as dispensações e aspirações para que estas sejam as mais homogêneas possíveis.

12. Procedimento do Teste

Esperar até que os reagentes e as amostras cheguem a temperatura ambiente. Agitar as amostras por meio de inversão antes de usar.

- Preparar o número de cavidades necessárias para a dosagem das amostras, do Controle Negativo em triplicata e do Controle Positivo em duplicata e uma cavidade para o Branco.
- Dispensar 50 µL de cada Controle e amostras nas cavidades respectivas.
- Adicionar 50 µL de Conjugado em todas as cavidades, exceto na do Branco.
- Cobrir a microplaca com a etiqueta adesiva e agitar delicadamente.
- Incubar por 30 minutos em 37° C.
- Retirar a cobertura adesiva e lavar as cavidades 6 vezes com 300 µL de Solução de Lavagem diluída (ver item Instruções de Lavagem).
- Dispensar 50 µL de Cromógeno e 50 µL de Substrato em todas as cavidades e agitar delicadamente.
- Incubar por 10 minutos em 37° C longe da luz intensa.
- Adicionar 50 µL de Solução Bloqueadora em todas as cavidades, usando a mesma seqüência de dispensação do cromógeno e substrato.
- Ler a densidade óptica das soluções a 450 nm em um espectrofotômetro de preferência bicromático, com comprimento de onda de referência a 620-630 nm. A leitura deve ser realizada dentro de 30 minutos do fim da dosagem.

13. Procedimentos de cálculos e obtenção dos resultados

Especificações de validação

Controles de validação do teste devem ser feitos cada vez que o kit é usado, para qualificar os resultados.

Critério	DO (450 nm)
Controle Negativo	> 0,800
Controle Positivo	< 0,100

Caso uma das replicatas dos controles estiver fora dos critérios, descartar o valor para efetuar os cálculos.

Resultados

Interpretação dos resultados

Cálculo do valor do cut off:

$$\text{Cut off} = \text{Média CN} \times 0,3$$

Se todos os critérios acima foram aceitos, os resultados são interpretados com relação ao valor de DO das amostras (S) e o valor de cut off (CO) de acordo com a seguinte tabela:

S/CO	Interpretação
< 0,9	Reagente
0,9 - 1,0	Indeterminado
> 1,0	Não Reagente

O resultado Não Reagente indica que o paciente não foi infectado com HBV. O resultado Reagente indica que o paciente foi infectado com HBV. Caso o resultado apresente-se Indeterminado coletar uma nova amostra e testar novamente

Exemplo de cálculo:

$$\text{Média do Controle Negativo DO 450nm} = 1,800$$

$$\text{Cut off} = 1,800 \times 0,3 = 0,540$$

Amostra #1	DO 450nm=1,680	Negativo
Amostra #2	DO 450nm=0,158	Positivo

14. Características do Produto

Sensibilidade

A sensibilidade clínica do produto foi determinada testando um painel de 51 amostras positivas com testes disponíveis no mercado. A sensibilidade clínica foi de 100%.

Especificidade

A especificidade foi determinada testando painéis de 335 amostras negativas, em paralelo com testes disponíveis no mercado. 1 amostra resultou reativa. Os resultados obtidos mostraram uma especificidade de 98,6%. Em outro estudo realizado por laboratório parceiro testou-se 607 amostras negativas e o % de especificidade ficou em 99,2%.

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada testando duas amostras em 10 replicadas. Foram obtidos os seguintes resultados:

Negativo: média DO 450: 1,813; desvio padrão 0,029; CV 1,6%
Positivo: média DO 450: 0,321; desvio padrão 0,052; CV 16,3%

Repetitividade

A repetitividade foi avaliada testando duas amostras em 3 lotes diferentes.

Negativo: média DO 450: 1,841; desvio padrão 0,041; CV 2,2%
Positivo: média DO 450: 0,338; desvio-padrão 0,047; CV 13,9%

GARANTIA

Este produto tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Controle de Qualidade da Symbiosis Diagnóstica Ltda de que não houve falhas técnicas na execução, manuseio do teste e na conservação do produto.

Bibliografia

- 1- Almeida, D. Rubenstein, E.F. Stott. New antigen-antibody system in Australia antigen positive hepatitis. Lancet, ii: 869-873, 1973.
- 2- Hoofnagle J.H., Gerety R.J. and Barker L.F. Antibody to Hepatitis-B-Virus Core in Man. Lancet, ii: 869-873, 1973.
- 3- Hoofnagle J.H., Seeff L.B., Bates Z.B., Gerety R.J. and Tabor E. Serologic Responses in HB. Viral Hepatitis (Vyas, G.N., Cohen S.N. and Schmid R., eds) The Franklin Institute Press, 1978, pp. 219-242.
- 4- Krugman et al. DNA polymerase activity and antibody to hepatitis B core antigen. New Engl. J. Med., 290: 1331 (1974).

Anexo B – Teste Anti-HBc IgM

ARCHITECT
SYSTEM

E

Anti-HBc IgM
REF 6C33
B6C330
36-6144/R4

Anti-HBc IgM

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

© 2002, 2003 Abbott / Printed in Germany / ARCHITECT Anti-HBc IgM
January 2003

Key to symbols used		
REF	List Number	LOT Lot Number
IVD	For In Vitro Diagnostic Use	CALIBRATORS Calibrator Kit
	Store at 2-8°C	CONTROLS Control Kit
	CAUTION: Handle human sourced materials as potentially infectious. Consult instructions for use. (Infection Risk)	ASSAY CD-ROM Assay CD-ROM
	Expiration Date	SN Serial Number
	Consult instructions for use.	CONTROL NO. Control Number
	Legal Manufacturer	REAGENT LOT Reagent Lot
	Legal Manufacturer	REACTION VESSELS Reaction Vessels
	Legal Manufacturer	SAMPLE CUPS Sample Cups
	Legal Manufacturer	SEPTUM Septum
	Legal Manufacturer	REPLACEMENT CAPS Replacement Caps

CE ABBOTT
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden
Germany
+49-6122-680
0086

CE ABBOTT
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden
Germany
+49-6122-680

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

ABBOTT
Diagnostics Division

NAME
ARCHITECT® Anti-HBc IgM

INTENDED USE
The ARCHITECT Anti-HBc IgM assay is a Chemiluminescent Microparticle Immunoassay (CMIA) for the qualitative detection of IgM antibody to hepatitis B core antigen (anti-HBc IgM) in human serum and plasma and is indicated for use as an aid in the diagnosis of acute or recent hepatitis B viral infection.

SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST
The ARCHITECT Anti-HBc IgM assay utilizes acridinium-labeled recombinant hepatitis B virus core antigen (rHBcAg) conjugate for the detection of anti-HBc IgM. Viral specific IgM antibody has been detected in most acute viral infections and is a reliable marker of acute disease. The concentrations of anti-HBc IgM rise rapidly in patients with acute infection; high levels of anti-HBc IgM have been detected in patients with acute hepatitis B viral infection.^{1,4,5} Hepatitis B surface antigen (HBsAg) will generally also be present as a serological marker of an acute infection,^{6,8} but there are reports of HBsAg being undetectable.⁹⁻¹⁰ In the convalescent phase, anti-HBc IgM will persist after the disappearance of HBsAg and decrease slowly over time. In the absence of information about any other hepatitis B virus (HBV) markers, it must be considered that an individual with detectable levels of anti-HBc IgM may be actively infected with HBV or that the infection may have resolved. Anti-HBc IgM may also be present in patients with chronic hepatitis B viral infection.^{8,9} The concentrations are generally lower than those associated with acute infections and may rise and fall with exacerbation of the disease.¹¹⁻¹⁶ Differentiation of acute and chronic hepatitis B viral infection solely on the basis of viral markers, which are also frequently present, such as HBsAg, anti-HBe, HBeAg, anti-HBe, and anti-HBc, is difficult because most of these markers occur in both acute and chronic disease. Since there is high correlation of high anti-HBc IgM concentrations with acute hepatitis B viral infection, the test for anti-HBc IgM may serve as an aid to distinguish acute hepatitis illness due to HBV versus superimposed infections by other possible agents such as hepatitis A, hepatitis C, or delta virus.^{8,9,11,15}

BIOLOGICAL PRINCIPLES OF THE PROCEDURE
The ARCHITECT Anti-HBc IgM assay is a two-step immunoassay for the qualitative detection of anti-HBc IgM in human serum and plasma using CMIA technology with flexible assay protocols, referred to as Chemilux®.
In the first step, prediluted sample and anti-human IgM (mouse monoclonal) coated paramagnetic microparticles are combined. Human IgM present in the sample binds to the anti-human IgM (mouse monoclonal) coated microparticles. After washing, the anti-HBc specific IgM binds to the acridinium-labeled rHBcAg conjugate that is added in the second step. Following another wash cycle, Pre-Trigger and Trigger Solutions are added to the reaction vessel (RV). The resulting chemiluminescent reaction is measured as relative light units (RLUs). A direct relationship exists between the amount of anti-HBc IgM in the sample and the RLUs detected by the ARCHITECT i* optical system. The presence or absence of anti-HBc IgM in the specimen is determined by comparing the chemiluminescent signal in the reaction to the cutoff signal determined from a previous ARCHITECT Anti-HBc IgM calibration. If the chemiluminescent signal of the reaction is greater than or equal to the cutoff signal, the specimen is considered reactive for anti-HBc IgM by the ARCHITECT Anti-HBc IgM assay.
For additional information on system and assay technology, refer to the ARCHITECT System Operations Manual, Section 3.

* i = immunoassay

REAGENTS
Reagent Kit, 100 Tests
ARCHITECT Anti-HBc IgM Reagent Kit (6C33)

- MICROPARTICLES** 1 or 4 Bottle(s) (5.6 mL) Microparticles: Anti-human IgM (mouse monoclonal) coated microparticles in TRIS buffer with protein (bovine, goat) stabilizers. Minimum concentration: 0.12% solids. Preservatives: Antimicrobial Agents.
- CONJUGATE** 1 or 4 Bottle(s) (5.9 mL) Conjugate: Acridinium-labeled hepatitis B virus core antigen (E. coli, recombinant) conjugate in succinate buffer with protein (bovine) stabilizer. Minimum concentration: 0.4 µg/mL. Preservatives: Antimicrobial Agents.

Other Reagents
ARCHITECT / Pre-Trigger Solution
* **PRE-TRIGGER SOLUTION** Pre-Trigger Solution containing 1.32% (w/v) hydrogen peroxide.
ARCHITECT / Trigger Solution
* **TRIGGER SOLUTION** Trigger Solution containing 0.35N sodium hydroxide.
ARCHITECT / Wash Buffer
* **WASH BUFFER** Wash Buffer containing phosphate buffered saline solution. Preservatives: Antimicrobial Agents.

WARNINGS AND PRECAUTIONS
* **IVD** For In Vitro Diagnostic Use.
* Package insert instructions must be followed accordingly. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

Safety Precautions
CAUTION: This product requires the handling of human specimens. It is recommended that all human sourced materials be considered potentially infectious and be handled in accordance with the OSHA Standard on Bloodborne Pathogens.¹⁷ Biosafety Level 2¹⁸ or other appropriate biosafety practices¹⁹⁻²² should be used for materials that contain or are suspected of containing infectious agents.

- ARCHITECT / Trigger Solution contains sodium hydroxide (NaOH) and is classified per applicable European Community (EC) Directives as: Irritant (Xi). The following are the appropriate Risk (R) and Safety (S) phrases.

	R41	Risk of serious damage to eyes.
	S25	Avoid contact with eyes.
	S26	In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.
	S35	This material and its container must be disposed of in a safe way.
	S36/39	Wear suitable protective clothing and eye/face protection.
	S46	If swallowed, seek medical advice immediately and show this container or label.

- Information for European customers: For product not classified as dangerous per European Directive 1999/45/EC - Safety data sheet available for professional user on request.
- For a detailed discussion of safety precautions during system operation, refer to the ARCHITECT System Operations Manual, Section 6.

Handling Precautions

- Do not use reagent kits beyond the expiration date.
- Do not pool reagents within a reagent kit or between reagent kits.
- Prior to loading the ARCHITECT Anti-HBc IgM Reagent Kit on the system for the first time, the microparticle bottle requires mixing to resuspend microparticles that may have settled during shipment. For microparticle mixing instructions, refer to the PROCEDURE, Assay Procedure section of this package insert.
- Septum **MUST** be used to prevent reagent evaporation and contamination, and to ensure reagent integrity. Reliability of assay results cannot be guaranteed if septum is not used according to the instructions in this package insert.
- To avoid contamination, wear clean gloves when placing a septum on an uncapped reagent bottle.
- When handling microparticle vials, change gloves that have contacted human plasma/sera, since introduction of human IgM may result in a neutralized microparticle.
- Prior to placing the septum on an uncapped reagent bottle, squeeze the septum in half to confirm that the vial is open. If the vial appears sealed, continue to gently squeeze the septum to open the vial.
- Once a septum has been placed on an open reagent bottle, do not invert the bottle as this will result in reagent leakage and may compromise assay results.
- Over time, residual liquids may dry on the septum surface. These are typically dried salts and have no effect on assay efficacy.
- For a detailed discussion of handling precautions during system operation, refer to the ARCHITECT System Operations Manual, Section 7.

Storage Instructions

- The ARCHITECT Anti-HBc IgM Reagent Kit must be stored at 2-8°C in an upright position and may be used immediately after removal from 2-8°C storage.
- When stored and handled as directed, reagents are stable until the expiration date.
- The ARCHITECT Anti-HBc IgM Reagent Kit may be stored onboard the ARCHITECT i System for a maximum of 30 days. After 30 days, the reagent kit must be discarded. For information on tracking onboard time, refer to the ARCHITECT System Operations Manual, Section 5.
- Reagents may be stored on or off the ARCHITECT i System. If reagents are removed from the system, store them at 2-8°C (with septums and replacement caps) in an upright position. For reagents stored off the system, it is recommended they be stored in their original trays and boxes to ensure they remain upright. **If the microparticle bottle does not remain upright (with the septum installed) while in refrigerated storage off the system, the reagent kit must be discarded.** After reagents are removed from the system, you must initiate a scan to update the onboard stability timer.

Indications of Reagent Deterioration

When a control value is out of the specified range, it may indicate deterioration of the reagents or errors in technique. Associated test results are invalid and will require retesting. Assay recalibration may be necessary. For troubleshooting information, refer to the ARCHITECT System Operations Manual, Section 10.

INSTRUMENT PROCEDURE

- The ARCHITECT Anti-HBc IgM assay file must be installed on the ARCHITECT i System from the ARCHITECT i Assay CD-ROM prior to performing the assay. For detailed information on assay file installation and on viewing and editing assay parameters, refer to the ARCHITECT System Operations Manual, Section 2.
- **NOTE:** For details on configuring the ARCHITECT i System to use grayzone interpretations, refer to the ARCHITECT System Operations Manual, Section 2, Subsection Assay Settings. Configure assay parameters dialog window – Interpretation.
- For information on printing assay parameters, refer to the ARCHITECT System Operations Manual, Section 5.
- For a detailed description of system procedures, refer to the ARCHITECT System Operations Manual.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION FOR ANALYSIS

- Human serum (including serum collected in serum separator tubes) or plasma collected in potassium EDTA, sodium citrate, sodium heparin, ACD, CPDA-1, CPD, or potassium oxalate may be used in the ARCHITECT Anti-HBc IgM assay. Other anticoagulants have not been validated for use with the ARCHITECT Anti-HBc IgM assay. Follow the manufacturer's processing instructions for serum or plasma collection tubes.
- The ARCHITECT i System does not provide the capability to verify specimen type. It is the responsibility of the operator to verify the correct specimen types are used in the ARCHITECT Anti-HBc IgM assay.
- Use caution when handling patient specimens to prevent cross contamination. Use of disposable pipettes or pipette tips is recommended.
- This assay was designed and validated for use with human serum or plasma from individual patient and donor specimens. Pooled specimens must not be used since the accuracy of their test results has not been validated.
- Do not use heat-inactivated specimens.
- Do not use grossly hemolyzed specimens.
- Specimens with obvious microbial contamination should not be used.
- Performance has not been established using cadaver specimens or body fluids other than human serum or plasma.
- For optimal results, inspect all samples for bubbles and foaming. Remove bubbles with an applicator stick prior to analysis. Use a new applicator stick for each sample to prevent cross contamination.
- Ensure that complete clot formation in serum specimens has taken place prior to centrifugation. Some specimens, especially those from patients receiving anticoagulant or thrombolytic therapy may exhibit increased clotting time. If the specimen is centrifuged before a complete clot forms, the presence of fibrin may cause erroneous results or aspiration errors.

- Specimens from heparinized patients may be partially coagulated and erroneous results could occur due to the presence of fibrin. To prevent this phenomenon, draw the specimen prior to heparin therapy.
- For optimal results, serum and plasma specimens should be free of fibrin, red blood cells, or other particulate matter.
- Gravity separation is not sufficient for specimen preparation. Specimens must be separated from clots or red blood cells using centrifugation as recommended by the tube manufacturer.
- After specimens have been processed per the collection tube manufacturer's instructions, they must be transferred to a centrifuge tube and centrifuged at $\geq 10,000$ RCF (Relative Centrifugal Force) for 10 minutes if:
 - they contain red blood cells, clots, or particulate matter, or
 - they require repeat testing, or
 - they were frozen and thawed.
 Transfer clarified specimen to a sample cup or secondary tube for testing.
- Specimens must be mixed THOROUGHLY after thawing by LOW speed vortexing or inversion. Visually inspect the specimens for the absence of stratification. If layering or stratification is observed, repeat until specimens are visibly homogeneous. Centrifuge at $\geq 10,000$ RCF for 10 minutes to remove particulate matter and to ensure consistency in the results.
- Centrifuged specimens with a lipid layer on the top must be transferred to a sample cup or secondary tube. Care must be taken to transfer only the clarified specimen without the lipemic material.
- Specimens may be stored on or off the clot or red blood cells for up to 7 days at 2-8°C. If testing will be delayed more than 7 days, remove serum or plasma from the clot, serum separator, or red blood cells and store frozen at -20°C or colder.
- No qualitative performance differences were observed between experimental controls and the 25 nonreactive or 25 spiked reactive specimens subjected to 6 freeze/thaw cycles; however, multiple freeze/thaw cycles should be avoided.
- No qualitative performance differences were observed between experimental controls and the 25 nonreactive or the 25 spiked reactive specimens tested with elevated levels of bilirubin (≤ 20 mg/dL), hemoglobin (≤ 500 mg/dL), triglycerides ($\leq 3,000$ mg/dL), protein (≤ 12 g/dL), or red blood cells ($\leq 0.4\%$ v/v).
- When shipped, specimens must be packaged and labeled in compliance with applicable state, federal, and international regulations covering the transport of clinical specimens and infectious substances. Specimens may be shipped ambient, at 2-8°C (wet ice), or -20°C or colder (dry ice). Do not exceed the storage time limitations listed above. Prior to shipment, it is recommended that specimens be removed from the clot, serum separator, or red blood cells.

PROCEDURE

Materials Provided

- 6C33 ARCHITECT Anti-HBc IgM Reagent Kit

Materials Required but not Provided

- ARCHITECT i System
- ARCHITECT i **ASSAY CD-ROM**
- 6C33-01 ARCHITECT Anti-HBc IgM **CALIBRATORS**
- 6C33-10 ARCHITECT Anti-HBc IgM **CONTROLS**
- ARCHITECT i **PRE-TRIGGER SOLUTION**
- ARCHITECT i **TRIGGER SOLUTION**
- ARCHITECT i **WASH BUFFER**
- ARCHITECT i **REACTION VESSELS**
- ARCHITECT i **SAMPLE CUPS**
- ARCHITECT i **SEPTUM**
- ARCHITECT i **REPLACEMENT CAPS**

- Pipettes or pipette tips (optional) to deliver the volumes specified on the patient or control order screen.
- For information on materials required for maintenance procedures, refer to the ARCHITECT System Operations Manual, Section 9.

Assay Procedure

- Before loading the ARCHITECT Anti-HBc IgM Reagent Kit on the system for the first time, the microparticle bottle requires mixing to resuspend microparticles that may have settled during shipment.
 - **Invert the microparticle bottle 30 times.**

- Visually inspect the bottle to ensure microparticles are resuspended. If microparticles are still adhered to the bottle, continue to invert the bottle until the microparticles have been completely resuspended.
- **If the microparticles do not resuspend, DO NOT USE. Contact your ABBOTT representative.**
- Once the microparticles have been resuspended, remove and discard the cap. Wearing clean gloves, remove a septum from the bag.
- Squeeze the septum in half to confirm that the slits are open. Carefully snap the septum onto the top of the bottle.
- Order calibration, if necessary.
- For information on ordering calibrations, refer to the ARCHITECT System Operations Manual, Section 6.
- Order tests.
 - For information on ordering patient specimens, calibrators, and controls and for general operating procedures, refer to the ARCHITECT System Operations Manual, Section 5.
- Load the ARCHITECT Anti-HBc IgM Reagent Kit on the ARCHITECT i System. Verify that all necessary reagents are present. Ensure that septums are present on all reagent bottles.
- The minimum sample cup volume is calculated by the system and is printed on the Orderlist report. No more than 10 replicates may be sampled from the same sample cup. To minimize the effects of evaporations verify adequate cup volume is present prior to running the test.
 - Priority: 64 μ L for the first Anti-HBc IgM test plus 14 μ L for each additional Anti-HBc IgM test from the same sample cup.
 - ≤ 3 hours onboard: 150 μ L for the first Anti-HBc IgM test plus 14 μ L for each additional Anti-HBc IgM test from the same sample cup.
 - > 3 hours onboard: additional sample volume is required. Refer to the ARCHITECT System Operations Manual, Section 5, for information on sample evaporation and volumes.
 - If using primary or aliquot tubes, use the sample gauge to ensure sufficient patient specimen is present.
- Prepare Calibrators and Controls.
 - Make sure the ARCHITECT Anti-HBc IgM Calibrators and Controls are completely thawed before mixing. Allow sufficient time for thawing.
 - ARCHITECT Anti-HBc IgM Calibrators and Controls should be mixed THOROUGHLY by low speed vortex or inversion prior to use.
 - To obtain the recommended volume requirements for the ARCHITECT Anti-HBc IgM Calibrators and Controls, hold the bottles vertically and dispense 5 drops of each calibrator or 5 drops of each control into each respective sample cup.
- Load samples.
 - For information on loading samples, refer to the ARCHITECT System Operations Manual, Section 5.
- Press RUN. The ARCHITECT i System performs the following functions:
 - Moves the sample to the aspiration point.
 - Loads a reaction vessel (RV) into the process path.
 - Aspirates and transfers an aliquot of the sample into the RV.
 - Moves the RV one position and adds ARCHITECT i Wash Buffer to dilute the sample.
 - Aspirates microparticles and an aliquot of the diluted sample and transfers it to a new RV.
 - Mixes, incubates, and washes the reaction mixture.
 - Adds conjugate to the RV.
 - Mixes, incubates, and washes the reaction mixture.
 - Adds Pre-Trigger and Trigger Solutions.
 - Measures chemiluminescent emission to detect the presence of anti-HBc IgM in the sample.
 - Aspirates contents of RV to liquid waste and unloads RV to solid waste.
 - Calculates the result.
- For optimal performance, it is important to follow the routine maintenance procedures defined in the ARCHITECT System Operations Manual, Section 9. If your Laboratory requires more frequent maintenance, follow those procedures.

NOTE: The ARCHITECT Anti-HBc IgM assay performs a sample predilution, and therefore requires two RVs per test.

Specimen Dilution Procedures

Specimens cannot be diluted for the ARCHITECT Anti-HBc IgM assay.

Calibration

- To perform an ARCHITECT Anti-HBc IgM calibration, test Calibrators 1 and 2 in replicates of three. A single sample of all levels of ARCHITECT Anti-HBc IgM Controls must be tested to evaluate the assay calibration. Ensure that assay control values are within the ranges specified in the control package insert. Calibrators should be priority loaded.
- Once an ARCHITECT Anti-HBc IgM calibration is accepted and stored, all subsequent samples may be tested without further calibration unless one or more of the following occur:
 - A reagent kit with a new lot number is used.
 - Controls are out of range.
- For detailed information on how to perform an assay calibration, refer to the ARCHITECT System Operations Manual, Section 6.

QUALITY CONTROL PROCEDURES

The recommended control requirement for the ARCHITECT Anti-HBc IgM assay is that a single sample of both controls be tested once every 24 hours each day of use for each reagent lot. If the quality control procedures in your laboratory require more frequent use of controls to verify test results, follow your laboratory-specific procedures. The ARCHITECT Anti-HBc IgM Control values must be within the acceptable ranges specified in the control package insert. If a control is out of its specified range, the associated test results are invalid and must be retested. Recalibration may be indicated.

Verification of Assay Claims

For protocols to verify package insert claims, refer to the ARCHITECT System Operations Manual, Appendix B. The ARCHITECT Anti-HBc IgM assay belongs to method group 5.

RESULTS

Calculation

The ARCHITECT i System calculates the cutoff rate (CO) from the mean RLU of three replicates for Calibrator 1 and Calibrator 2 and stores the results.

Cutoff RLU = [(Calibrator 2 mean RLU – Calibrator 1 mean RLU) x 0.75] + Calibrator 1 mean RLU
The cutoff RLU is stored for each reagent lot calibration. The ARCHITECT i System calculates a result based on the ratio of the sample RLU(s) to the cutoff RLU for each specimen and control.
S/CO = sample RLU/cutoff RLU

Example: If the Specimen RLU = 25,000
and the CO = 19,500
25,000/19,500 = 1.28
S/CO = 1.28

The ARCHITECT Anti-HBc IgM Calibrator 2 has been referenced against the Paul-Ehrlich-Institut, Langen, Germany, HBc Reference serum IgM 84 (IgM anti-HBc). For details, refer to the ARCHITECT Anti-HBc IgM Calibrator Kit (6C33-01) package insert.

Interpretation of Results

- Specimens with S/CO values < 1.00 are considered nonreactive by the ARCHITECT Anti-HBc IgM assay.
- Specimens with S/CO values ≥ 1.00 are considered reactive by the ARCHITECT Anti-HBc IgM assay.

NOTE: For details on configuring the ARCHITECT i System to use grayzone interpretations, refer to the ARCHITECT System Operations Manual, Section 2, Subsection Assay Settings. Configure assay parameters dialog window-Interpretation.

Flags

- Some results may contain information in the Flags field. For a description of the flags that may appear in this field, refer to the ARCHITECT System Operations Manual, Section 5.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- If the anti-HBc IgM results are inconsistent with clinical evidence, additional testing is suggested to confirm the result.
- For diagnostic purposes, results should be used in conjunction with patient history and other hepatitis markers for diagnosis of acute or chronic infection.
- Specimens that have been frozen and thawed and specimens containing red blood cells, clots, or particulates matter must be centrifuged prior to running the assay.
- Performance has not been established using cadaver specimens or body fluids other than human serum or plasma.
- Do not use heat-inactivated specimens.
- Do not use grossly hemolyzed specimens.
- Specimens with obvious microbial contamination should not be used.
- Specimens from heparinized patients may be partially coagulated and erroneous results could occur due to the presence of fibrin. To prevent this phenomenon, draw the specimen prior to heparin therapy.
- Specimens from patients with high levels of IgM, e.g. specimens from patients with multiple myeloma, may show depressed values when tested with assay kits that use reagents containing anti-human IgM.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Precision
The precision of ARCHITECT Anti-HBc IgM was determined during the clinical evaluation using a panel consisting of one nonreactive member, three diluted anti-HBc IgM reactive members, controls, and calibrators. Two sites tested two different lots of the controls and calibrators across two reagent lots (four combinations), and one site tested three different lots of controls and calibrators across three reagent lots (nine combinations). All members were tested in triplicate in four runs for two or four days. The intra-run and inter-run standard deviations (SD) and percent coefficient of variation (%CV) were analyzed with a variance components analysis²³ using a mixed analysis of variance model.²⁴ Data are summarized in Table 1.

TABLE 1

Panel Member	ARCHITECT Anti-HBc IgM Reproducibility, Three Sites, Three Lots				
	Total n	Mean S/CO	Intra-run SD	Inter-run ^a SD	%CV
Calibrator 1 ^b	518	0.03	0.004	13.24	0.004
Calibrator 2 ^b	518	1.33	0.099	4.45	0.059
Negative Control ^c	518	0.03	0.003	11.40	0.003
Positive Control ^c	518	9.23	0.124	3.84	0.133
Panel 1	204	0.03	0.003	12.48	0.004
Panel 2	204	0.47	0.020	4.19	0.032
Panel 3	204	0.93	0.033	3.69	0.041
Panel 4	204	7.91	0.249	3.15	0.372

CV = coefficient of variation. n = sample size, S/CO = sample to cutoff, SD = standard deviation
^a Inter-run variability contains intra-run variability.
^b The results for Calibrator 1 and Calibrator 2 include three separate lots combined for each calibrator.
^c The results for the negative and positive controls include three separate lots combined for each control.

Specificity

A total of 1634 random blood donor and hospitalized patient specimens was tested at three clinical sites. None of the 1634 specimens were reactive by ARCHITECT Anti-HBc IgM. The specificity of ARCHITECT Anti-HBc IgM in this population was 100.00% (1631/1631) with a 95% confidence interval of 99.77-100.00%. The data are summarized in Table 2.

TABLE 2
Specificity Results Using Random Blood Donors and Hospitalized Patients

Population	Number n	Reactive n	%
Random Blood Donors	1139 ^{a,b}	0	0.00
Hospitalized Patients	495 ^b	0	0.00
Total	1634 ^b	0	0.00

^a Included 560 plasma and 576 serum specimens.
^b Six specimens (four random blood donors, two hospitalized patients) were grayzone reactive by ARCHITECT Anti-HBc IgM if a 0.50 to 0.99 S/CO grayzone range was applied. Three of these specimens were ARCHITECT Anti-HBc (total antibody) reactive (one random blood donor, two hospitalized patients). These three specimens were excluded from the specificity calculation due to the presence of total Anti-HBc antibodies. For the remaining three specimens no other HBV serological markers were detected.

A total of 161 specimens from individuals with potentially interfering substances and other conditions (CMV-IgM, EBV-IgM, HCV, HIV-1, HSV-IgM, HAV total antibody, HAV-IgM, rubella, HBV vaccine recipients, total Anti-HBc high reactive, toxoplasmosis, syphilis, urinary tract infections, rheumatoid factor, antinuclear autoantibodies [ANA], alcoholic cirrhosis, pregnant females [first and second trimester], multiple myeloma [IgM], multiparous females, dialysis patients, other liver disease) were tested by ARCHITECT Anti-HBc IgM. Seventy five specimens from individuals with high risk of blood transmissible infections (Intravenous drug users [IVDU], men who have sex with men [MSM], hemophiliacs) were tested by ARCHITECT Anti-HBc IgM.

A population of 80 specimens from patients diagnosed with chronic hepatitis B was tested by ARCHITECT Anti-HBc IgM. Eight specimens (10.00%) were reactive by ARCHITECT Anti-HBc IgM. All eight were also reactive by AxSYM CORE-MTM. A total of nine specimens were reactive by AxSYM CORE-MTM. The data for these three populations are summarized in Table 3.

TABLE 3
Potentially Interfering Substances or Other Conditions, High Risk of Blood Transmissible Infections, and Chronic HBV Infection Specimens

Population	Number n	Reactive n	%
Potentially Interfering Substances or Other Conditions	161 ^a	1 ^b	0.62
High Risk of Blood Transmissible Infections	75 ^c	1 ^d	1.33
Chronic HBV Infection	80 ^e	8	10.00

^a Two specimens (one HCV, one toxoplasmosis) were grayzone reactive if a 0.50 to 0.99 S/CO grayzone range was applied. Both were reactive by ARCHITECT Anti-HBc (total antibody) and nonreactive by ARCHITECT HBsAg.
^b One specimen (dialysis patient) was reactive by ARCHITECT Anti-HBc and nonreactive by ARCHITECT HBsAg.
^c Two specimens (IVDU) were grayzone reactive if a 0.50 to 0.99 S/CO grayzone range was applied. Both were reactive by ARCHITECT Anti-HBc and nonreactive by ARCHITECT HBsAg.
^d One specimen (MSM) was reactive by ARCHITECT HBsAg and ARCHITECT Anti-HBc.
^e Six additional specimens were grayzone reactive if a 0.50 to 0.99 S/CO grayzone range was applied. The same additional number of specimens was grayzone reactive by AxSYM CORE-M.

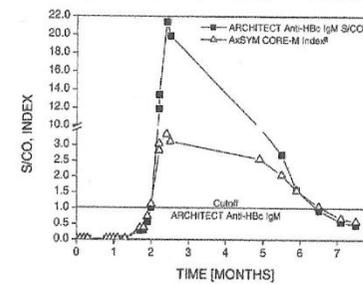
Sensitivity

In a total of 212 specimens from patients with acute hepatitis B, all were reactive by ARCHITECT Anti-HBc IgM. The sensitivity was 100.00% (212/212) with a 95% confidence interval of 98.28-100.00%.

NOTE: Four additional specimens, initially classified as acute HBV specimens, were excluded from the sensitivity calculation. Of these, three specimens were concordantly nonreactive by ARCHITECT Anti-HBc IgM and AxSYM CORE-M. The fourth specimen was nonreactive by ARCHITECT HBsAg.

The sensitivity of ARCHITECT Anti-HBc IgM is set so that a reactive result (≥ 1.00 S/CO) implies acute or recent hepatitis B infection. An example of a serial bleed panel for a hepatitis B patient is shown in Figure 1.

FIGURE 1
Example of a Serial Bleed from a Hepatitis B Patient



^a AxSYM CORE-M grayzone range: 0.80 to 1.20 Index.

Comparison to a Commercially Available Anti-HBc IgM Assay

A total of 2162 specimens (random blood donors, hospitalized patients, potentially interfering substances or other conditions, high risk of blood transmissible infections, acute HBV infection, and chronic HBV infection) were tested by ARCHITECT Anti-HBc IgM and AxSYM CORE-M. The agreement between the two methods was 99.54% (2152/2162). The data are summarized in Table 4.

TABLE 4
Comparison of ARCHITECT Anti-HBc IgM with AxSYM CORE-M

AxSYM CORE-M	ARCHITECT Anti-HBc IgM	
	Reactive	Nonreactive ^a
Reactive	212	0
Grayzone Reactive	8	7 ^b
Nonreactive	3	1632 ^c

^a Includes grayzone results (range 0.50 to 0.99 S/CO).
^b Five were grayzone by ARCHITECT Anti-HBc IgM.
^c Eleven were grayzone by ARCHITECT Anti-HBc IgM.

BIBLIOGRAPHY

- Lindsay KL, Nizze JA, Koretz R, et al. Diagnostic usefulness of testing for anti-HBc IgM in acute hepatitis B. *Hepato* 1986;6:1325-6.
- Chau KH, Hargie MP, Decker RH, et al. Serodiagnosis of recent hepatitis B infection by IgM class anti-HBc. *Hepato* 1993;3:142-9.
- Wang AX, Coulter AG, Hui Z, et al. Immunoglobulin M antibodies against hepatitis B core antigen in patients with chronic hepatitis B infection. *Pathol* 1984;16:33-5.
- Eble K, Clemens J, Kranc C, et al. Differential diagnosis of acute viral hepatitis using rapid, fully automated immunoassays. *J Med Virol* 1991;33:139-50.
- Gerlich WH, Uy A, Lambrecht F, et al. Cutoff levels of immunoglobulin M antibody against viral core antigen for differentiation of acute, chronic, and past hepatitis B virus infections. *J Clin Microbiol* 1986;24:288-93.
- Decker RH. Diagnosis. In: Zuckerman AJ, Thomas HC, eds. *Viral hepatitis - Scientific basis and clinical management*. New York: Churchill Livingstone, 1993:165-84.
- Hollinger FB. Hepatitis B Virus. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, et al, eds. *Fields virology*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996:2752-7.
- Martin P, Friedman LS, Dienstag JL. Diagnostic Approach. In: Zuckerman AJ, Thomas HC, eds. *Viral hepatitis - Scientific basis and clinical management*. New York: Churchill Livingstone, 1993:389-408.
- Papaevangelou G, Roumeliotou-Karayannis A, Tassopoulos N, et al. Diagnostic value of anti-HBc IgM in high HBV prevalence areas. *J Med Virol* 1984;13:339-399.

- Gerlich WH, Lürer W, Thomassen R, et al. Diagnosis of acute and inapparent hepatitis B virus infections by measurement of IgM antibody to hepatitis B core antigen. *J Infect Dis* 1980;142:95-101.
- Colloredo G, Bellati G, Leandro G, et al. Quantitative analysis of IgM anti-HBc in chronic hepatitis B patients using a new "grayzone" for the evaluation of "borderline" values. *J Hepato* 1996;25:644-8.
- Bänninger P, Altorf J, Frösner GG, et al. Prevalence and significance of anti-HBc IgM (radioimmunoassay) in acute and chronic hepatitis B and in blood donors. *Hepato* 1983;3:337-42.
- Mels GC, Bellati G, Leandro G, et al. Fluctuations in viremia, aminotransferases and IgM antibody to hepatitis B core antigen in chronic hepatitis B patients with disease exacerbations. *Liver* 1994;14:175-81.
- Kiyosawa K, Sudojama T, Franco STM, et al. Serial assay for IgM anti-HBc in patients with anti-HBc-positive chronic hepatitis and its significance for long-term prognosis. *J Med Virol* 1988;24:241-50.
- Mariyama T, Schödel F, Iino S, et al. Distinguishing between acute and symptomatic chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterol* 1994;106:1006-15.
- Tassopoulos NC, Papatheodoridis GV, Kalantzakis Y, et al. Differential diagnosis of acute HBsAg positive hepatitis using IgM anti-HBc by a rapid, fully automated microparticle enzyme immunoassay. *J Hepato* 1997;26:1-6.
- US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29 CFR Part 1910.1030. Occupational exposure to bloodborne pathogens; final rule. *Federal Register* 1991;56(235):64175-82.
- US Department of Health and Human Services. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. HHS Publication No. (CDC)93-8395. Washington, DC: US Government Printing Office, May 1999.
- World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*. Geneva: World Health Organization, 1993.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Second Edition*. NCCLS document M29-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2001.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Clinical Laboratory Waste Management; Approved Guideline - Second Edition*. NCCLS Document GP5-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002;22(3):1-23, 32-44.
- US Environmental Protection Agency. *EPA Guide for Infectious Waste Management*. Publication No. EPA/530-SW-86-014. Washington, DC: US Environmental Protection Agency, 1986:1-1-5-5, R1-R3, A1-A24.
- Box GEP, Hunter WG, Hunter JS. *Statistics for experimenters; an introduction to design, data analysis, and model building*. New York: John Wiley & Sons, Inc, 1978: 510-539, 571-583.
- SAS Institute, Inc. SAS[®] Technical Report P-229, SAS/STAT[®] Software: Changes and enhancements, Release 5.07. Cary, NC: SAS Institute, 1992:289-366.

The following U.S. Patents are relevant to the ARCHITECT / System or its components. There are other such patents and patent applications in the United States and worldwide.
 5,468,846 5,543,524 5,545,739 5,565,570 5,669,819 5,783,699
 ARCHITECT and Chemiflex are registered trademarks of Abbott Laboratories.
 AxSYM CORE-M is a trademark of Abbott Laboratories.
 SAS and SAS/STAT are registered trademarks of SAS Institute, Inc.

Anexo C – Teste Anti-HBs

Doc.: INS SAB.CE/port Pag 1 de 8 Rev.: 4 Data: 07/2013

HBsAb

**Imunoensaio Enzimático para
determinação qualitativa/quantitativa de
anticorpos para Antígeno de superfície
da Hepatite B
em soro e plasma humano**

- somente para uso diagnóstico "in vitro" -



DIA.PRO

Diagnostic Bioprobes Srl
Via G. Carducci n° 27
20099 Sesto San Giovanni
Milano - Italy

Phone +39 02 27007161
Fax +39 02 26007726
e-mail: info@diapro.it

REF SAB.CE
96 Tests

Doc.: INS SAB.CE/port Pag 2 de 8 Rev.: 4 Data: 07/2013

HBs Ab

A. INTENÇÃO DE USO

Imunoensaio Enzimático (ELISA) para determinação qualitativa e quantitativa de anticorpos para Antígeno de superfície de Hepatite B em soro e plasma humano. Apenas para Diagnóstico "in vitro".

B. INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define a infecção pelo Vírus da Hepatite B da seguinte forma:

"A Hepatite B é uma das principais doenças da humanidade e constitui um grave problema de saúde pública global. Hepatite significa inflamação do fígado, sendo a causa mais comum a infecção por um dos 6 vírus, designados por hepatite A, B, C, D e E. Todos estes vírus podem causar uma doença aguda com sintomas que podem durar várias semanas, incluindo o amarelecimento da pele e dos olhos (icterícia); urina escura; fadiga extrema; náusea, vômitos e dor abdominal. O indivíduo pode demorar diversos meses a um ano a senti-se novamente em forma. O vírus da Hepatite B pode causar infecção crónica; neste caso o paciente não consegue curar-se do vírus, desenvolvendo, ao fim de alguns anos, cirrose ou cancro do fígado.

O HBV é o tipo mais grave de hepatite viral e o único tipo causador de hepatite crónica para o qual existe uma vacina. O vírus da Hepatite B é transmitido pelo contacto com o sangue ou com os fluidos corporais de uma pessoa infectada, à semelhança do vírus da imunodeficiência humana (HIV) causador da AIDS. Contudo, o HBV é entre 50 a 100 vezes mais infeccioso do que o HIV. As principais formas de se contrair uma infecção por HBV são: (a) transmissão "Peri natal" (da mãe para o bebé); (b) transmissão de criança para criança; (c) injeções e transfusões não seguras; (d) contacto sexual.

Em todo o mundo, a maioria das infecções verifica-se através da transmissão do vírus da mãe para o recém nascido, de criança para criança num contexto doméstico e como consequência da reutilização de agulhas e seringas não esterilizadas. Em muitos países em desenvolvimento, quase todas as crianças acabam sendo infectadas com o vírus. Em muitos países industrializados (como, por exemplo, a Europa ocidental e a América do Norte), o padrão de transmissão é diferente. Nestes países, a transmissão mãe-filho ou criança-criança representava apenas um terço das infecções crónicas antes da implementação de programas de vacinação infantil contra a hepatite B. No entanto, a maioria das infecções nestes países é contraiada na juventude devido à uma atividade sexual não protegida e ao uso de drogas injetáveis. Além disso, o vírus da Hepatite B é também a mais grave doença profissional dos profissionais de saúde e por isso a maior parte deles está vacinada contra a Hepatite B.

O vírus da Hepatite B não se difunde através de alimentos ou de água contaminada e não se transmite casualmente no local de trabalho. Verificam-se igualmente altas taxas de infecção crónica por HBV no sul da Europa Central e de Leste. No Oriente Médio e no sub continente Indiano, cerca de 8% da população está cronicamente infectada. A infecção é menos comum na Europa ocidental e na América do Norte, onde menos de 1% da população sofre de infecção crónica.

As crianças que estão infectadas pelo HBV são as que têm mais probabilidades de virem a desenvolver uma infecção crónica. Cerca de 90% dos recém-nascidos infectados durante o primeiro ano de vida e 30% a 50% das crianças infectadas entre 1 e 4 anos de idade desenvolvem uma infecção crónica. O risco de morte por cirrose ou cancro no fígado associado ao HBV é de cerca 28% entre os indivíduos cronicamente infectados na infância.

A Hepatite B crónica é tratada, em alguns pacientes, com fármacos designados por *Interferon* ou *Interferon*. Os pacientes com cirrose são, por vezes, submetidos a transplantes de fígado, com uma taxa

de êxito variável. É preferível prevenir esta doença através da vacinação do que tentar a cura.

A vacina contra a Hepatite B possui um Recorde notável de segurança e eficácia. Desde 1982, já se utilizou mais de um bilhão de doses da vacina contra a Hepatite B em todo o mundo. A vacina é administrada numa série de três doses intramusculares. Estudos revelaram que a vacina é 85% eficaz na prevenção do desenvolvimento de uma infecção crónica em crianças e adultos, desde que estes ainda não tenham sido infectados. Em muitos países onde 8% a 15% das crianças costumavam ficar cronicamente infectadas com o HBV, a taxa de infecção crónica foi reduzida para menos de 1% nos grupos de crianças imunizadas. Desde 1991, a OMS tem apelado a todos os países que adicionem a vacina contra a Hepatite B aos respectivos programas nacionais de imunização."

O Antígeno de superfície da Hepatite B (HBsAg) é o principal polipeptídeo estrutural do Invólucro do vírus da Hepatite B (HBV). Este antígeno é composto principalmente pelo tipo determinante comum "a" e pelos tipos determinantes específicos "d" e "y", apenas presentes nos sorotipos específicos.

Após a infecção, uma forte resposta imunológica desenvolve-se primeiro contra o tipo determinante específico a, na segunda fase, também contra o determinante "a". Os Anticorpos Anti "a" são reconhecidos como sendo eficazes na neutralização do vírus, protegendo o paciente contra outras infecções e levando-o à convalescença.

A detecção de HBsAb tornou-se importante para o seguimento dos pacientes infectados com HBV e para a monitorização dos vacinados com HBsAg sintético e natural.

C. PRINCÍPIO DO TESTE

As Microplacas são revestidas com uma preparação de HBsAg altamente purificada que, na primeira incubação com a Amostra, captura especificamente os anticorpos anti HBsAg na fase sólida. Após a lavagem, os anticorpos capturados são detectados por um HBsAg, marcado com peroxidase (HRP), que se liga especificamente ao Segundo local de ligação disponível destes anticorpos.

A enzima especificamente ligada aos poços, agindo no complexo substrato/cromógeno, gera um sinal óptico proporcional à quantidade de HBsAb presente na amostra e que pode ser detectado por um leitor ELISA.

A quantidade de anticorpos pode ser determinada por meio de uma curva padrão calibrada de acordo com uma preparação de referência da OMS.

As amostras são pré-tratadas no poço com um diluente de amostras capaz de bloquear a interferência presente nos pacientes vacinados.

D. COMPONENTES

O kit contém reagentes suficientes para 96 testes.

1. Microplaca: MICROPLATE

8x12 tiras de micropoços revestidos com HBsAg de ambos os subtipos (ad e ay) purificados e inativados pelo calor, de origem humana, e seladas em uma embalagem dessecante. Deixe que a microplaca atinja a temperatura ambiente antes de abrir; selo novamente as tiras não utilizadas na embalagem com dessecante e conserve a 4°C.

2. Curva Calibração: CAL N.º ...

5x2,0 ml/frasco. Curva padrão colorida e pronta para uso, derivada de plasma positivo de HBsAb titulada com padrão WHO para anti HBsAg (1ª preparação referência 1977, lote 17-2-77), no intervalo: CAL1 = 0 mIU/ml // CAL2 = 10 mIU/ml // CAL3 = 50 mIU/ml // CAL4 = 100 mIU/ml // CAL 5 = 250 mIU/ml. Contém proteínas de soro humano, 8% BSA, 10 mM Tampão fosfato pH 7,4/-0,1, 0,09% azida de sódio e 0,1% Kathon GC como conservante. Os padrões são de coloração azul.

3. **Tampão de lavagem concentrado:** **WASHBUF 20X**
1x80ml/frasco. Solução concentrada 20x.
Uma vez diluída, a solução de lavagem contém 10 mM Tampão Tris pH 7,0 +/- 0,2, 0,05% Tween 20 e 0,1% Kathon GC.

4. **Conjugado Enzimático:** **CONJ**
1x16,0 ml/frasco. Solução pronta para uso e de coloração vermelha. Contém HBsAg purificado e inativado de ambos os subtipos ad e ay, marcado com HRP, 5% BSA, 10 mM Tampão Tris pH 6,8 +/- 0,1, 0,3 mg/ml sulfato de gentamicina e 0,1% Kathon GC como conservante.

5. **Cromógeno/Substrato:** **SUBS TMB**
1x10ml/frasco. Contém 80 mM de solução tamponada citrato-fosfato pH 3,5-3,8, 4% dimetilsulfóxido, 0,03% tetra-metil-benzidina (TMB) e 0,02% peróxido de hidrogênio (H₂O₂).
Nota: Conservar fora do abrigo da luz, devido a sua fotossensibilidade.

6. **Ácido Sulfúrico:** **H2SO4 0,3 M**
1x15ml/frasco. Contém uma solução de 0,3 M H₂SO₄.
Atenção: Irritante (Xi R36/38; S2/26/30)

7. **Dilúente de amostra:** **DILSPR**
1x8ml. 10 mM solução tampão Tris pH 7,4 +/- 0,1. Sugere-se usar para monitoramento de vacinas. Contém 0,09% de azida de sódio como conservante.

8. **Soro Controle:** **CONTROL ...ml**
1 frasco. Liofilizado.
Contém proteína de soro bovino fetal, Anticorpos humanos anti HBsAg calibrados com 50 ± 10% WHO mIU/ml. 0,3 mg/ml sulfato de gentamicina e 0,1% Kathon GC como conservante.

9. **Adesivo para selagem:** n° 2

10. **Instrução de Uso:** n° 1

E. MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS.

1. Microplacas calibradas (100ul e 50ul) e ponteiros plásticos descartáveis.
2. Água grau I EIA (duplo destilado ou deionizado, tratado com carvão para remover oxidação química usadas em desinfetantes).
3. Timer com 60 minutos ou mais.
4. Papel absorvente.
5. Incubadora termostática microplaca calibrada para ELISA (seca ou úmida) regulada em +37°C.
6. Leitor microplaca calibrado para ELISA com 450nm (leitura) e se possível com filtros (em branco) 620-630nm.
7. Lavadora de microplaca calibrado para ELISA.
8. Vórtex ou ferramenta similar de mistura.

F. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

1. O kit só deve ser utilizado por pessoal técnico especializado e devidamente treinado, sob a supervisão de um médico responsável do laboratório.
2. Todo o pessoal envolvido na execução do ensaio deve usar vestuário de proteção, luvas sem tato e óculos. Evite a utilização de material pontiagudo (agulhas) ou cortante (lâminas). Todo o pessoal envolvido deve receber formação em procedimentos de biosegurança, conforme recomendado pelo Centro para o Controle de Doenças, Atlanta, EUA, e indicado na publicação do Instituto Nacional de Saúde: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed. 1984.
3. Todo o pessoal envolvido no manuseio de amostras deve estar vacinado contra o HBV e HAV, agentes para os quais existe uma vacina segura e eficaz.
4. O ambiente do laboratório deve estar controlado para evitar toda e qualquer contaminação causada pelo pó ou por micróbios transportados pelo ar quando ocorrer a de abertura dos frascos e das microplacas para a execução do ensaio. Mantenha o

Cromógeno (TMB) ao abrigo da luz forte e evite vibrações na bancada de trabalho quando ocorrer à execução do ensaio.

5. Quando ao recipiente, conserve o kit no refrigerador ou em uma câmara fria à temperatura controlada de 2-8°C.
6. Não utilize componentes de lotes diferentes. Recomendamos que não utilize componentes de dois kits do mesmo lote.
7. Certifique-se de que os reagentes estão limpios e não contêm partículas ou agregados pesados e visíveis. Caso contrário, alerte o supervisor do laboratório de forma a iniciar os procedimentos necessários para a substituição do kit.
8. Evite contaminações cruzadas entre amostras de soroplasma utilizando ponteiros descartáveis e mudando-as depois de cada utilização.
9. Evite contaminações cruzadas entre os reagentes do kit utilizando ponteiros descartáveis e mudando-as entre cada utilização.
10. Não utilize o kit após o prazo de validade indicado na embalagem externa e nos rótulos internos (frascos). Um estudo conduzido em um kit aberto não evidenciou perdas de realidade relevantes até 6 reutilizações do dispositivo no espaço de 6 meses.
11. Trate todas as amostras de origem humana como potencialmente infecciosas. Todas as amostras de soro humano devem ser manuseadas no Nível 2 de Bio-Segurança, conforme recomendado pelo Centro para o Controle de Doenças, Atlanta, EUA, de acordo com as indicações da publicação do Instituto de Saúde: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed. 1984.
12. Recomendamos a utilização de materiais de plástico descartáveis na preparação dos componentes líquidos ou na transferência dos componentes para estações de trabalho automáticas, para evitar contaminações cruzadas.
13. Os desperdícios produzidos durante o uso do kit devem ser eliminados de acordo com as normas nacionais relativas à eliminação de substâncias químicas e biológicas. De referir, em particular, os desperdícios líquidos gerados pelos procedimentos de lavagem e os resíduos dos controles e das amostras, os quais devem ser tratados como materiais potencialmente infecciosos e, logo, inativados antes de serem eliminados. Sugere-se, como processos de inativação, o tratamento com uma solução de hipoclorito com uma concentração final de 10% durante 16-18 horas ou a inativação pelo calor, por autoclave, a 121°C durante 20 minutos.
14. Eventuais derrames acidentais das amostras durante as operações devem ser limpos com papel absorvente embebido em hipoclorito, depois, com água. O papel utilizado deve, depois, ser depositado em recipientes próprios para resíduos laboratoriais/hospitalares.
15. A solução de paragem é irritante. Em caso de derrames, lave a superfície com uma quantidade abundante de água.
16. Os restantes desperdícios gerados pela utilização do kit (exemplo: as pontas utilizadas para as amostras e os controles, as microplacas usadas, etc.) devem ser manuseados como sendo potencialmente infecciosos e eliminados segundo as diretrizes nacionais e a legislação em vigor relativa à eliminação de resíduos laboratoriais.

G. AMOSTRAS: PREPARAÇÕES E RECOMENDAÇÕES

1. Sangue é coletado asepticamente por perfuração venal e plasma ou soro é preparado utilizando as técnicas padrão de preparação de amostras para análise laboratorial clínica. Nenhuma influência tem sido observada na preparação da amostra com citrato, EDTA e heparina.
2. As amostras devem ser claramente identificadas com códigos ou nomes a fim evitar a má interpretação dos resultados. Etiquetar com código de barras e leitura eletrônica são recomendadas.
3. Amostras hemolizadas (avermelhadas) e visualmente hiperlipêmicas ("leitosas") devem ser descartadas, pois podem gerar falsos resultados. Amostras contendo resíduos de fibrinas ou partículas pesadas ou filamentos e corpos de microorganismos deveriam ser descartadas, pois podem gerar um resultado falso.
4. Soro e plasma podem ser estocados de +2° a 8°C por até cinco dias depois da coleta. Para longos períodos de estocagem, amostras podem ser estocadas congeladas a -20°C por muitos meses. Qualquer amostra congelada não deve ser congelada / descongelada mais de uma vez, pois, isso pode produzir partículas que poderiam afetar o resultado do teste.

5. Se há partículas presentes, centrifugue a 2000 rpm por 20 minutos ou filtre usando filtro 0,2-0,8µ para limpar a amostra para teste.

6. As amostras cuja concentração de anticorpos anti-HBsAg é superior a 250 mIU/ml devem ser diluídas antes da utilização a uma proporção de 1:10 ou 1:100 no Calibrador 0 mIU/ml. As diluições devem ser feitas em provetas limpas e descartáveis, diluindo 50 ul de cada amostra com 450 ul do Cal 0 (1:10). Depois 50 ul da diluição 1:10 são diluídos com 450 ul do Cal 0 (1:100). Misture bem o conteúdo das provetas em Vórtex quando preparar amostras diluídas.

H. PREPARAÇÃO DOS COMPONENTES E PRECAUÇÕES

1. Microplaca:

Deixe que as microplacas atinjam a temperatura ambiente (cerca de 1 hora) antes de abrir o kit. Verifique se o dessecante não mudou para verde escuro, indicando um defeito na estocagem. Neste caso, ligue para serviço de atendimento ao cliente da Dia.Pro. Tiras não-utilizadas devem ser colocadas de volta na bolsa de alumínio, com o secante fornecido, devidamente vedado e estocado a +2°- 8°C. Quando aberto pela primeira vez, as tiras são estáveis até o indicador de umidade do dessecante mudar de amarelo para verde.

2. Curva de Calibração

Pronto para uso. Agitar cuidadosamente em vórtex antes do uso.

3. Soro Controle

Adicionar o volume de água grau I EIA conforme reportado na etiqueta no pó liofilizado. Deve ser dissolvida e misturada cuidadosamente em vórtex.
Nota: O controle após dissolvido não é estável. Armazenar congelado em alíquotas a -20°C.

4. Tampão de lavagem concentrado:

Todo o conteúdo da solução concentrada deve ser diluído 20x em água bi-destilada e delicadamente misturado em vórtex antes da utilização. Durante a preparação, evite a formação de bolhas de ar que podem afetar a eficiência durante o ciclo de lavagem.

Nota: Uma vez diluída, a solução de lavagem é estável por uma semana a +2..8° C.

5. Conjugado Enzimático:

Pronto para uso. Agitar em vórtex antes do uso. Evite toda e qualquer contaminação do líquido com agentes químicos oxidantes, pó ou micróbios. Caso este componente tenha de ser transferido, utilize apenas recipientes de plástico descartáveis e, se possível, esterilizados.

6. Dilúente de Amostra:

Pronto para uso. Agitar cuidadosamente em vórtex antes do uso.

7. Cromógeno/Substrato:

Pronto para uso. Misture com vórtex antes do uso. Evite contaminação do líquido por oxidação química, poeira no ar ou micróbios. Não exponha a luz forte, agente oxidante e superfícies metálicas. Se este componente for transferido use apenas plástico, e se possível, um recipiente estéril e descartável.

8. Ácido Sulfúrico:

Pronto para uso. Misture no vórtex antes do uso. **Atenção:** Irritante (Xi R36/38; S2/26/30)
Legenda: R 36/38 = irritante aos olhos e à pele. S 2/26/30 = em caso de contato com os olhos, lave imediatamente com bastante água e procure um médico.

I. ACESSÓRIOS E EQUIPAMENTOS USADOS EM COMBINAÇÃO COM O KIT

1. Microplacas devem estar calibradas para dispensar o volume correto requisitado pelo teste e deve ser submetido à descontaminação regular (70% etanol, 10% hipoclorito de sódio, desinfetante hospitalar) de todas as partes que podem entrar em contato com a amostra. Eles também devem ser aferidos regularmente para apresentar a precisão de 1% e a exatidão de +2%.
2. A incubadora ELISA tem de ser preparada a +37°C (tolerância de +0,5°C) e regularmente verificada para certificar-se que temperatura correta é mantida. Tanto as incubadoras secas e banhos de água são adequados às incubações, desde que o instrumento de incubação seja validado para a incubação de testes ELISA.
3. A lavadora ELISA é extremamente importante para todo o desempenho do ensaio. A lavadora deve ser cuidadosamente validada e corretamente otimizada usando o kit controle e painel de referência, antes do uso do kit para o teste laboratorial de rotina. Normalmente, 4-5 ciclos de lavagem (aspiração + dispensação de 360ul / solução de lavagem por poço = 1 ciclo) são o suficiente para assegurar que o ensaio seja como esperado. É sugerido um período de 20-30 segundos de espera entre os ciclos. Para que se possa ajustar correlatamente seu número, é recomendado que se proceda um ensaio com o kit controle e poço caracterizado para amostras de referência negativas e positivas, e verificar as relações de valores relatados abaixo na seção "Validação do teste e Desempenho do ensaio". Calibrações regulares dos volumes dispensados e manutenção (descontaminação e limpeza de agulhas) das lavadoras devem ser feita de acordo com as instruções do fabricante.
4. Período de incubação tem uma tolerância de +8%.
5. O leitor de microplacas ELISA deve ser equipado com um filtro leitor de 454nm e idealmente com um segundo filtro (620-630nm) para branco. Seu desempenho padrão deve ser de: (a) bandwidth ≤ 10nm; (b) range de absorbância de 0 para ≥ 2,0; (c) linearidade de ≥ 2,0; repetibilidade ≤ 1%. O branco é colocado no poço identificado na seção "Procedimento do Ensaio". O sistema ótico do leitor deve ser calibrado regularmente para assegurar que a densidade ótica correta seja medida. Deve ser regularmente regulada de acordo com as instruções do fabricante.
6. Quando usar equipamentos automatizados ELISA, todos os passos críticos (dispensação, incubação, lavagem, leitura, manipulação dos dados) devem ser cuidadosamente seguidos, calibrados e regularmente regulados para que atendam aos valores determinados na "Validação do teste e desempenho do ensaio". O protocolo de ensaio deve ser instalado no sistema operacional da unidade e validado tanto para lavagem como para leitura. Em adição, o que se refere ao manual do líquido da estação (dispensação e lavagem) deve ser validado e corretamente seguido. Especial atenção deve ser dada para se evitar manusear agulhas usadas para dispensação e lavagem. Isso deve ser estudado e controlado para minimizar a possibilidade de contaminação de poços adjacentes. O uso de equipamentos automatizados ELISA é recomendado quando os números de amostras a serem testadas excedem 20-30 unidades de cada vez.
7. Atendimento ao cliente da Dia.Pro oferece suporte aos usuários durante a preparação e a verificação dos instrumentos usados em combinação com o kit, com o objetivo de assegurar o completo cumprimento dos requerimentos descritos. Há também suporte para a instalação de novos instrumentos para serem usados com o kit.

L. CONTROLE DE PRE ENSAIO E OPERAÇÕES

1. Verifique a data de validade do kit impressa no rótulo externo da caixa do kit. Não use se expirado.
2. Verifique se os componentes líquidos não estão contaminados por partículas visíveis ou agregados. Verifique se o Cromógeno / Substrato está incolor ou azul pálido ao aspirar o volume com uma pipeta plástica estéril. Verifique que não houve nenhuma quebra no transporte e nenhuma perda do líquido que está dentro da caixa. Verifique se a bolsa de alumínio, contendo as microplacas, não está perfurada ou danificada.

- Dilua todo o conteúdo da Solução de Lavagem concentrada 20x como descrito acima.
- Dissolva o Soro Controle como descrito acima.
- Faça com que todos os outros componentes alcancem a temperatura ambiente (cerca de 1hr) e então misture como descrito.
- Ajuste a Incubadora ELISA em +37°C e prepare a lavadora ELISA para funcionar com a solução de lavagem diluída, de acordo com as instruções do fabricante. Determine o número de ciclos como encontrado na validação de instrumentos para esse uso no kit.
- Verifique que o leitor ELISA está ligado ou se assegure que será ligado pelo menos 20 minutos antes da leitura.
- Se estiver usando um equipamento automatizado, ligue, verifique os ajustes e certifique-se de usar o protocolo de ensaio corretamente.
- Verifique se as micropipetas estão ajustadas ao volume requerido.
- Verifique se todos outros equipamentos estão disponíveis e prontos para uso.

Caso ocorra algum problema, interrompa o teste e alerte o responsável.

M. PROCEDIMENTO DE ENSAIO

O ensaio deve ser realizado como descrito abaixo, tenha cuidado para manter o mesmo tempo de incubação para todas as amostras em teste. Dois procedimentos podem ser realizados com o kit de acordo com os requisitos do operador.

M.1 Análise Quantitativa

- Coloque o número necessário de tiras no suporte das microplacas. Deixe os poços A1 e B1 vazios para a operação do branco. Coloque as restantes tiras na embalagem com dessecante e conserve-as de 2 a 8°C. Em seguida, pipete em todos os poços que utilizar no teste, à exceção do A1, 50µl do Diluente de Amostras.

Nota importante: Este aditivo deve ser adicionado antes de distribuir as amostras e os controles nos poços específicos e é particularmente indicado para bloquear algumas substâncias presentes nos indivíduos submetidos à vacinação. Pode mascarar os anticorpos.

- Pipete 100µl de todos os Calibradores, 100µl do Soro Controle em duplicata e 100µl das amostras. O Soro Controle é utilizado para garantir que todo o sistema analítico funciona conforme o esperado. Certifique-se de que os calibradores, o Soro controle e as amostras foram corretamente adicionados. Incube a microplaca a +37°C por 60 min.

Nota importante: Se as tiras com a folha adesiva fornecida apenas se o teste tiver sido realizado manualmente. Não cubra as tiras se utilizar um aparelho automático ELISA.

- Lave a microplaca conforme descrito na seção I.3.
- Pipete 100 µl de Conjugado Enzimático em todos os poços, com exceção do A1 e B1. Verifique se o reagente foi corretamente adicionado. Incube a microplaca a +37°C por 60 minutos.

Nota importante:

- Tenha cuidado para não tocar na superfície interna do poço com a ponta da pipeta ao distribuir o Conjugado Enzimático. Poderá ocorrer contaminação.
- Misture bem o Conjugado Enzimático em vórtex antes da utilização.

- Lave a microplaca como descrito.
- Pipete 100µl da mistura de TMB/H2O2 em todos os poços, incluindo os do branco. Verifique se o reagente foi corretamente adicionado. Incube a microplaca à temperatura ambiente durante 20 minutos.

Nota importante:

Mantenha fora da luz direta.

- Bloqueie a reação enzimática pipetando 100µl de Ácido Sulfúrico em todos os poços e utilizando a mesma sequência de pipetagem utilizada na fase 6. Em seguida, meça a intensidade da cor com um leitor de microplacas a 450nm (leitura) e se possível, a 620-630nm (filtro duplo), zerando o instrumento no poço A1 e B1.

M.2 Análise Qualitativa

- Coloque o número necessário de tiras no suporte das microplacas. Deixe o poço A1 vazio para a operação do branco. Coloque as restantes tiras na embalagem com dessecante e conserve-as de 2 a 8°C.
- Dispense 50 µl do Diluente de Amostras em todos os poços, à exceção do branco A1. Pipete 100µl do Calibrador 0 mIU/ml em duplicata, 100µl do Calibrador 10 mIU/ml em duplicata, 100µl do Calibrador 250 mIU/ml uma vez, e depois 100µl das amostras. Verifique se os calibradores e as amostras foram corretamente adicionados. Incube a microplaca a +37°C por 60 min.
- Lave a microplaca conforme descrito na seção I.3.
- Pipete 100 µl de Conjugado Enzimático em todos os poços, com exceção do A1. Verifique se o reagente foi corretamente adicionado. Incube a microplaca a +37°C por 60 minutos.

Nota importante:

- Tenha cuidado para não tocar na superfície interna do poço com a ponta da pipeta ao distribuir o Conjugado Enzimático. Poderá ocorrer contaminação.
- Misture bem o Conjugado Enzimático em vórtex antes da utilização.

- Lave a microplaca como descrito.
- Pipete 100µl da mistura de TMB/H2O2 em todos os poços, incluindo os do branco. Verifique se o reagente foi corretamente adicionado. Incube a microplaca à temperatura ambiente durante 20 minutos.

Nota importante:

Mantenha fora da luz direta.

- Bloqueie a reação enzimática pipetando 100µl de Ácido Sulfúrico em todos os poços e utilizando a mesma sequência de pipetagem utilizada na fase 6. Em seguida, meça a intensidade da cor com um leitor de microplacas a 450nm (leitura) e se possível, a 620-630nm (filtro duplo), zerando o instrumento no poço A1.

Notas importantes:

- Se o segundo filtro não estiver disponível, certifique-se de que não há nenhuma digital na fundo exterior das micropoços antes da leitura a 450nm. As digitais podem gerar resultados falsamente positivos quando ocorrer à leitura.
- A leitura deve ser efetuada, de preferência, logo após a adição da solução de parada e nunca mais de 20 minutos depois de tal operação. Poderá verificar-se alguma auto-oxidação do cromógeno, o que poderá originar um valor de fundo elevado.

N. ESQUEMA DO ENSAIO (procedimento padrão)

Diluente de Amostra	50 µl
Calibradores	100 µl
Soro Controle	100 µl
Amostras	100 µl
1ª Inubação	60 min
Temperatura	+37°C
Etapas de Lavagem	4-5 ciclos
Conjugado Enzimático	100 µl
2ª Inubação	60 min
Temperatura	+37°C
Etapas de Lavagem	4-5 ciclos
TMB/H2O2	100 µl
3ª Inubação	20 min
Temperatura	T.A.

Ácido Sulfúrico	100 µl
Leitura OD	450nm & 620nm

A tabela seguinte mostra um exemplo do esquema de distribuição em ensaios quantitativos:

		Microplaca											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BLK	CAL4	S3										
B	BLK	CAL4	S4										
C	CAL1	CAL5	S5										
D	CAL1	CAL5	S6										
E	CAL2	CS	S7										
F	CAL2	CS	S8										
G	CAL3	S1	S9										
H	CAL3	S2	S10										

Legenda: BLK = Branco // CAL = Calibradores // CS = Soro Controle // S = Amostra

A tabela seguinte mostra um exemplo do esquema de distribuição em ensaios qualitativos:

		Microplaca											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BLK	S3	S11										
B	CAL1	S4	S12										
C	CAL1	S5	S13										
D	CAL2	S6	S14										
E	CAL2	S7	S15										
F	CAL5	S8	S16										
G	S1	S9	S17										
H	S2	S10	S18										

Legenda: BLK = Branco// CAL = Calibradores // S = Amostra

O. CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO

A verificação da validação é realizada nos controles toda vez que o kit for usado a fim de verificar o desempenho do ensaio se estão qualificados. Verifique se os seguintes dados são obtidos:

Parâmetros	Requisitos
Poço Branco	< 0.100 DO450nm
Calibrador 0 WHO mIU/ml	< 0.200 DO450nm após descontar o branco.
Calibrador 10 WHO mIU/ml	DO450nm melhor que DO450nm do Calibrador 0 mIU/ml + 0.100
Calibrador 250 WHO mIU/ml	> 1.600 DO450nm
Soro Controle	DO450nm = DO450nm CAL 60 mIU/ml ± 10%
Coefficiente de variação	< 30% para o Calibrador 0 mIU/ml

Se os resultados do teste corresponderem aos requisitos acima passe à seção seguinte.

Se não corresponderem, não continue com o procedimento e faça as verificações seguintes:

Problema	Verificação
Poço Branco > 0.100 DO450nm	1. A solução de Cromógeno/Substrato não foi contaminada durante o ensaio.
Calibrador 0 mIU/ml > 0.200	1. O procedimento de lavagem e os passos de lavagem são os validados durante o estudo de pré-qualificação; 2. Foi utilizada a solução de lavagem correta e de que a lavadora foi purgada com a mesma antes do uso;
coeficiente de variação > 30%	3. Não ocorreu nenhum erro durante o procedimento de ensaio quando da distribuição dos padrões; 4. Não ocorreu nenhuma contaminação do Cal 0 mIU/ml ou de seus poços devido a gotículas de amostras positivas ou do conjugado

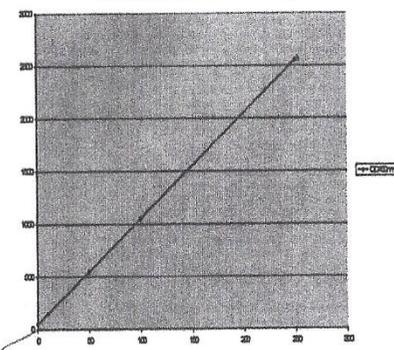
	enzimático; 5. As micropipetas não foram contaminadas com amostras positivas ou com o conjugado enzimático; 6. As agulhas da lavadora não estão bloqueadas ou parcialmente obturadas.
Calibrador 10 mIU/ml DO450nm < Cal 0 + 0.100	1. O procedimento foi executado corretamente; 2. Não ocorreram erros durante a sua distribuição (ex.: dispensação do calibrador errado); 3. O procedimento de lavagem e as definições da lavadora são os validados durante o estudo de pré-qualificação; 4. Não ocorreu nenhuma contaminação externa do calibrador.
Calibrador 250 mIU/ml < 1.500 DO450nm	1. O procedimento foi executado corretamente; 2. Não ocorreram erros durante a sua distribuição; 3. O procedimento de lavagem e as definições da lavadora são os validados durante o estudo de pré-qualificação; 4. Não ocorreu nenhuma contaminação externa do padrão.
Soro Controle Diferente do valor esperado	Verificar primeiro se: 1. O procedimento foi executado corretamente; 2. Não ocorreram erros durante a sua distribuição (ex.: dispensação do calibrador errado); 3. os procedimentos de lavagem e os ajustes da lavadora estão corretos; 4. Não ocorreu nenhuma contaminação externa do padrão; 5. O Soro Controle foi dissolvido com o volume correto reportado no frasco. Se um erro for indicado, o ensaio deve ser repetido após eliminar o motivo deste erro. Se nenhum erro for encontrado, proceda como segue: a) foi obtido um valor até +20%; a precisão total do laboratório não pode permitir o teste de combinar o valor previsto +/-10%. Reteste o problema ao supervisor para a aceitação ou recusa deste resultado. b) foi obtido um valor maior do que +20%; neste caso o teste é inválido e o serviço de cliente da DiaPre deve ser avisado.

P. RESULTADOS

P.1 Método Quantitativo

Se o teste for considerado válido, utilize para o método quantitativo um programa de interpolação de curvas aprovado para desenhar a curva de calibração a partir dos valores obtidos com a leitura a 450nm (sugerimos uma interpolação de 4 parâmetros). Calcule na curva de calibração a concentração de anticorpos anti HBsAg nas amostras. Apresentamos um exemplo de curva de calibração na página seguinte.

Exemplo de Curva de Calibração:

**Nota Importante:**

Não utilize a curva de calibração anterior para fazer cálculos.

P.2 Método Qualitativo

No método qualitativo, calcule a média dos valores da DO450nm para os calibradores 0 e 10 mIU/ml e certifique-se de que o ensaio é válido.

Um exemplo de cálculo está reportado abaixo:

Os seguintes dados não devem ser usados em vez dos valores obtidos pelo usuário:

Calibrador 0 mIU/ml: 0,020 – 0,024 DO450nm
Valor Médio: 0,022 DO450nm
Menor que 0,200 – Aceitável

Calibrador 10 mIU/ml: 0,250 – 0,270 DO450nm
Valor Médio: 0,260 DO450nm
Maior que Cal 0 + 0,100 – Aceitável

Calibrador 250 mIU/ml: 2,845 DO450nm
Maior que 1,500 – Aceitável

Q. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Amostras com uma concentração inferior a 10 WHO mIU/ml são consideradas negativas em termos de anticorpos anti HBsAg pela maioria da literatura médica internacional.

Amostras com uma concentração superior a 10 WHO mIU/ml são consideradas positivas para anticorpos anti HBsAg. Em pacientes vacinados, no entanto, o valor de 20 WHO mIU/ml é aceitável pela literatura médica como a concentração mínima à qual o paciente é considerado clinicamente protegido contra a infecção por HBV.

Importantes Notas:

1. A interpretação dos resultados deve ser efetuada sob a supervisão do responsável do laboratório de modo a reduzir o risco de conclusões erradas e má interpretação.
2. Quando os resultados dos testes são transmitidos de um laboratório para outro estabelecimento, atenção para evitar transferência errada dos dados.
3. Diagnósticos de infecção por hepatite viral devem ser feitos e liberados ao paciente por um médico qualificado.

R. DESEMPENHO

A avaliação do desempenho foi conduzida de acordo com as indicações do Common Technical Specifications ou CTS (art. 5, Capítulo 3 do IVD Diretiva 98/79/EC).

1. LIMITE DE DETECÇÃO:

O limite de detecção do ensaio foi calculado através da preparação internacional HBsAb fornecida pela CLB em nome da OMS (1ª preparação de referência 1977, lote 17-2-77), com base na qual foi calibrada a curva de calibração. Utilizou-se como diluente um soro HBV negativo, conforme recomendado pelo fornecedor.

A tabela seguinte apresenta os Resultados do Controle de Qualidade:

WHO mIU/ml	SAB.CE Lote # 1002	SAB.CE Lote # 1001	SAB.CE Lote # 1002/2
50	0,933	0,812	0,846
10	0,219	0,192	0,194
5	0,110	0,098	0,104
2,5	0,057	0,058	0,067
Padrão 0	0,021	0,015	0,023

2. ESPECIFICIDADE E SENSIBILIDADE DIAGNÓSTICA

A avaliação do desempenho foi conduzida com um número total de mais de 700 amostras.

2.1 Especificidade Diagnóstica

É definida como a probabilidade do ensaio dar um resultado negativo na ausência do analito específico.

Foram testadas mais de 500 amostras negativas, interna e externamente, tendo por base uma empresa europeia.

A especificidade diagnóstica de 98,8% foi encontrada.

Além disso, a especificidade diagnóstica foi confirmada testando 113 amostras potencialmente interferentes (outras doenças infecciosas, pacientes afetados por doenças hepáticas não virais, pacientes em diálise, mulheres grávidas, hemolisados, lipêmicos, etc.) tendo por base uma empresa europeia. O valor da especificidade foi de 100%.

Finalmente, para determinar a especificidade, foram utilizadas amostras de plasma humano, obtidas com diversas técnicas de preparação (citrato, EDTA e heparina), e amostras de soro humano.

Não foi observada nenhuma reatividade falsa devido ao método de preparação das amostras.

2.2 Sensibilidade Diagnóstica

É definida como a probabilidade do ensaio dar um resultado positivo na presença do analito específico.

Foram avaliados 105 pacientes vacinados, tendo-se obtido uma sensibilidade diagnóstica de 100%.

Foram testados mais de 100 pacientes naturalmente infectados por HBV, interna e externamente, tendo por base a empresa europeia; foi obtida uma sensibilidade diagnóstica de 100%.

3. PRECISÃO:

Os valores médios obtidos de um estudo conduzido em três amostras de diferentes reatividades para anti-HBsAg, examinados em 16 replicatas em 3 corridas distintas está reportado abaixo:

SAB.CE: lote # 1202

Valores Médios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Médio
DO 450nm	0,038	0,038	0,039	0,039
Desvio Padrão	0,003	0,004	0,005	0,004
CV %	8,8	9,5	11,8	10,0

Calibrador 10 mIU/ml (N = 16)

Valores Médios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Médio
DO 450nm	0,250	0,243	0,244	0,246
Desvio Padrão	0,020	0,023	0,017	0,020
CV %	8,0	9,3	7,0	8,1

Calibrador 250 mIU/ml (N = 16)

Valores Médios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Médio
DO 450nm	2,998	3,000	3,259	3,085
Desvio Padrão	0,182	0,151	0,158	0,153
CV %	5,1	5,0	4,8	5,0

SAB.CE: lote # 1002

Calibrador 0 mIU/ml (N = 16)

Valores Médios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Médio
DO 450nm	0,048	0,046	0,050	0,049
Desvio Padrão	0,005	0,004	0,008	0,005
CV %	9,4	8,4	11,5	9,8

Calibrador 10 mIU/ml (N = 16)

Valores Médios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Médio
DO 450nm	0,249	0,252	0,242	0,248
Desvio Padrão	0,021	0,020	0,025	0,021
CV %	8,3	7,9	9,6	8,6

Calibrador 250 mIU/ml (N = 16)

Valores Médios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Médio
DO 450nm	3,844	3,653	3,612	3,603
Desvio Padrão	0,153	0,176	0,138	0,156
CV %	4,3	4,8	3,8	4,3

SAB.CE: lote # 1002/2

Calibrador 0 mIU/ml (N = 16)

Valores Médios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Médio
DO 450nm	0,050	0,051	0,050	0,050
Desvio Padrão	0,005	0,008	0,008	0,005
CV %	10,0	10,9	11,9	10,9

Calibrador 10 mIU/ml (N = 16)

Valores Médios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Médio
DO 450nm	0,226	0,238	0,238	0,234
Desvio Padrão	0,015	0,017	0,016	0,016
CV %	6,5	7,0	7,5	7,0

Calibrador 250 mIU/ml (N = 16)

Valores Médios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Médio
DO 450nm	3,628	3,457	3,489	3,494
Desvio Padrão	0,137	0,143	0,182	0,147
CV %	3,9	4,1	4,6	4,2

A variabilidade demonstrada nas tabelas não originou uma desclassificação da amostra.

4. EXATIDÃO

A exatidão do ensaio foi verificada pelos testes de diluição e recuperação. Qualquer "efeito gancho", subestimação que se pode verificar com concentrações elevadas do analito, verificaram-se apenas acima de 10.000 mIU/ml.

5. LIMITAÇÕES DOS PROCEDIMENTOS

A contaminação bacteriana ou a inativação pelo calor das amostras podem afetar os valores de absorbância das mesmas com consequente alteração do nível do analito.

Este teste está indicado apenas para a análise de amostras individuais e não de pools de amostras.

O diagnóstico de uma doença infecciosa não deve ser formulado com base no resultado de um único teste. Devem ser considerados igualmente a história clínica, a sintomatologia e todos os restantes dados de diagnóstico do paciente.

REFERENCIAS

1. Engvall E. et al., J. Immunology, 6, 871-874, 1971.
2. Engvall E. et al., J. Immunol., 109, 129-135, 1971.
3. Remington J.B. and Klein J.O. In "Infectious diseases of the fetus and newborn infant". Sanders, Philadelphia, London, Toronto.
4. Volk W.A. In "Essential of Medical Microbiology", 2ª ed., pp 228 G.B. Lippincott Company, Philadelphia, New York, S. José, Toronto
5. Snyderman D.R. et al., Ann.Int.Med., 83: 838, 1975.
6. Barker L.F., Dodd R.J., Sandler S.G. In "Viral Hepatitis: Laboratory and Clinical Science" F. Deinhardt, J. Deinhardt eds., M.Dekker Inc., New York, 218-230, 1983.
7. Cossart Y., Brit.Med.Bull., 28: 156, 1972
8. Lander J.J. et al., J. Immunol., 108: 1066, 1971
9. Mushawar I.K. et al., Ann.J.Clin.Pathol., 78: 773, 1981.
10. Howard C.R., Immunol.Today, 5: 185, 1984
11. Ash R.D., Lancet 7874: 190-193, 1974.
12. Jilg W. et al., J.Hepatol. 9: 201-207, 1988
13. P. Crovari et al., Bell. Ist. Sieroter. Milan., 63: 14-18, 1984
14. M. Davidson et al., J.Natl.Cancer Inst., 59: 1461-1467, 1977
15. F.Gyorkey et al., J.Natl.Cancer Inst., 56: 1451-1467, 1977
16. S.Hadler et al., N.E.J.Med., 315: 209-214, 1986
17. J.H.Hoofnagle et al., Hepatology, 7: 756-763, 1987
18. G.L.Howard, J.Gen.Viro., 67: 1216-1235
19. W.Jilg et al., J.Hepatol., 8: 201-207, 1988
20. P.Michel et al., Nephrologie, 7: 114-117, 1988
21. W.Szmunes et al., N.E.J.Med., 303: 833-836, 1980
22. P.Tiollais et al., Nature, 317: 489-495, 1985
23. A.J.Zuckerman et al., in "Hepatitis Viruses of Man" Academic Press, London, 1979

Prodotto por
Dia.Pro. Diagnostic Probes Srl.
via G. Carducci n° 27 – Sesto San Giovanni- Milano -
Italy

CE
0318

Detentor do Registro:
Sergio Mansur Andalfat – GBIO-ME
Av. São Francisco, nº83, sala 01, QD38, Lota08
Santa Genoveva – CEP: 74672-010
Goiania – GO
Tel/Fax: 62-3204-5989
CNPJ: 05.658.906/0001-11
I.E: 10369403-0

Anexo D – Teste HBsAg

pt

Imunoensaio

REF EC0209

96 testes

HBsAg ELISA

Ensaio microplaca baseada no método ELISA (ensaio de enzima ligada a imunoabsorvente) para determinação qualitativa de HBsAg (antígeno de superfície hepatite B) em soro ou plasma humano (EDTA, Heparina ou citrato de sódio) e para utilização como ensaio de rastreio.

Todas as marcas registradas são propriedades de seus respectivos proprietários.

Símbolos			
	Código de lote		Utilizado por
	Fabricante		Contem suficientes para <n> testes
	Para diagnóstico de uso <i>IN VITRO</i>		Limite de temperatura
	Número de catálogo		Consulte as instruções de uso

 AUTOBIO DIAGNOSTICS CO., LTD
No.87 Jingbei Yi Road
National Eco & Tech Development Area
Zhengzhou
China
450016



Para qualquer assistência técnica, por favor contate-nos em Inglês em:
Email: customerservice@autobio.com.cn
Contate os distribuidores locais para todas as questões relacionadas com produtos em sua língua materna

Introdução

Hepatite B é uma infecção hepática potencialmente letal causada pelo vírus da hepatite B. A infecção pela hepatite B pode se dar por contato com sangue, sêmen, fluidos vaginais e outros fluidos corporais de algum indivíduo que já está infectado pela hepatite B. O vírus da hepatite B pode ser transmitido ao bebê durante o parto caso a mãe estiver infectada.¹ É um problema de saúde global e o tipo mais grave de hepatite viral. Pode causar doença crônica no fígado e elevar o risco de morte por cirrose hepática e câncer de fígado.² Acredita-se que o HBV é completamente eliminado por anticorpos antivirais e CTLs específicos (linfócitos T citotóxicos) durante a hepatite aguda viral. Tem sido demonstrado que traços de HBV são frequentemente detectáveis no sangue por muitos anos após recuperação clínica da hepatite aguda, apesar da presença de anticorpos séricos anti-HBV e CTLs específicos, que podem estar presentes na fase aguda da doença.³ A prevalência global de portadores de HBV varia muito e os países podem ser classificados como tendo uma prevalência alta, intermediária e baixa de infecção pelo HBV, baseado na prevalência de portadores do HBsAg de > 8%, 2% -7%, e <2% respectivamente.^{4,5}

Princípio do Ensaio

Este ensaio é baseado no método de dois passos "sanduíche". No primeiro passo, a amostra e o Anti-HBs presente na microplaca são combinados. Durante a incubação, os antígenos HBsAg presentes na amostra se ligam aos anticorpos ligados aos poços. No Segundo passo, o conjugado enzimático é adicionado aos poços. Durante a incubação, os antígenos HBsAg capturados na fase sólida podem reagir com os anticorpos marcados pela enzima, resultando nos antígenos HBsAg sendo prensados entre a fase sólida e os anticorpos ligados pela enzima. Então, um complexo é criado entre a fase sólida, os antígenos HBsAg das amostras e o anticorpo do conjugado enzimático por meio de reações imunológicas. Após a lavagem, o substrato A e substrato B são, então, adicionados e catalisados por este complexo, desenvolvendo uma coloração azul na proporção da quantidade de HBsAg presente na amostra. A reação enzimática é interrompida pela adição da solução de parada, a qual muda a coloração de azul para amarelo. O resultado cromogênico desta reação é medido pela absorbância. A intensidade da cor é proporcional à quantidade de HBsAg na amostra.

Componentes

- Microplaca**
1 placa contendo 96 poços revestidos com Anti-HBs monoclonais de rato.
- Conjugado Enzimático**
1 frasco contendo 7,5 ml de HRP (peroxidase de rábano) embebido com Anti-HBs policlonal de cabra em um buffer contendo BSA (albumina sérica bovina). Contém conservante 0.05% ProClin 300®.
- Controle Negativo**
1 frasco contendo 1 ml de solução tampão de fosfato com proteínas bovinas originais. Contém conservante 0.1% ProClin 300®.
- Controle Positivo**
1 frasco contendo 1 ml de solução tampão de fosfato com plasma humano positivo para HBsAg inativado por calor e proteínas bovinas originais. Contém 0.1% ProClin 300®.
- Dilúente de amostra**
1 frasco contendo 4 ml de tampão Tris-NaCl com caseína. Misturar por inversão antes do uso. Contém conservante 0.05% ProClin 300®.
- Solução de Parada**
1 frasco contendo 7,5 ml de uma mistura de ácido sulfúrico e ácido cítrico.
- Substrato A**
1 frasco contendo 7,5 ml de peróxido de hidrogênio.
- Substrato B**
1 frasco contendo 7,5 ml de TMB (3, 3', 5, 5'-tetrametilbenzidina) em uma solução tampão.
- Solução de Lavagem Concentrada**
1 frasco contendo 30 ml de tampão PBS-Tween 20 vezes concentrado.
- Cópia das instruções de uso**
- Adesivos para placas**
- Embalagem Zip-lock**

Materiais Necessários mas não Fornecidos

- Papel absorvente ou papel-toalha.
- Lavadora automática de microplacas.
- Água destilada ou deionizada.
- Recipiente para descarte.
- Incubadora capaz de manter a temperatura definida pelo protocolo do ensaio.
- Agitador magnético.
- Micropipetas e micropipetas multicanais dos volumes apropriados.
- Leitora de microplacas para leitura de absorbância de 450nm com filtro de referência de 620 ou 630nm ou até comprimento de onda simples de 450nm..
- Agitador de placas.
- Cronômetro.

Precauções e Avisos

- Para uso profissional apenas. Não pode ser reutilizado.
- Siga as instruções de uso cuidadosamente. A confiabilidade dos resultados do ensaio não pode ser garantida se houver qualquer desvio das instruções.
- Manipule os materiais potencialmente contaminados com segurança de acordo com as exigências locais.
- CLUIDADO: o controle positivo contém componente de origem humana, que foi testado e encontrado resultado não reagente para anticorpos HIV 1 e 2, Anti-HTLV 1 e 2, HCV e sífilis e reagente para HBsAg. É recomendado que todos materiais de origem humana sejam considerados potencialmente infecciosos. Este ensaio contém materiais de origem animal. Componentes bovinos provenientes de países onde BSE não foi relatado.
- Alguns reagentes contêm 0.05% ou 0.1% ProClin 300 que pode causar sensibilização em contato com a pele, devendo ser evitado. Os reagentes e seus frascos devem ser descartados de forma segura. Em caso de ingestão, consultar imediatamente um médico.
- A cor da tampa do Substrato A é azul, e a tampa do Dilúente de Amostra é branca. Os operadores devem estar cientes de que a cor dos tampões não coincide com a cor da solução.
- A solução de parada contém ácido sulfúrico, que pode causar graves queimaduras. Caso entre em contato com os olhos, lavar imediatamente com água abundantemente e consultar um médico.
- Para neutralização de ácidos e descarte de outros líquidos deve ser realizada a descontaminação pela adição de volume suficiente de hipoclorito de sódio para se obter uma concentração final de pelo 1.0%. Uma exposição de 30 minutos ao hipoclorito de sódio a 1.0% pode ser necessária para se garantir a descontaminação efetiva.
- Não fume, beba, coma ou utilize cosméticos na área de trabalho.
- Não pipete com a boca. Use roupas de proteção, luvas descartáveis e protetores de olhos/face ao lidar com amostras e reagentes. Lave as mãos após as operações.
- Caso algum dos reagentes entre em contato com pele ou olhos, lave a área intensamente com água.
- Manuseie amostras de pacientes com atenção para evitar contaminação cruzada. Para pipetagem manual de controles e amostras, utilize ponteiros individuais para cada amostra. Considere

utilizar novas tampas dos tubos das amostras após o uso, evitando erros ou contaminação da área de trabalho.

13. Misture as amostras nos poços através de agitação e elimine as bolhas.
14. Conclua o ensaio longe de más condições ambientais, como o ar ambiente contendo altas concentrações de gases corrosivos, como hipoclorito de sódio ácido, alcalino, acetaldéido, entre outros, ou contendo poeira.
15. Lave os poços completamente. Cada poço deve ser completo por solução de lavagem. A força da dispensação, contudo, não deve ser muito intensa para evitar transbordamentos. Em cada ciclo de lavagem, retire o líquido de cada poço. Vire a microplaca em papel absorvente para remover o líquido residual. É recomendado o uso de uma lavadora automática de microplacas.
16. Para evitar contaminação cruzada da placa com as amostras e o conjugado enzimático, após a incubação, não decantar o conteúdo dos poços, mas permitir que a lavadora aspire automaticamente.
17. Falhas na remoção adequada de solução aderente nos passos de lavagem de aspiração ou decantação podem resultar em baixa replicação e resultados falhos.
18. Não toque ou espirre conjugado na borda dos poços. Não espirre controles, amostras ou reagentes entre os poços da placa. Não assope as micropipetas.
19. Não utilize reagentes após a data de expiração.
20. Não misture ou utilize componentes de kits com diferentes lotes.
21. Quando realizada a pipetagem manual, complete a pipetagem de todos os controles e amostras dentro de 10 minutos.
22. É importante que o tempo de reação do cada poço se mantenha constante para se atingir resultados reprodutíveis.
23. É importante calibrar todos os equipamentos, como as micropipetas, leitoras de microplacas, lavadora automática de microplacas e/ou instrumentos automatizados, e realizar manutenções preventivas rotineiramente.
24. Garanta que o fundo da placa esteja limpo e seco e que não hajam bolhas na superfície do líquido antes de realizada a leitura da placa. Áreas no fundo dos poços que estejam opacas, rachadas ou irregulares podem levar a leituras de absorbância falsamente elevadas.
25. A adição de solução de substrato A e B inicia uma reação cinética, que é encerrada pela adição de solução de parada. Assim, as soluções de substrato e de parada devem ser adicionadas na mesma sequência para eliminar qualquer desvio de tempo durante a reação.
26. Não exponha os reagentes à luz intensa ou ao hipoclorito durante a estocagem ou aos passos de incubação.
27. Não permita que os poços fiquem secos durante o ensaio.
28. Não modifique os procedimentos do ensaio ou substitua os reagentes por outros ou de outros lotes a menos que o reagente seja considerado como comum. Não reduza nenhum tempo de incubação recomendado.
29. Garanta que o ensaio seja realizado dentro do limite de temperatura definido no protocolo. Temperaturas fora do range validado podem resultar em resultados inválidos. Temperatura de incubação deve ser cuidadosamente monitorados utilizando termômetros calibrados ou equivalente.
30. Não use incubadores de CO₂.
31. Não armazene a solução de parada em um recipiente raso nem a retorne ao frasco após seu uso.
32. Tenha cuidado ao abrir os frascos e ao remover alíquotas para evitar contaminação microbiológica dos reagentes. Não permita que a solução TMB entre em contato com qualquer agente oxidante.
33. Manuseie os controles negativo e positivo da mesma maneira das amostras de pacientes.
34. Se uma amostra ou reagente não for adicionada ao poço, o resultado do ensaio será lido como negativo.

35. Algumas condições de lavagem, como cânulas parcialmente bloqueadas, podem reduzir o desempenho da lavagem e levar a resultados falso positivos. É recomendado que seja verificada cuidadosamente se o sistema de lavagem está limpo e operando apropriadamente antes da realização do ensaio.
36. Não utilize o kit caso a embalagem protetora esteja danificada ou qualquer mudança na performance analítica seja observada.

Armazenamento

1. Armazene todos os componentes de 2-8 °C. Não congele. Evite luz intensa.
2. Armazene os poços não utilizados em uma embalagem Zip-lock com o dessecante fornecido, então coloque a embalagem em uma de alumínio, selo e a mantenha de 2-8 °C, condições nas quais os poços permanecerão estáveis por 2 meses, ou até a data de expiração, o que ocorrer antes.
3. Sele e retorne os reagentes não utilizados a 2-8 °C, condições nas quais os poços permanecerão estáveis por 2 meses, ou até a data de expiração, o que ocorrer antes.

Amostra

1. Colete as amostras em concordância com as corretas práticas médicas.
2. Amostras coletadas em tubos contendo EDTA, heparina ou citrato de sódio não interferem no ensaio.
3. Não utilize amostras inativadas por calor. Não use conservante de azida de sódio nas amostras.
4. Sedimentos e materiais suspensos nas amostras podem interferir nos resultados dos testes, os quais devem ser removidos por centrifugação. Garanta que a formação do coágulo ocorreu antes da centrifugação. Algumas amostras, especialmente de pacientes recebendo terapia com anticoagulantes ou trombolíticos, podem apresentar aumento no tempo de coagulação. Se a amostra for centrifugada anteriormente da formação completa do coágulo, a presença de fibrina pode causar resultados errôneos. Certifique-se de que as amostras não estão deterioradas antes do uso.
5. Antes do envio, recomenda-se que as amostras sejam retiradas do coágulo, sêrum separador ou de células vermelhas do sangue.
6. Processamento insuficiente de amostra, ou perturbação da mesma, durante o transporte pode fazer com que os resultados sejam suprimidos.
7. Evite amostras grosseiramente hemolíticas, lipêmicas ou turvas.
8. Tampe e armazene as amostras de 18-25°C por não mais de 8 horas, as amostras que demorarem a ser utilizadas devem ser tampadas e armazenadas de 2-8°C por até 48 horas. Ou congele a -20°C as amostras que precisam ser armazenadas ou transportadas por mais de 48 horas. Evite múltiplos ciclos de congelamento e descongelamento. Misture cuidadosamente as amostras descongeladas por centrifugação a baixa velocidade ou por inversão 10 vezes. Inspeção visualmente as amostras, se camadas ou estratificação é observado, continue misturando até que as amostras estejam visivelmente homogêneas. Após o descongelamento, trazer a temperatura ambiente e misturar delicadamente por agitação.
9. Note que os níveis de interferência de fibrina podem estar presentes nas amostras que não possuem partículas óbvias ou visíveis.
10. Centrifugue as amostras descongeladas contendo células vermelhas do sangue ou partículas, ou que são turvas ou aparentemente turvas antes do uso para garantir a consistência nos resultados.
11. Caso a coleta da amostra e preparação adequadas não puderem ser verificadas, ou se as amostras tiverem sido perturbadas devido a

manuseamento ou ao transporte da amostra, um passo adicional de centrifugação é recomendado. As condições de centrifugação devem ser suficientes para remover a matéria particulada.

Preparo do Reagente

1. Traga todos os reagentes à temperatura ambiente (18-25 °C) anteriormente ao uso por pelo menos 30 minutos. Homogenize todos os reagentes gentilmente por inversão antes do uso. Não induza a formação de bolhas.
2. Ajustar a incubadora a 37 °C
3. Adicione 1 volume de solução de lavagem concentrada a 19 volumes de água destilada ou deionizada para se obter o volume necessário, e misture bem com um agitador magnético. A solução de lavagem diluída pode ser estocada à temperatura ambiente por 2 meses em um recipiente plástico limpo. A solução de lavagem é estável à temperatura ambiente durante 2 meses. Anote o número do lote, a data de preparação e de expiração no recipiente. Cristais podem ser observados na solução de lavagem concentrada, mas estes se dissolvem quando a solução é diluída. Descarte caso não seja notada espuma na solução de lavagem. Prepare uma quantidade suficiente de solução de lavagem para uma rotina completa.
4. O tempo esperado de execução deste procedimento é de aproximadamente 3-3,5 horas, do início do primeiro passo de incubação. Cada corrida deste ensaio deve ser processada por completo, sem interrupção após o seu início. O tempo máximo permitido do início da pipetagem até a incubação é de 10 minutos.

Procedimento do Ensaio

1. Utilize somente o número requerido de poços e formate as microcavidades para cada calibrador e amostras a serem analisadas. Deixe a cavidade A1 para o branco. Para cada placa, adicione 25 µL de diluente de amostra, incluindo o do branco. Então, adicione 75 µL de controle negativo nos poços B1, C1 e D1 e 75 µL de controle positivo nos poços E1 e F1. Adicione 75 µL de amostras a cada poço restante. (Não utilize a cavidade do branco caso seja pretendido realizar a leitura utilizando um comprimento de onda de referência)
2. Homogenize em um agitador de placas por 30 segundos para misturar completamente o líquido nos poços.
3. Cubra a placa com um adesivo e a incube a 37 °C por 50 minutos.
4. Adicione 50 µL de conjugado enzimático em cada poço, excluindo o de branco.
5. Homogenize em um agitador de placas por 30 segundos para misturar completamente o líquido nos poços, ou agite manualmente, batendo gentilmente nas laterais da placa por 30 segundos.
6. Cubra a placa com um adesivo e a incube a 37 °C por 60 minutos.
7. Adicione 350 µL de solução de lavagem em cada poço, decante ou aspire. Repita por mais 5 vezes, em um total de 6 lavagens. Uma lavadora automática de microplacas pode ser utilizada. Ao final da lavagem, inverta a placa e bata em um papel absorvente para retirar qualquer solução residual.
8. Adicione 50 µL de substrato A. Após, adicione 50 µL de substrato B em cada poço, incluindo o de branco. É recomendada a adição do substrato A e do substrato B respectivamente. Recomenda-se o uso de uma micropipeta multicanal.
9. Misture gentilmente por 15 segundos e incube a 37 °C no escuro por 20 minutos, sem agitação.
10. Adicione 50 µL de solução de parada a cada poço, incluindo o de branco, e misture gentilmente.
11. Leia a absorbância dentro de 20 minutos a 450 nm (utilize um comprimento de onda de referência de 620-630 nm para minimizar imperfeições dos poços) em uma leitora de microplacas. Alternativamente, a real absorbância pode ser obtida pela subtração

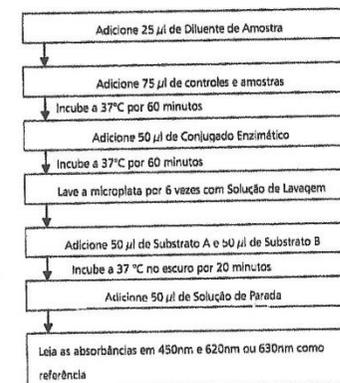
da absorbância de cada poço a 450 nm pela absorbância do branco a 450 nm.

Protocolo para lavadora automática de microplacas

Realize 6 ciclos de lavagem utilizando solução de lavagem. Assegure, quando possível, de que:

- (i) Dispensação – lavagem completa com um volume de 350 µL/well é utilizada com instrumento fornecido pela Autoblo. Quando utilizado outro equipamento, no qual este procedimento não é possível, assegure-se de que os poços estão preenchidos por completo.
- (ii) A altura da dispensação é programada para preencher por completo os poços com um menisco, sem causar transbordamentos.
- (iii) O tempo gasto para completar um ciclo de aspiração/lavagem/molho é de aproximadamente 30 segundos.
- (iv) Garanta que não sobre líquido nos poços (através da utilização de um passo de dupla aspiração no ciclo final, quando possível).
- (v) Após a lavagem completa, inverta e bata em um papel absorvente para retirar qualquer solução de lavagem.

Fluxograma de Procedimento



Cálculo dos Resultados

Cada placa deve ser considerada separadamente quando calculando e interpretando os resultados do ensaio. Os controles positivo e negativo devem ser rodados em cada placa.

1. Controle Negativo.
- Calcule a média de absorbância das replicatas do controle negativo.
2. Valor de Cut-off.

Cada valor individual do controle negativo deve estar entre o intervalo de [CNx - 0,01, CNx + 0,01]. (CNx: a média das replicatas do controle negativo). Valores individuais de controle negativo fora deste intervalo devem ser desconsiderados. Calcule novamente a média com os valores remanescentes. Repita o passo anterior até que cada valor de controle negativo esteja dentro do intervalo. Calcule o valor de Cut-off pela adição de 0,05 à média das replicatas do controle negativo.

3. Exemplo.

Absorbância do controle poço 1 = 0,010, poço 2 = 0,032, poço 3 = 0,014
 negativo:
 Média do controle negativo:

$$= (0,010 + 0,032 + 0,014) / 3 = 0,019$$

$$CNx - 0,01 = 0,009, CNx + 0,01 = 0,029$$

 0,032 é maior do que 0,029, por isso é eliminado
 Calcule a média novamente,

$$(0,010 + 0,014) / 2 = 0,012$$

$$CNx - 0,01 = 0,002, CNx + 0,01 = 0,022$$

Os valores 0,010 e 0,014 estão dentro do intervalo [0,002, 0,022]

$$\text{Valor do Cut-off} = 0,05 + 0,012 = 0,062$$

Procedimento de Controle

A exigência de controle recomendada para este ensaio é utilizar controle positivo e controle negativo para verificar o desempenho do ensaio. O resultado é válido se os seguintes critérios para os controles são atendidos:

1. Controle Negativo

Média da absorbância do controle negativo menor do que 0,1 a 450/630nm ou a 450nm depois do branco.

2. Controle Positivo

Média da absorbância do controle positivo maior ou igual a 0,6 a 450/630 nm ou a 450nm depois do branco.

Interpretação dos Resultados

Os resultados são calculados como um sinal normalizado, relativo ao valor do cut-off (sinal/cut-off, S/CO).

Resultado = sinal da amostra/valor do cut-off.

1. Não-reagente

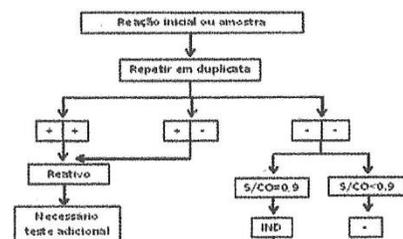
Amostras com absorbância menor do que o valor do cut-off são consideradas não-reagentes. (S/CO < 1).

2. Reagente

Amostras com absorbância maior ou igual ao valor do cut-off são consideradas reagentes. Tais amostras devem ser retestadas em duplicata utilizando a fonte da amostra original. (S/CO ≥ 1)

3. Indeterminado

Amostras com um valor de absorbância do cut-off entre 0,9 e 1,1 são considerados indeterminados e devem ser repetidos em duplicata para confirmar o resultado inicial. (S/CO = 0,9-1,1)



IND= Indeterminado

Se, após a repetição da amostra reativa, ambos os apresentem resultados negativos (S/CO < 0,9), essa amostra deve ser considerada como resultado positivo não reproduzível (ou falso positivo) e reportado como negativo.

Amostras que são reativas em pelo menos um re-teste são consideradas como contendo HBsAg, e devem ser confirmadas pela utilização de teste confirmatório ou testes para outros marcadores de HBV. Amostras que são não-reativas em ambos os testes não devem ser consideradas como não-reagentes.

Características do Desempenho

Avaliação do desempenho deve ser conduzida de acordo com as Especificações Técnicas comuns (CTS)

1. Sensibilidade Analítica

A sensibilidade analítica é até 0,13IU/ml, utilizando o reagente NIBSC 03/262 de referência WHO.

2. Sensibilidade Diagnóstica

Um total de 258 amostras de pacientes infectados pelo HBV foram testadas com o HBsAg ELISA. Todas as 258 amostras foram confirmadas com um kit CE HBsAg, e foram positivas em ambos os testes. Mais 191 amostras genotipadas foram testadas com o kit HBsAg ELISA. Todas as amostras foram confirmadas em um kit com a marca CE, e foram encontradas amostras positivas em ambos os testes.

3. Desempenho Analítico

213 pacientes hospitalizados foram avaliados. Dentre estes pacientes, duas amostras foram inicialmente reativas. Uma delas permaneceu positiva após a repetição do teste em duplicata.

114 amostras potencialmente com reação cruzada de pacientes em condições não relacionadas a infecção por Hepatite B foram avaliadas. Um total de 113 destas amostras foram não reativas ao HBsAg ELISA. Apenas uma amostra permaneceu positiva após o teste em duplicata.

4. Especificidade Diagnóstica

Um total de 5079 doadores de sangue foram avaliados com o kit HBsAg ELISA. Neste estudo, 0,20% (10/5079) das amostras foram inicialmente reativas e 0,08% (4/5079) das amostras foram repetidamente reativas. A especificidade do kit HBsAg ELISA em doadores de sangue não reativos foi de 99,92% (5075/5079).

5. Painéis de Sorconversão

Um total de 20 painéis de sorconversão de HBV disponíveis comercialmente foram testados com este ensaio. Os resultados foram comparados com os resultados obtidos em outros 20 imunoenaios para a detecção de antígeno de superfície da hepatite B. Comparado ao último ensaio de sensibilidade de HBsAg, o teste Avitbio HBsAg ELISA foi igualmente positivo em 13 painéis, uma coleta primária em 6 painéis e uma coleta tardia em 1 painel. Comparado ao ensaio de HBsAg mais sensível, o HBsAg ALTOBIO ELISA foi igualmente positivo em 5 painéis, uma coleta tardia em 6 painéis, duas coletas em 7 painéis e 587 coletas tardias em um painel cada.

6. Precisão

Sem corrida de Precisão

Amostras de Precisão (DO)	Lote 1	Lote 2	Lote 3
1 (Baixo--0,3)	4,80%	5,20%	6,50%
2 (Médio--1,0)	5,00%	3,10%	6,40%
3 (Alto--1,5)	9,60%	4,00%	6,50%

Precisão inter-ensaio

Amostras de Precisão (DO)	Lote 1	Lote 2	Lote 3
1 (Baixo--0,3)	7,80%	7,50%	6,80%
2 (Médio--1,0)	8,00%	8,00%	7,80%
3 (Alto--1,5)	6,70%	6,70%	7,60%

Precisão lote a lote.

Amostras de Precisão	Lote 1	Lote 2	Lote 3
2 (médio--1,0)	Lote1-Lote2-Lote3CV=13,4%		

Limitações do Procedimento

1. Este ensaio é indicado como um teste auxiliar para o diagnóstico clínico. Conduza este ensaio em conjunto com exame clínico, histórico médico do paciente e resultados de outros testes.

2. Este teste foi avaliado somente para uso com soro individual, plasma EDTA, Heparina ou plasma citrato.

3. Este teste não foi avaliado para uso com amostras provenientes de cadáveres.

4. Se os resultados forem inconsistentes com as evidências clínicas, testes adicionais são sugeridos para a confirmação do resultado.

5. Anticorpos heterófilos e fator reumatóide podem interferir nos resultados. Anticorpos heterófilos em soro humano podem reagir com imunoglobulinas do reagente, interferindo em imunoenaios in vitro. Pacientes rotineiramente expostos a animais ou a produtos de origem animal podem ser propensos a esse tipo de interferência e valores anormais podem ser observados. Informações adicionais podem ser necessárias para o diagnóstico. Este tipo de amostras não é adequado para ser testada neste ensaio.

6. Pacientes que receberam anticorpos monoclonais de rato para diagnóstico ou terapia podem desenvolver HAMA (anticorpos humanos anti-rato). HAMA pode produzir valores falsamente altos ou falsamente baixos em imunoenaios que utilizam anticorpos monoclonais de rato. Informações adicionais podem ser necessárias para o diagnóstico.

7. Resultados falso positivo podem ser esperados em um kit desta natureza. A proporção de resultados reagentes que são falsos depende da sensibilidade e da especificidade do kit testado e da prevalência do vírus da hepatite B na população analisada.

8. Resultados falso negativos podem ocorrer se a quantidade do marcador presente na amostra for muito baixa para os limites de detecção do ensaio, ou se o marcador que é detectado não estiver presente no estágio da doença durante o qual a amostra foi coletada.

9. Falhas na adição das amostras ou dos reagentes, como instruído no procedimento, podem resultar em um resultado falso negativo. A repetição do teste deve ser considerada quando há suspeita clínica da infecção, ou falha no procedimento.

10. Um valor de absorbância de menos de 0,000 pode indicar um erro de procedimento ou do instrumento, que deve ser avaliado. Este resultado é inválido e a amostra deve ser repetida.

11. As causas mais comuns de erros são:

- Pipetagem imprecisa de amostras, conjugado enzimático ou solução de substrato nos poços.
- Contaminação da solução de substrato com o conjugado enzimático.
- Contaminação com reagentes de outros ensaios.
- Entupimento total ou parcial das probes de lavagem.
- Aspiração insuficiente deixando um pequeno volume de solução de lavagem nos poços.
- Falha na checagem do fundo da superfície dos poços, verificando se estão limpos e secos, e se não há bolhas de ar presentes na superfície do líquido antes da leitura da placa.
- Falha na leitura no correto comprimento de onda ou utilização de um comprimento de onda de referência incorreto.

Referência Bibliográfica

- Dionstag JL. Hepatitis B virus infection. *N. Engl. J. Med.* 2008;359(14):1486-1500.
- Knowles B, Howe C, Aden D. Human hepatocellular carcinoma cell lines secrete the major plasma proteins and hepatitis B surface antigen. *Science.* 1980;209(4455):497-499.
- Rehermann B, Ferrari C, Pasquinelli C, Chisari FV. The hepatitis B virus persists for decades after patients' recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. *Nat Med.* 1996;2(10):1104-1108.

4. Gust ID. Epidemiology of hepatitis B infection in the Western Pacific and South East Asia. *Gut.* 1996;38 Suppl 2:S18-23.

5. Toukan A. Strategy for the control of hepatitis B virus infection in the Middle East and North Africa. *Vaccine.* 1990;8:S100-S106.

RESPONSÁVEL NO BRASIL:

Recessor Comércio de Produtos Diagnósticos - Ltda.
Rua Oratório, 1688, sala 01 – Parque das Nações – Santo André – SP.
CEP: 09280-000
CNPJ: 04.128.853/0001-88
Fax: (11) 4476-2668 - Fone: (11) 4476-2666

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE

Qualquer dúvida técnica, no manual deste kit ou no seu procedimento entrar em contato com a ASSESSORIA CIENTÍFICA DA RESSERV COM. DE PRODUTOS DIAGNÓSTICOS – LTDA.
assessorie@resserv.com.br
(11) 4476-2666

HBeAg SYM

96 testes 192 testes 480 testes 960 testes
(Cod.10009) (Cod.10146) (Cod.10147) (Cod.10148)

KIT IMUNOENZIMÁTICO PARA DETERMINAÇÃO DO ANTÍGENO "e" DO VÍRUS DA HEPATITE B (HBeAg) EM SORO OU PLASMA HUMANO

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO "IN VITRO"
MS n° 80105220045

Fabricado por:
Symbiosis Diagnóstica Ltda. CNPJ: 04.299.232/0001-43
Rua Blazo Vicentini 350/360 - Leme - S.P. 13614-330
Fone: (19) 3554 8621
Responsável Técnico:
Sílvia Maria Melges Duarte - CRF - SP: 15.502

1. Introdução

O antígeno "e" do Vírus da Hepatite B (HBeAg) é muito relacionado com a replicação do HBV e com a presença de partículas que causam infecções no sangue.

HBeAg é um produto proteolítico da degradação do "core" do vírus da hepatite B, que acontece nos hepatócitos.

O HBeAg é considerado um indicador específico de infecção e a presença de anticorpos anti-HBe é considerado como indicador de recuperação da doença para a fase de convalescença.

A detecção destes dois parâmetros é importante para o acompanhamento dos pacientes infectados com HBV, como auxílio na classificação da doença e como indicador prognóstico.

2. Descrição da finalidade

O kit "HBeAg SYM" é um ensaio baseado na técnica de ELISA para a determinação do antígeno "e" do Vírus da Hepatite B em soro ou plasma humano. Para uso Diagnóstico "In Vitro". Para uso somente por profissionais da saúde.

3. Descrição do princípio de ação

Nas cavidades das microplacas sensibilizadas com anticorpo monoclonal anti-HBe purificado, adiciona-se às amostras juntamente com outro anticorpo anti HBe conjugado com peroxidase de rábano.

Durante a incubação o antígeno presente na amostra liga-se ao anticorpo da fase sólida e também ao anticorpo conjugado, formando um complexo.

Após aspiração e lavagem outros componentes da amostra e do conjugado não ligados são removidos.

A atividade enzimática fixada na fase sólida, agindo com a solução cromógeno-substrato, gera um sinal óptico que é proporcional à quantidade de HBeAg presente nas amostras.

A intensidade da cor desenvolvida é medida por meio da leitura espectrofotométrica a 450 nm com referência em 620/630 nm.

Anexo E – Teste HBeAg

4. Reagentes do Kit

Os reagentes são suficientes para 96, 192, 480, 960 determinações.

Configuração	96	192	480	960
Microplaca	1	2	5	10
Controle Negativo	1 frasco 1,2 mL	1 frasco 2,0 mL	1 frasco 4,0 mL	2 frascos 4,0 mL
Controle Positivo	1 frasco 1,2 mL	1 frasco 2,0 mL	1 frasco 4,0 mL	2 frascos 4,0 mL
Conjugado	1 frasco 7,5 mL	1 frasco 15 mL	1 frasco 30 mL	1 frasco 60 mL
Solução Lavagem	1 frasco 30 mL	1 frasco 60 mL	2 frascos 60 mL	3 frascos 60 mL
Cromógeno	1 frasco 6,0 mL	1 frasco 12 mL	1 frasco 30 mL	1 frasco 60 mL
Substrato	1 frasco 6,0 mL	1 frasco 12 mL	1 frasco 30 mL	1 frasco 60 mL
Solução Bloqueadora	1 frasco 6,0 mL	1 frasco 12 mL	1 frasco 30 mL	1 frasco 60 mL

- Microplaca: 12 tiras com 8 cavidades sensibilizadas com anticorpo monoclonal Anti-HBe purificado. Cada microplaca vem dentro de um envelope lacrado e com dessecante. Deixar que as microplacas atinjam a temperatura ambiente antes de abrir o envelope; fechar as tiras não usadas no envelope com o dessecante e armazenar a 2-8°C.

- Controle Negativo: Soro humano não reativo para HBeAg e 0,2mg/mL de sulfato de gentamicina e 0,3% de Kathon GC como conservante. Pronto para uso.

- Controle Positivo: Soro humano reativo para HBeAg e 0,2mg/mL de sulfato de gentamicina e 0,3% de Kathon GC como conservante. Pronto para uso.

- Conjugado: Solução protéica contendo anticorpo IgG anti HBe conjugado com peroxidase de rábano (HRPO). Contém estabilizante de proteína, 0,2mg/mL de sulfato de gentamicina e 0,3% de Kathon GC como conservante. Pronto para uso.

- Solução de Lavagem (concentrada): Tampão PBS-Tween 20 e Kathon como conservante; concentrada 20x. Diluir o conteúdo do frasco antes do uso. (Ver item Preparo de Reagentes) ESTE REAGENTE É COMUM A TODOS OS KITS SYM.

- Cromógeno: Tetrametilbenzidina em solução com ácido cítrico Pronto para uso. Preparar a Solução Cromógeno-Substrato antes do uso. (Ver item Preparo de Reagentes). Nota: conservar protegido da luz.

- Substrato: Solução de Peróxido de Uréia. Pronto para uso. Preparar a Solução Cromógeno-Substrato antes do uso. (Ver item Preparo de Reagentes).

- Solução bloqueadora: H₂SO₄ 1N. Pronto para uso. ESTE REAGENTE É COMUM A TODOS OS KITS SYM

- Etiqueta adesiva para a microplaca.

- Certificado de Análise.

5. Materiais, artigos, acessórios, insumos ou equipamentos necessários e não fornecidos:

- Micropipetas automáticas e ponteiros descartáveis com capacidade 50, 100, 300 e 1000 µL.

- Vidraria graduada.

- Timer (Temporizador).

- Estufa regulável a 37°C ± 1°C.

- Bomba aspiradora ou aparelho automático para lavagem das microplacas.

- Espectrofotômetro de precisão para microplacas, com possibilidade de medida em absorbância no intervalo 0-3,0 A e com comprimento de onda de 450, 405 e 620-630 nm.

- Papel milimetrado

- H₂O destilada.

6. Condições de armazenamento e transporte do produto

- O kit deve ser mantido a 2-8°C.

- Manter as tiras não utilizadas a 2-8°C no envelope da microplaca, seguramente fechado, dessa forma as tiras são estáveis até a data de validade impressa no rótulo.

- Fechar adequadamente os reagentes após o uso e mantê-los a 2-8°C, dessa forma os reagentes que compõem o kit são estáveis até a data de validade

impressa no rótulo.

- Evitar a exposição do cromógeno-substrato à luz.

7. Precauções com o uso do produto

- O kit "HBeAg SYM" é somente para uso diagnóstico "In vitro".

- Não misturar reagentes de lotes ou produtos diferentes.

- Não usar os reagentes depois da data do vencimento.

- Usar vidraria perfeitamente limpa e isenta de contaminações de íons metálicos ou substâncias oxidantes.

- Usar água destilada, conservada em recipientes perfeitamente limpos.

- Evitar contaminações entre amostras e reagentes; para tal fim é aconselhável usar pipetas com ponteiros descartáveis para cada amostra e para cada reagente. Evitar o contato das ponteiros com as bordas das cavidades das microplacas para não ocorrer contaminação cruzada.

- Realizar todas as etapas do procedimento do teste cuidadosamente, a fim de obter resultados confiáveis. Respeitar os tempos de incubação dispensando o cromógeno e a solução bloqueadora em um tempo não superior aos 3-4 minutos; dispensar os dois reagentes na mesma sequência.

- Caso a solução do substrato apresente cor azulada, antes do uso, descarte-a. Viragem inespecífica do substrato pode às vezes acontecer devido à contaminação durante o manuseio.

8. Instruções de Biossegurança

- Os materiais de origem humana utilizados no preparo deste kit foram testados para a presença dos anticorpos anti-HIV, anti-HCV e do HBeAg e resultaram negativos repetidas vezes. De qualquer modo nenhum teste atualmente disponível no mercado garante a ausência dos agentes virais responsáveis pela Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (HIV), Hepatite B e C. Todos os reagentes e todas as amostras de soro humano precisam ser considerados potencialmente infectantes; portanto os descartes da dosagem precisam ser descontaminados e eliminados conforme oportunas regras de segurança.

- Orientações para o descarte dos reagentes: ANVISA RDC 306 Resíduos de Serviço de Saúde - D.O.U. de 10/12/2004.

- Todo reagente e material descartável que for desprezado deve ser encaminhado em seu conteúdo íntegro para coleta de resíduos de serviço de saúde especializado de materiais potencialmente infectantes.

- Todos os resíduos de reagentes e materiais reutilizáveis, provenientes da reação devem ser imersos em solução de hipoclorito de sódio 0,5% por no mínimo 4 horas e enxaguando com água em abundância.

- A solução bloqueadora contém ácido sulfúrico, irritante para os olhos e pele, em caso de contato, lavar abundantemente com água.

- Não pipetar com a boca.

- Não comer, beber ou fumar no laboratório.

- Usar luvas descartáveis e proteger os olhos quando manusear amostras e durante o teste.

- Lavar as mãos quando terminar o procedimento.

9. Orientações sobre os cuidados com a amostra biológica

- A dosagem pode ser realizada usando soro ou plasma.

- As amostras fortemente lipêmicas, ictericas ou hemolizadas podem dar resultados errôneos.

- As amostras podem ser conservadas a 2-8°C por 1-2 dias; para períodos de tempo maiores conservá-las a -20°C. Aconselha-se não congelar e descongelar várias vezes as amostras.

- Evitar a adição de conservante nas amostras, especialmente azida sódica, que inibe a reação enzimática.

10. Preparo de Reagentes

- Solução de Lavagem (concentrada): Diluir o conteúdo do frasco até 600 mL de H₂O destilada. Caso estejam presentes cristais não dissolvidos, suspendê-los outra vez, colocando o frasco em 37°C por alguns minutos. A solução diluída permanece estável por 1 mês em 2-8°C.

- Solução Cromógeno Substrato: Antes do uso preparar uma solução 1+1 de cromógeno e substrato em recipiente limpo. Evitar a exposição direta à luz e usar dentro de uma hora após o preparo. Preparar a quantidade necessária para o teste.

11. Instruções de Lavagem

Um bom procedimento de lavagem é essencial para obtenção de resultados corretos e confiáveis. Recomendamos o uso de uma lavadora de microplacas, com parâmetros padronizados de dispensação e aspiração.

Geralmente são realizados 4 a 5 ciclos de aspiração e dispensação da solução de lavagem, sendo que utiliza-se um volume de aproximadamente 300 µL para cada cavidade por ciclo de lavagem.

Este procedimento realizado corretamente evita resultados falso positivos devido a lavagens inadequadas.

Usando-se este tipo de equipamento, recomendamos realizar um ciclo inicial com água destilada antes de começar a lavagem da placa com a Solução de Lavagem. Se após todos os ciclos houver sobra de solução nas cavidades, verter a placa sobre um papel absorvente e batê-la contra o papel para retirar o excesso do líquido.

Em caso de procedimento manual realizar o procedimento como descrito acima, porém tomando cuidado com as dispensações e aspirações para que estas sejam as mais homogêneas possíveis.

12. Procedimento do Teste

Esperar até que os reagentes e as amostras cheguem a temperatura ambiente. Agitar as amostras por meio de inversão antes de usar.

- Preparar o número de cavidades necessárias para a dosagem de amostras e dos Controles Negativo e Positivo em duplicata e uma cavidade para o Branco.
- Dispensar 50 µL de cada Controle e das Amostras nas cavidades respectivas.
- Adicionar 50 µL de Conjugado em todas as cavidades.
- Cobrir a microplaca com a etiqueta adesiva e agitar delicadamente.
- Incubar por 60 minutos em 37°C.
- Retirar a cobertura adesiva e lavar as cavidades 5 vezes com 300 µL de Solução de Lavagem diluída (ver item Instruções de Lavagem).
- Dispensar 100 µL da Solução Cromógeno-Substrato em todas as cavidades, incluindo aquela do Branco OU dispensar 50 µL de Cromógeno e 50 µL de Substrato em todos os poços, diretamente na placa e agitar delicadamente.
- Incubar por 15 minutos em 37°C, longe da luz muito intensa.
- Adicionar 50 µL de Solução Bloqueadora em todas as cavidades, usando a mesma sequência de dispensação do cromógeno.
- Ler a densidade óptica das soluções a 450nm em um espectrofotômetro de preferência bicromático, com comprimento de onda de referência a 620-630 nm. A leitura deve ser realizada dentro de 30 minutos do fim da dosagem.

13. Procedimentos de cálculos e obtenção dos resultados

Especificações de validação

Controles de validação do teste devem ser feitos cada vez que o kit é usado, para qualificar os resultados.

Controlar que os seguintes critérios sejam respeitados, descontando o valor do Branco:

Critério	DO 450 nm
Branco	< 0,100
Controle Negativo	< 0,100
Controle Positivo	> 0,600

Se apenas uma das replicatas estiver dentro dos critérios de validação, descartar a outra para realização dos cálculos.

Resultados

Se todos os critérios acima foram aceitos, calcular o valor limite (cut-off) somando 0,100 ao valor médio dos Controles Negativos.

Cut-off = média CN + 0,100

Interpretação dos Resultados

Os resultados são interpretados com relação ao valor de DO das amostras e o valor de cut-off (S/CO) de acordo com a seguinte tabela:

S/CO	Interpretação
< 1,0	Não Reagente
1,0 - 1,1	Indeterminado
>1,1	Reagente

O resultado Não Reagente indica que o paciente não possui o antígeno "e" da Hepatite B ou que os níveis não são detectáveis. Todos os pacientes com resultado indeterminado precisam ser testados novamente e uma nova amostra deve ser coletada após duas semanas. O resultado Reagente indica que o paciente possui o antígeno "e" da Hepatite B.

Exemplo de cálculo:

Os valores reportados abaixo devem ser considerados unicamente um exemplo e não devem ser utilizados no lugar dos dados experimentais.

Controle Negativo: média DO 450 = 0,050
 Controle Positivo: média DO 450 = 1,800

Cálculo do cut off: 0,150

Cálculo S/CO amostra 1: 0,080/0,150 = 0,53 negativo
 Cálculo S/CO amostra 2: 1,158/0,150 = 7,72 positivo

14. Características do Produto

Sensibilidade

Asensibilidade analítica do ensaio foi determinada através da média de um Padrão Internacional para o HBeAg de acordo com o Instituto Paul Erlich. O ensaio demonstrou uma sensibilidade ao cut-off em 0,5 PEI U/mL.

A sensibilidade clínica do produto foi determinada testando um painel de 132 amostras positivas com testes aprovados pelo FDA. A sensibilidade clínica foi de 100%.

Especificidade

A especificidade foi determinada testando painéis de amostras negativas, em paralelo com testes disponíveis no mercado, aprovado pelo FDA. Os resultados obtidos mostraram uma especificidade de 99,6%.

TABELA 1

		HBeAg SYM		
		positivo	negativo	total
Teste de referência	positivo	132	0	132
	negativo	1	250	251
	total	133	250	238

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada testando 3 amostras (1 negativa, 1 fracamente positiva e 1 positiva) em 24 replicatas. Foram calculados a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação. Os resultados estão reportados na tabela abaixo:

	Negativa	Positiva Fraca	Positiva
Média	0,034	0,227	3,361
DP	0,0082	0,0130	0,1430
CV %	23,8	5,7	4,2

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada testando 3 amostras (1 negativa, 1 fracamente positiva e 1 positiva) em 5 lotes diferentes. Foram calculados a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação. Os resultados estão reportados na tabela abaixo:

	Negativa	Positiva Fraca	Positiva
Média	0,024	0,343	3,380
DP	0,0046	0,0680	0,1643
CV %	19,3	19,8	4,9

Bibliografia

1. Krugman S., Overby L.R., Mushanwar I.K., Ling C.M., Frosner G.G. and Deinhardt F. Viral Hepatitis, Type B. Studies on Natural History and Prevention Re-examined. N. Engl. J. Med., 300: 101-106, 1979.
2. Magnus L.O., Lindholm A., Lundin P. and Iwarson S. A New Antigen-Antibody System. Clinical Significance in Long-Term Carriers of Hepatitis B Surface Antigen. J. Am. Med. Assoc., 231: 356-359, 1975.
3. Ling C.M., Mushanwar I.K., Overby L.R., Berquist K.R. And Maynard J.E. Hepatitis Be Antigen and its Correlation with Other Serological Markers in Chimpanzees. Infection and Immunity. 24: 352-356, 1979
4. Mushanwar I.K., Overby L.R., Frosner G.G., Deinhardt F. and Ling C.M. Prevalence of HBeAg and its Antibody as Detected by Radioimmunoassays. J. Med. Virol. 2:77-87, 1978.
5. Bonino F., Recchia S., Ponzetto F., Filippine B., Palla M., Zanetti R. and Ferroni P., A Solid-Phase Enzyme Immunoassay (EIA) for Detection of HBeAg and Anti-HBe. J. Immun. Meth., 33: 195-200 (1980).



Anti HBe SYM

96 testes 192 testes 480 testes 960 testes
(Cod.10010) (Cod.10143) (Cod.10144) (Cod.10145)

KIT IMUNOENZIMÁTICO PARA DETERMINAÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA O ANTÍGENO "e" DO VÍRUS DA HEPATITE B (Anti HBe) EM SORO OU PLASMA HUMANO

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO "IN VITRO"
MS n° 80105220044

Fabricado por:
Symbiosis Diagnóstica Ltda. CNPJ: 04.299.232/0001-43
Rua Blazo Vicentin 350/360 - Leme - S.P. 13614-330
Fone: (19) 3554 8621
Responsável Técnico:
Sílvia Maria Melges Duarte - CRF - SP: 15.502

1. Introdução

O antígeno "e" do Vírus da Hepatite B (HBeAg) é muito relacionado com a replicação do HBV e com a presença de partículas que causam infecções no sangue. HBeAg é um produto proteolítico da degradação do "core" do vírus da hepatite B, que acontece nos hepatócitos. O HBeAg é considerado um indicador específico de infeciosidade e a presença de anticorpos anti-HBe é considerado como indicador de recuperação da doença para a fase de convalescença. A detecção destes dois parâmetros é importante para o acompanhamento dos pacientes infectados com HBV, como auxílio na classificação da doença e como indicador prognóstico.

2. Descrição da finalidade

O kit "Anti HBe SYM" é um ensaio baseado na técnica de ELISA para a determinação de anticorpos contra o antígeno "e" do Vírus da Hepatite B em soro ou plasma humano. Para uso Diagnóstico "In Vitro". Para uso apenas por profissionais da saúde.

3. Descrição do princípio de ação

Nas cavidades das microplacas sensibilizadas com antígeno HBe purificado, adiciona-se às amostras e uma solução contendo um anticorpo monoclonal anti-HBe conjugado com peroxidase de rábano. Durante a incubação os anticorpos presentes na amostra competem com o anticorpo conjugado pelo antígeno na fase sólida. Após aspiração e lavagem outros componentes da amostra e do conjugado não ligados são removidos. A atividade enzimática fixada na fase sólida, agindo com a solução cromógeno-substrato, gera um sinal óptico que inversamente proporcional à quantidade de anticorpos anti-HBe presente nas amostras. A intensidade da cor desenvolvida é medida por meio da leitura espectrofotométrica

Anexo F – Teste Anti-HBe

a 450nm com referência em 620/630 nm.

4. Reagentes do Kit

Os reagentes são suficientes para 96, 192, 480, 960 determinações.

Configuração	96	192	480	960
Microplaca	1	2	5	10
Controle Negativo	1 frasco 1,2 mL	1 frasco 2,0 mL	1 frasco 4,0 mL	2 frascos 4,0 mL
Controle Positivo	1 frasco 1,2 mL	1 frasco 2,0 mL	1 frasco 4,0 mL	2 frascos 4,0 mL
Conjugado	1 frasco 7,5 mL	1 frasco 15 mL	1 frasco 30 mL	1 frasco 60 mL
Solução Lavagem	1 frasco 30 mL	1 frasco 60 mL	2 frascos 60 mL	3 frascos 60 mL
Cromógeno	1 frasco 6,0 mL	1 frasco 12 mL	1 frasco 30 mL	1 frasco 60 mL
Substrato	1 frasco 6,0 mL	1 frasco 12 mL	1 frasco 30 mL	1 frasco 60 mL
Solução Bloqueadora	1 frasco 6,0 mL	1 frasco 12 mL	1 frasco 30 mL	1 frasco 60 mL

- **Microplaca:** 12 tiras com 8 cavidades sensibilizadas com antígeno HBe purificado. Cada microplaca vem dentro de um envelope lacrado e com dessecante. Deixar que as microplacas atinjam a temperatura ambiente antes de abrir o envelope; fechar as tiras não usadas no envelope com o dessecante e armazenar a 2-8° C.
- **Controle Negativo:** Soro humano não reativo para Anti HBe e 0,2 mg/mL de sulfato de gentamicina e 0,3% de Kathon GC como conservante. **Pronto para uso.**
- **Controle Positivo:** Soro humano reativo para Anti HBe e 0,2 mg/mL de sulfato de gentamicina e 0,3% de Kathon GC como conservante. **Pronto para uso.**
- **Conjugado:** Solução protéica contendo anticorpo anti-HBe conjugado com peroxidase de rábano (HRPO). Contém estabilizante de proteína, 0,2mg/mL de sulfato de gentamicina e 0,3% de Kathon GC como conservante. **Pronto para uso.**
- **Solução de Lavagem (concentrada):** Tampão PBS-Tween 20 e Kathon como conservante; concentrada 20x. Diluir o conteúdo do frasco antes do uso. (Ver item Preparo de Reagentes) ESTE REAGENTE É COMUM A TODOS OS KITS SYM.
- **Cromógeno:** Tetrametilbenzidina em solução com ácido cítrico **Pronto para uso.** Preparar a Solução Cromógeno-Substrato antes do uso. (Ver item Preparo de Reagentes). Nota: conservar protegido da luz.
- **Substrato:** Solução de Peróxido de Uréia. **Pronto para uso.** Preparar a Solução Cromógeno-Substrato antes do uso. (Ver item Preparo de Reagentes).
- **Solução bloqueadora:** H₂SO₄ 1N. **Pronto para uso.** ESTE REAGENTE É COMUM A TODOS OS KITS SYM
- **Etiqueta adesiva para a microplaca.**
- **Certificado de Análise.**

5. Materiais, artigos, acessórios, insumos ou equipamentos necessários e não fornecidos:

- Micropipetas automáticas e ponteiros descartáveis com capacidade 50, 100, 300 e 1000 µL.
- Vidraria graduada.
- Timer (Temporizador).
- Estufa regulável a 37°C ± 1°C.
- Bomba aspiradora ou aparelho automático para lavagem das microplacas.
- Espectrofotômetro de precisão para microplacas, com possibilidade de medida em absorbância no intervalo 0-3,0 A e com comprimento de onda de 450, 405 e 620-630 nm.
- Papel milimetrado
- H₂O destilada.

6. Condições de armazenamento e transporte do produto

- O kit deve ser mantido a 2-8°C.
- Manter as tiras não utilizadas a 2-8°C no envelope da microplaca, seguramente fechado, dessa forma as tiras são estáveis até a data de validade impressa no rótulo.

- Fechar adequadamente os reagentes após o uso e mantê-los a 2-8°C, dessa forma os reagentes que compõem o kit são estáveis até a data de validade impressa no rótulo.
- Evitar a exposição do cromógeno-substrato à luz.

7. Precauções com o uso do produto

- O kit "Anti HBe SYM" é somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Não misturar reagentes de lotes ou produtos diferentes.
- Não usar os reagentes depois da data do vencimento.
- Usar vidraria perfeitamente limpa e isenta de contaminações de íons metálicos ou substâncias oxidantes.
- Usar água destilada, conservada em recipientes perfeitamente limpos.
- Evitar contaminações entre amostras e reagentes; para tal fim é aconselhável usar pipetas com ponteiros descartáveis para cada amostra e para cada reagente. Evitar o contato das ponteiros com as bordas das cavidades das microplacas para não ocorrer contaminação cruzada.
- Realizar todas as etapas do procedimento do teste cuidadosamente, a fim de obter resultados confiáveis. Respeitar os tempos de incubação dispensando o cromógeno e a solução bloqueadora em um tempo não superior aos 3-4 minutos; dispensar os dois reagentes na mesma sequência.
- Caso a solução do substrato apresente cor azulada, antes do uso, descarte-a. Viragem inespecífica do substrato pode às vezes acontecer devido à contaminação durante o manuseio.

8. Instruções de Biossegurança

- Os materiais de origem humana utilizados no preparo deste kit foram testados para a presença dos anticorpos anti-HIV, anti-HCV e do HBSAg e resultaram negativos repetidas vezes. De qualquer modo nenhum teste atualmente disponível no mercado garante a ausência dos agentes virais responsáveis pela Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (HIV), Hepatite B e C. Todos os reagentes e todas as amostras de soro humano precisam ser considerados potencialmente infectantes; portanto os descartes da dosagem precisam ser descontaminados e eliminados conforme oportunas regras de segurança.
- Orientações para o descarte dos reagentes: ANVISA RDC 306 Resíduos de Serviço de Saúde - D.O.U. de 10/12/2004.
- Todo reagente e material descartável que for desprezado deve ser encaminhado em seu conteúdo íntegro para coleta de resíduos de serviço de saúde especializado de materiais potencialmente infectantes.
- Todos os resíduos de reagentes e materiais reutilizáveis, provenientes da reação devem ser imersos em solução de hipoclorito de sódio 0,5% por no mínimo 4 horas e enxaguando com água em abundância.
- A solução bloqueadora contém ácido sulfúrico, irritante para os olhos e pele, em caso de contato, lavar abundantemente com água.
- Não pipetar com a boca.
- Não comer, beber ou fumar no laboratório.
- Usar luvas descartáveis e proteger os olhos quando manusear amostras e durante o teste.
- Lavar as mãos quando terminar o procedimento.

9. Orientações sobre os cuidados com a amostra biológica

- A dosagem pode ser realizada usando soro ou plasma.
- As amostras fortemente lipêmicas, ictericas ou hemolizadas podem dar resultados errôneos.
- As amostras podem ser conservadas a 2-8°C por 1-2 dias; para períodos de tempo maiores conservá-las a 20°C. Aconselha-se não congelar e descongelar várias vezes as amostras.
- Evitar a adição de conservante nas amostras, especialmente azida sódica, que inibe a reação enzimática.

10. Preparo de Reagentes

- **Solução de Lavagem (concentrada):** Diluir o conteúdo do frasco até 600 mL de H₂O destilada. Caso estejam presentes cristais não dissolvidos, suspênd-los outra vez, colocando o frasco em 37°C por alguns minutos. A solução diluída permanece estável por 1 mês em 2-8°C.
- **Solução Cromógeno Substrato:** Antes do uso preparar uma solução 1+1 de cromógeno e substrato em recipiente limpo. Evitar a exposição direta à luz e usar dentro de uma hora após o preparo. Preparar a quantidade necessária para o teste.

11. Instruções de Lavagem

Um bom procedimento de lavagem é essencial para obtenção de resultados corretos e confiáveis. Recomendamos o uso de uma lavadora de microplacas, com parâmetros padronizados de dispensação e aspiração.

Geralmente são realizados 4 a 5 ciclos de aspiração e dispensação da solução de lavagem, sendo que utiliza-se um volume de aproximadamente 300 µL para cada cavidade por ciclo de lavagem.

Este procedimento realizado corretamente evita resultados falso positivos devido a lavagens inadequadas.

Usando-se este tipo de equipamento, recomendamos realizar um ciclo inicial com água destilada antes de começar a lavagem da placa com a Solução de Lavagem. Se após todos os ciclos houver sobra de solução nas cavidades, verter a placa sobre um papel absorvente e batê-la contra o papel para retirar o excesso do líquido.

Em caso de procedimento manual realizar o procedimento como descrito acima, porém tomando cuidado com as dispensações e aspirações para que estas sejam as mais homogêneas possíveis.

12. Procedimento do Teste

Esperar até que os reagentes e as amostras cheguem a temperatura ambiente.

Agitar as amostras por meio de inversão antes de usar.

- Preparar o número de cavidades necessárias para a dosagem de amostras e dos Controles Negativo e Positivo em duplicata e uma cavidade para o Branco.
- Dispensar 50 µL de cada Controle e das Amostras nas cavidades respectivas.
- Adicionar 50 µL de Conjugado em todas as cavidades.
- Cobrir a microplaca com a etiqueta adesiva e agitar delicadamente.
- Incubar por 30 minutos em 37°C.
- Retirar a cobertura adesiva e lavar as cavidades 5 vezes com 300 µL da Solução de Lavagem diluída (ver item Instruções de Lavagem).
- Dispensar 100 µL da Solução Cromógeno Substrato em todas as cavidades, incluindo aquela do Branco OU dispensar 50 µL de Cromógeno e 50 µL de Substrato em todos os poços, diretamente na placa e agitar delicadamente.
- Incubar por 10 minutos em temperatura ambiente longe da luz muito intensa.
- Adicionar 50 µL de Solução Bloqueadora em todas as cavidades, usando a mesma sequência de dispensação do cromógeno.
- Ler a densidade óptica das soluções a 450nm em um espectrofotômetro de preferência bicromático, com comprimento de onda de referência a 620-630 nm. A leitura deve ser realizada dentro de 30 minutos do fim da dosagem.

13. Procedimentos de cálculos e obtenção dos resultados

Especificações de validação

Controles de validação do teste devem ser feitos cada vez que o kit é usado, para qualificar os resultados.

Controlar que os seguintes critérios sejam respeitados, descontando o valor do Branco:

Critério	DO 450 nm
Branco	< 0,100
Controle Negativo	> 0,800
Controle Positivo	< 0,100

Se apenas uma das replicatas estiver dentro dos critérios de validação, descartar a outra para relaxação dos cálculos.

Resultados

Se os critérios acima foram aceitos, calcular o valor limite (cut-off) que é igual a média dos Controles Negativos divididos por três.

$$\text{Cut-off} = \frac{\text{Média CN}}{3}$$

Interpretação dos Resultados

Os resultados são interpretados com relação ao valor de DO das amostras e o valor de cut-off (S/CO) de acordo com a seguinte tabela:

S/CO	Interpretação
> 1,1	Não Reagente
1,0 - 1,1	Indeterminado
< 1,0	Reagente

O resultado Não Reagente indica que o paciente não possui anticorpos Anti HBe da Hepatite B ou que os níveis não são detectáveis.

Todos os pacientes com resultado indeterminado precisam ser testados novamente e uma nova amostra deve ser coletada após duas semanas.

O resultado Reagente indica que o paciente possui anticorpos Anti HBe da Hepatite B.

Exemplo de cálculo:

Os valores reportados abaixo devem ser considerados unicamente um exemplo e não devem ser utilizados no lugar dos dados experimentais.

Controle Negativo: média DO 450 = 1,800

Cálculo do cut off: $1,800/3 = 0,600$

Cálculo S/CO amostra 1: $0,128/0,600 = 0,21$ positivo

Cálculo S/CO amostra 2: $1,680/0,600 = 2,80$ negativo

14. Características do Produto

Sensibilidade

A sensibilidade do ensaio foi determinada através da média de um Padrão Internacional para o anti-HBe de acordo com o Instituto Paul Erlich. O ensaio demonstrou uma sensibilidade ao cut-off cerca de 0,25 PEIU/mL.

A sensibilidade clínica do produto foi determinada testando um painel de 291 amostras positivas com testes aprovados pelo FDA. A sensibilidade clínica foi de 100%.

Especificidade

A especificidade foi determinada testando painéis de amostras negativas, em paralelo com testes disponíveis no mercado, aprovado pelo FDA. Os resultados obtidos mostraram uma especificidade de 100%.

		Anti HBe SYM		
		Positivo	Negativo	Total
Referência:	Positivo	291	0	291
	Negativo	0	205	205
	Total	291	205	496

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada testando 3 amostras (1 negativa, 1 fracamente positiva e 1 positiva) em 24 replicatas. Foram calculados a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação. Os resultados estão reportados na tabela abaixo:

	Negativa	Positiva Fraca	Positiva
Média	3,020	0,377	0,045
DP	0,223	0,018	0,007
CV %	7,4	4,7	15,8

Repetitividade

A reprodutibilidade foi calculada testando 3 amostras (1 negativa, 1 fracamente positiva e 1 positiva) em 5 lotes diferentes. Foram calculados a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação. Os resultados estão reportados na tabela abaixo:

	Negativa	Positiva Fraca	Positiva
Média	3,328	0,134	0,050
DP	0,1143	0,0123	0,0121
CV %	3,4	9,1	24,3

GARANTIA

Este produto tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Controle de Qualidade da Symbiosis Diagnóstica Ltda de que não houve falhas técnicas na execução, manuseio do teste e na conservação do produto.

Bibliografia

1. Krugman S., Overby L.R., Mushanwar I.K., Ling C.M., Frosner G.G. and Deinhardt F. Viral Hepatitis, Type B. Studies on Natural History and Prevention Re-examined. N. Engl. J. Med., 300: 101-106, 1979.
2. Magnus L.O., Lindholm A., Lundin P. and Iwarson S. A New Antigen-Antibody System. Clinical Significance in Long-Term Carriers of Hepatitis B Surface Antigen. J. Am. Med. Assoc., 231: 356-359, 1975.
3. Ling C.M., Mushanwar I.K., Overby L.R., Berquist K.R. and Maynard J.E. Hepatitis B Antigen and its Correlation with Other Serological Markers in Chimpanzees. Infection and Immunity, 24: 352-356, 1979.
4. Mushanwar I.K., Overby L.R., Frosner G.G., Deinhardt F. and Ling C.M. Prevalence of HBeAg and Its Antibody as Detected by Radioimmunoassays. J. Med. Virol., 2: 77-87, 1978.
5. Bonino F., Recchia S., Ponzetto M., Filippine B., Palla M., Zanetti R. and Ferroni P. A Solid-Phase Enzyme Immunoassay (EIA) for Detection of HBeAg and Anti-HBe. J. Immun. Meth., 33: 195-200 (1980).

Anexo G - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Epidemiologia das IST/HIV/AIDS, hepatites virais e avaliação da imunogenicidade da vacina contra hepatite B monovalente em indivíduos com 40 anos ou mais

Pesquisador: Karlla Antonieta Amorim Caetano

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 68546917.3.0000.5083

Instituição Proponente: Universidade Federal de Goiás - UFG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.928.329

Apresentação do Projeto:

Esta é uma proposta de investigar a epidemiologia das hepatites virais B e C, HIV/aids e sífilis em um estudo de corte transversal seguido de um ensaio clínico que irá avaliar a imunogenicidade da vacina contra hepatite B em indivíduos com idade de 40 anos acima.

O projeto foi aprovado por este CEP, e os pesquisadores entraram com pedido de emenda onde apresentam justificativas para alterações a cerca do objetivo, metodologia e no título do projeto.

Na nova versão do projeto a população será constituída de indivíduos adultos saudáveis residentes em Goiandira-GO, e em Goiânia-GO para comparação da situação epidemiológica das IST entre grandes cidades e pequenos municípios interioranos do Brasil. Cerca de 750 pessoas irão compor a amostra do estudo transversal e destes indivíduos: 120 formarão o grupo de intervenção (dose reforçada) e 120 para o grupo controle (dose padrão) do ensaio clínico. Os critérios de inclusão para o estudo transversal é possuir idade 40 anos, e para o ensaio clínico, aqueles que apresentarem idade igual ou superior a 50 anos e que não exibam registro de vacinação prévia contra hepatite B. Indivíduos portadores de insuficiência renal crônica, câncer e aids, em uso de corticosteroide serão excluídos do estudo.

No município de Goiandira-GO, a coleta de dados já foi realizada por meio de uma campanha de

Endereço: Alameda Flamboyant, Od. K, Edifício K2 - Agência UFG de Inovação
Bairro: Campus Samambaia, UFG **CEP:** 74.690-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpi.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.928.329

saúde promovida para todos os participantes elegíveis do estudo. Em Goiânia-GO, será realizada uma investigação de possíveis unidades públicas de saúde que desenvolvem atividades para grupos de adultos mais velhos e em casas de abrigos e locais de convivência de idosos.

Aos participantes elegíveis do estudo será solicitada a autorização para participação no projeto e assinatura do TCLE e realizadas entrevistas utilizando-se um formulário impresso, por meio de três instrumentos de coleta de dados contendo perguntas sobre características sociodemográficas e comportamentos de risco para hepatites virais B e C, HIV/aids e sífilis. Será realizada coleta de sangue por veia periférica para a realização da sorologia para as infecções hepatites virais B e C, HIV/aids e sífilis. Aqueles que relataram nunca ter recebido a vacina contra hepatite B serão vacinados com dose convencional ou dose reforçada.

Os pesquisadores referenciam estudos que apontam uma diminuição na eficácia de vacina em indivíduos maiores que 50 anos e reportam dosagens especiais utilizadas no Brasil com esquema reforçado (dose dobrada) de vacina contra hepatite B em indivíduos imunossuprimidos e em renais crônicos na busca de resposta imune satisfatória. Relatam que o Programa Nacional de Imunização, distribui vacinas contra hepatite B (recombinante) comparáveis imunologicamente e intercambiáveis e que a vacina monovalente disponibilizada atualmente é a "Hepatites vaccine (rDNA)", produzida pelo "Serum Institute of India" e utiliza como sistema de expressão para obtenção do HBsAg recombinante a levedura *Hansenula polymorpha*, o mesmo utilizado para a produção da vacina brasileira contra hepatite B, de uso descontinuado no Brasil.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Investigar a epidemiologia das hepatites virais B e C, HIV/aids e sífilis, em indivíduos com idade 40 anos e, avaliar a imunogenicidade da vacina contra hepatite B, expressa em *Hansenula Polymorpha*, em indivíduos com idade 50 anos em Goiás.

Objetivo Secundário:

- Descrever as características sociodemográficas dos indivíduos com idade 40 anos;
- Estimar a prevalência das hepatites B e C, HIV/aids e sífilis em indivíduos com idade 40 anos;

Endereço: Alameda Flamboyant, Qd. K, Edifício K2 - Agência UFG de Inovação
Bairro: Campus Samambaia, UFG **CEP:** 74.690-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpi.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.928.329

- Analisar potenciais fatores de risco para estas infecções;
- Detectar o consumo de álcool por meio da aplicação da escala Alcohol Use Disorder Identification Test (AUDIT);
- Avaliar o (des)conhecimento sobre as IST/HIV e hepatites virais;
- Comparar a imunogenicidade da vacina contra hepatite B expressa em *Hansenula Polymorpha*, em indivíduos com idade 50 anos, utilizando dois esquemas vacinais.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos da participação no estudo são desconfortos físicos referentes à coleta de sangue (hematoma) e sentir-se incomodado em responder algumas perguntas de sua intimidade. Em relação à vacina contra hepatite B, os pesquisadores afirmam que o grupo experimental que irá receber a dose reforçada, concentração maior do que a convencional, não terá nenhum prejuízo da saúde e nenhuma contraindicação, pois, a vacina é administrada em diversos grupos específicos pelo Ministério da Saúde. Assim, descrevem possíveis efeitos adversos como manifestações locais: dor (3–29%) e enduração/ rubor (0,2–17%), febre, reações de hipersensibilidade e outros sinais e sintomas conhecidos como efeitos adversos à vacina, bem como eventos raros. Em caso de reações adversas à vacina, o participante será encaminhado para atendimento em órgão de saúde público de referência para estas situações.

São descritos benefícios indiretos sobre a prevalência dos vírus da hepatite B e C, além do HIV e sífilis na população acima de 40 anos que fornecerá informações para elaboração de medidas educativas preventivas que contribuirão para a melhoria da qualidade de vida desse grupo populacional. E benefícios diretos, como o tratamento e ao acompanhamento imediato no caso de sorologia positiva para esta infecção; a vacinação e informações sobre estado imunológico após a sorologia e informações em educação em saúde.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Os pesquisadores apresentaram as seguintes justificativas e alterações a este projeto de pesquisa:

1. Alteração no tipo de vacina e esquema vacinal contra hepatite B a ser utilizada no ensaio clínico: O estudo foi proposto inicialmente para uma investigação epidemiológica que contemplasse um desenho transversal, com o objetivo de investigar a epidemiologia das hepatites virais B e C, HIV/aids e sífilis em indivíduos com idade igual ou acima a 40 anos de uma cidade do sudeste de

Endereço: Alameda Flamboyant, Qd. K, Edifício K2 - Agência UFG de Inovação
Bairro: Campus Samambaia, UFG **CEP:** 74.690-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpi.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.928.329

Goiás e também a realização de um ensaio clínico, com o objetivo de comparar a imunogenicidade da vacina brasileira contra hepatite B (VrHB-IB) em indivíduos com idade 40 anos, utilizando três esquemas vacinais em indivíduos acima de 40 anos.

Justificativa apresentada: “atualmente esta vacina brasileira contra hepatite B (VrHB-IB) não está mais sendo produzida pelo Instituto Butantan e não existe estoque no Brasil para a realização do estudo. Assim, esta vacina será substituída pela vacina contra hepatite B monovalente (“Hepatites vaccine- rDNA”), produzida pelo (“Serum Institute of India) atualmente disponibilizada na rede pública de saúde pelo Programa Nacional de Imunização do Ministério da Saúde. A alteração do esquema de intervenção proposta passará de 3 esquemas vacinais e uso da vacina EngerixB na proposta inicial para uma amostra de indivíduos distribuídos em dois grupos: grupo de intervenção, que receberá o esquema reforçado – três doses de 40 g; 2mL, e um grupo de controle, que receberá o esquema tradicional – três doses de 20 g; 1 mL.

2. Alteração no critério de inclusão de participantes do ensaio clínico: Foi informada a alteração no critério de inclusão para o recrutamento de participantes no ensaio clínico. A proposta inicial era desenvolver este projeto de vacinação com indivíduos de idade igual ou acima de 40 anos.

A nova proposta incluiu indivíduos com idade igual ou acima de 50 anos, para avaliar a imunogenicidade da vacina monovalente contra hepatite B em Goiás. Destacam que permanece INALTERADO a proposta de idade para inclusão no delineamento transversal deste estudo: 40 anos ou mais de idade.

3. Ampliação da área geográfica para recrutamento dos participantes do estudo transversal e ensaio clínico: Os pesquisadores relatam que 77 indivíduos foram incluídos no ensaio clínico e aproximadamente 430 indivíduos compuseram a amostra do estudo transversal, em Goiandira-GO, sudoeste do estado de Goiás. Porém os mesmos consideram relevante a comparação da situação epidemiológica das IST entre grandes cidades e pequenos municípios interioranos e, portanto, solicitam a ampliação do estudo para o município de Goiânia-GO, justificado na necessidade de alcance do número amostral estimado pelo estudo.

4. Alteração no título do projeto para Epidemiologia das IST/HIV/AIDS, hepatites virais e avaliação da imunogenicidade da vacina contra hepatite B monovalente em indivíduos com 40 anos ou mais. Justificado pela substituição da vacina que era mencionada no título primeiramente proposto. 5.

Endereço: Alameda Flamboyant, Qd. K, Edifício K2 - Agência UFG de Inovação
Bairro: Campus Samambaia, UFG **CEP:** 74.690-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpi.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.928.329

Alteração da vigência do projeto: cronograma de 18/05/2017 a 01/07/2019, para vigência de 18/05/2017 a 01/12/2022. Os pesquisadores apresentaram declaração de comprometimento para a apresentação das respectivas cartas/termos de anuência e autorizações a este Comitê antecipadamente a coleta de dados.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentos apresentados à emenda:

Formulário de informações básicas e justificativa

TCLE com as alterações

Declaração de compromisso

Projeto de pesquisa com alterações

Carta Ementa ao CEP

Cronograma com alteração de vigência do projeto

Carta de que não iniciou a pesquisa no aguardo da aprovação por este Comitê

TCLE corrigido inclusão para encaminhamento de casos de reações adversas

Carta anuência SMS - Goiânia

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Este Parecer é pela Aprovação deste protocolo de pesquisa, SMJ deste comitê.

Considerações Finais a critério do CEP:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa/CEP-UFG considera o presente protocolo APROVADO, o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes. Reiteramos a importância deste Parecer Consubstanciado, e lembramos que o(a) pesquisador(a) responsável deverá encaminhar ao CEP-UFG o Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Resolução CNS n. 466/12. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	TCLE_corrigido.docx	28/09/2018 15:36:39	João Batista de Souza	Aceito

Endereço: Alameda Flamboyant, Qd. K, Edifício K2 - Agência UFG de Inovação
Bairro: Campus Samambaia, UFG **CEP:** 74.690-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpi.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.928.329

Outros	nao_iniciou.pdf	28/09/2018 15:36:17	João Batista de Souza	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1220060_E2.pdf	13/09/2018 10:57:27		Aceito
Declaração de Pesquisadores	ADENDOCartaCEPSMS.pdf	13/09/2018 10:56:15	Karlla Antonieta Amorim Caetano	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CartaAnuenciaSMSGoiania.pdf	13/09/2018 10:55:37	Karlla Antonieta Amorim Caetano	Aceito
Declaração de Pesquisadores	ADENDOCartaCEP.pdf	30/07/2018 22:57:25	Karlla Antonieta Amorim Caetano	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ADENDOProjetoVacHepBGoiandiraGoiania.pdf	30/07/2018 22:49:51	Karlla Antonieta Amorim Caetano	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	ADENDOVacHepGoianiaTCLE.pdf	30/07/2018 22:49:28	Karlla Antonieta Amorim Caetano	Aceito
Declaração de Pesquisadores	ADENDOTermoPesquisadorVacinaHepB.pdf	30/07/2018 22:49:05	Karlla Antonieta Amorim Caetano	Aceito
Cronograma	ADENDOCronogramaVacHepGoiandiraGoiania.pdf	30/07/2018 22:48:32	Karlla Antonieta Amorim Caetano	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	RespostaCEPgoiandira.pdf	09/07/2017 18:33:02	Karlla Antonieta Amorim Caetano	Aceito
Orçamento	orcamentoGOI.pdf	18/05/2017 21:19:44	Karlla Antonieta Amorim Caetano	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	questionarioconhecimentoGOI.pdf	18/05/2017 21:14:29	Karlla Antonieta Amorim Caetano	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	questionarioGOI.pdf	18/05/2017 21:13:42	Karlla Antonieta Amorim Caetano	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	questionarioauditGOI.pdf	18/05/2017 21:11:34	Karlla Antonieta Amorim Caetano	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	termodeanuenciaGOI.pdf	18/05/2017 19:40:09	Karlla Antonieta Amorim Caetano	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CDGoiandira.pdf	18/05/2017 18:42:32	Karlla Antonieta Amorim Caetano	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermodecompromissoGOI1.pdf	18/05/2017 18:41:38	Karlla Antonieta Amorim Caetano	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermodecompromissoGOI.pdf	18/05/2017 18:41:26	Karlla Antonieta Amorim Caetano	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoGOI.pdf	18/05/2017 16:30:54	Karlla Antonieta Amorim Caetano	Aceito

Endereço: Alameda Flamboyant, Qd. K, Edifício K2 - Agência UFG de Inovação
Bairro: Campus Samambaia, UFG **CEP:** 74.690-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpi.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.928.329

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

GOIANIA, 01 de Outubro de 2018

Assinado por:
João Batista de Souza
(Coordenador(a))

Endereço: Alameda Flamboyant, Qd. K, Edifício K2 - Agência UFG de Inovação
Bairro: Campus Samambaia, UFG **CEP:** 74.690-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpi.ufg@gmail.com