



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL
E SAÚDE PÚBLICA**

BRUNNA RODRIGUES DE OLIVEIRA

**Rastreamento Sorológico da Infecção pelo Vírus da Hepatite C em
Cortadores de Cana-de-açúcar nos Estados de Goiás e Paraíba**

**Goiânia
2019**

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

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

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

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

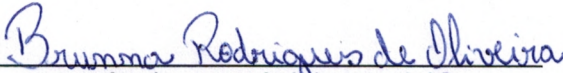
Nome completo do autor: Brunna Rodrigues de Oliveira

Título do trabalho: Rastreamento Sorológico da Infecção pelo Vírus da Hepatite C em Cortadores de Cana-de-açúcar nos Estados de Goiás e Paraíba

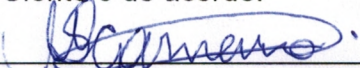
3. Informações de acesso ao documento:

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 do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:


Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 01/04/2019

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.

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

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

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

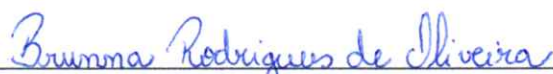
Nome completo do autor: Brunna Rodrigues de Oliveira

Título do trabalho: Rastreamento Sorológico da Infecção pelo Vírus da Hepatite C em Cortadores de Cana-de-açúcar nos Estados de Goiás e Paraíba

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 do (a) autor (a) ²

Data: 10/10/2022

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.

²A assinatura deve ser escaneada.

BRUNNA RODRIGUES DE OLIVEIRA

**Rastreamento Sorológico da Infecção pelo Vírus da Hepatite C em
Cortadores de Cana-de-açúcar nos Estados de Goiás e Paraíba**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Mestre em Medicina Tropical e Saúde Pública.

Orientador(a): Professora Doutora Megmar Aparecida dos Santos Carneiro.

Este trabalho foi realizado com auxílio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)
Edital universal/2014 Processo: 442404/2014-0

**Goiânia
2019**

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

Oliveira, Brunna Rodrigues de
Rastreamento Sorológico da Infecção pelo Vírus da Hepatite C em Cortadores de Cana-de-açúcar nos Estados de Goiás e Paraíba [manuscrito] / Brunna Rodrigues de Oliveira. - 2019.
xiii, 75 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Megmar Aparecida dos Santos Carneiro.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), Programa de Pós Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública, Goiânia, 2019.
Bibliografia. Anexos.

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

1. Cortadores de cana-de-açúcar. 2. HCV. 3. Rastreamento sorológico. I. Carneiro, Megmar Aparecida dos Santos, orient. II. Título.

CDU 579



ATA DA REUNIÃO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE BRUNNA RODRIGUES DE OLIVEIRA – Aos vinte e dois dias do mês de fevereiro do ano de 2019 (22/02/2019), às 09:00 horas, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: Profas. Dras. MEGMAR APARECIDA DOS SANTOS CARNEIRO, REGINA MARIA BRINGEL MARTINS e SHEILA ARAÚJO TELES, para, sob a presidência da primeira, e em sessão pública realizada no INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA, procederem à avaliação da defesa de dissertação intitulada: **“SOROPREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE C EM CORTADORES DE CANA-DE-AÇÚCAR NOS ESTADOS DE GOIÁS E PARAÍBA”**, em nível de **MESTRADO**, área de concentração em **MICROBIOLOGIA**, de autoria de **BRUNNA RODRIGUES DE OLIVEIRA**, discente do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA, da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pela Orientadora, Profa. Dra. **MEGMAR APARECIDA DOS SANTOS CARNEIRO**, que fez a apresentação formal dos membros da Banca e orientou a Candidata sobre como utilizar o tempo durante a apresentação de seu trabalho. A palavra a seguir, foi concedida a autora da dissertação que, em 30 minutos procedeu à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da Banca arguiu a Candidata, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da defesa. Tendo-se em vista o que consta na Resolução nº. 1481/2017 do Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura (CEPEC), que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública a Banca, em sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando a candidata **Aprovada** ou **Reprovada**:

Banca Examinadora

Profa. Dra. Megmar Aparecida dos Santos Carneiro

Profa. Dra. Regina Maria Bringel Martins

Profa. Dra. Sheila Araújo Teles

Aprovada / Reprovada

Aprovada
Aprovada
Aprovada

Em face do resultado obtido, a Banca Examinadora considerou a candidata Habilitada, (**Habilitada ou não Habilitada**), cumprindo todos os requisitos para fins de obtenção do título de **MESTRE EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA**, na área de concentração em **MICROBIOLOGIA**, pela Universidade Federal de Goiás. Cumpridas as formalidades de pauta, às 30 h 45 min, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de dissertação e para constar eu, POLLYANA REZENDE AQUINO, secretária do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública lavrei a presente Ata que depois de lida e aprovada, será assinada pelos membros da Banca Examinadora e por mim em duas vias de igual teor.

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

Estudo sorológico da infecção pelo vírus da hepatite C em cortadores de cana-de-açúcar nos estados de Goiás e Paraíba

Assinatura

Profa. Dra. Megmar Aparecida dos Santos Carneiro (IPTSP/UFG)

Profa. Dra. Regina Maria Bringel Martins (IPTSP/UFG)

Profa. Dra. Sheila Araújo Teles (FEN/UFG)

Secretário da Pós-Graduação:

Megmar
Regina
Sheila
Pollyana Rezende Aquino

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus, meu Senhor e Salvador, por me conceder infinito amor, graça e misericórdia. E por ter colocado em meu caminho pessoas extraordinárias que me apoiaram durante essa jornada.

À minha família, minha mãe Ilda Oliveira, meu pai Vanderlei de Oliveira e minha irmã Taynnara Oliveira por todo apoio, carinho e compreensão. Vocês são o maior presente que Deus me deu.

À minha orientadora e segunda mãe, Profa Dra. Megmar Aparecida dos Santos Carneiro. Obrigada por acreditar e confiar em mim, o seu apoio é essencial na minha vida. Às Professoras Doutoras Regina Maria Bringel Martins, Sheila Araújo Teles e Fabíola Souza Fiaccadori por todos os ensinamentos e auxílio na construção deste trabalho, e participação nas bancas de qualificação e defesa. Vocês são grandes exemplos de dedicação e profissionalismo.

Às Professoras Doutoras Márcia Alves Dias de Matos, Menira Borges de Lima Dias e Souza, Marcelle Figueira Marques da Silva e Karlla Antonieta Caetano Amorim. Obrigada por compartilhar o conhecimento de vocês para contribuir com o meu conhecimento.

A todos os integrantes novos e antigos do Laboratório de Virologia IPTSP/UFG, do NECAIH da FEN/UFG e aos amigos que estiveram comigo durante esta jornada. A cooperação e amizade de vocês foi imprescindível na realização deste trabalho. Vocês são parte da minha família.

A todos os colaboradores da Universidade Federal da Paraíba pelas contribuições para a concretização deste estudo.

A todos os Cortadores de cana-de-açúcar participantes desta investigação. Meu sincero agradecimento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento deste trabalho e pela bolsa de mestrado concedida.

Obrigada a todos que auxiliaram na construção e realização deste estudo. Vocês tem minha gratidão.

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS	vi
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE ANEXOS.....	ix
SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS	x
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO / REVISÃO DA LITERATURA.....	1
1.1 Considerações Iniciais	1
1.2 O Vírus da Hepatite C.....	1
1.3 Variabilidade do HCV	6
1.4 Aspectos Clínicos da Hepatite C	7
1.5 Diagnóstico da infecção pelo vírus da Hepatite C.....	9
1.6 Tratamento da Hepatite C	13
1.7 Aspectos Epidemiológicos da Infecção pelo HCV.....	14
1.7.1 Transmissão	14
1.7.2 Epidemiologia.....	15
1.8 Prevenção da Hepatite C.....	17
1.9 Cortadores de Cana-de-açúcar	17
2. JUSTIFICATIVA	20
3. OBJETIVOS	21
3.1 Objetivo Geral.....	21
3.2 Objetivos Específicos	21
4. MÉTODOS	22
4.1 Delineamento e Local	22
4.2 Recrutamento e Critérios de Inclusão e Exclusão	22
4.3 Coleta de Dados e Amostras de Sangue	23

4.4 Testes Sorológicos	26
5. RESULTADOS	28
5.1 Características Sociodemográficas dos Cortadores de Cana-de-açúcar	28
5.2 Detecção de Anti-HCV	30
5.2.1 Triagem por Testes Rápidos	30
5.2.2 Testagem por ELISA	30
5.3 Características de risco dos cortadores de cana-de-açúcar localizados em Goiás e Santa Rita-PB.....	31
6. DISCUSSÃO	33
7. CONCLUSÕES	38
REFERÊNCIAS.....	39
ANEXOS	50

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Prevalência da infecção pelo HCV em populações rurais do Brasil e de outros países.....	19
Quadro 2. Características técnicas dos dois testes rápidos utilizados para triagem do anti-HCV.....	26
Quadro 3. Características dos kits de ELISA comerciais utilizados na pesquisa.....	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características sociodemográficas de 937 cortadores de cana em Goiás e Paraíba	29
Tabela 2. Detecção de anti-HCV por Testes rápidos Alere HCV e Imuno-Rápido HCV.	30
Tabela 3. Variáveis de risco relatadas pelos cortadores de cana estudados.	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema da estrutura do HCV	2
Figura 2 - Esquema do genoma e proteínas do vírus da hepatite C.....	3
Figura 3 - Genótipos e subtipos do vírus da hepatite C	7
Figura 4 - Perfil sorológico da hepatite C aguda	9
Figura 5 - Perfil sorológico da hepatite C crônica	10
Figura 6 - Distribuição mundial da prevalência do anti-HCV	16
Figura 7 - Entrevista aos cortadores de cana-de-açúcar manual.....	23
Figura 8 - Realização dos testes rápidos para HIV, Sífilis e Hepatites B e C	24
Figura 9 - Entrega do resultado dos testes rápidos e aconselhamento pós-teste individual.	24
Figura 10 - Fluxograma do estudo.....	25

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 - Parecer do Comitê de Ética.....	50
Anexo 2 - TCLE	55
Anexo 3 - Artigo publicado	58
Anexo 4 – Bula Teste Rápido Alere HCV (Standard Diagnostics Inc, Coréia do Sul)..	59
Anexo 5 - Bula Teste Rápido Imuno-rápido HCV (WAMA Diagnóstica, Brasil).....	61
Anexo 6 - Bula Bioelisa HCV 4.0 (Biokit S.A - Espanha).....	Erro! Indicador não definido.
Anexo 7 - Bula Symbiosys HCV (Symbiosys Diagnóstica - Brasil)	Erro! Indicador não definido.
Anexo 8 - Questionário Cortadores de cana	Erro! Indicador não definido.

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

aa: aminoácido

ALT: Alanina aminotransferase

Apo: Apoproteína

AST: Aspartato aminotransferase

CTA: Centro de testagem e aconselhamento

DNA: Ácido desoxirribonucleico

dp: Desvio Padrão

DO: Densidade óptica

ELISA: Ensaio imunoenzimático

HAV: Vírus da hepatite A

HBV: Vírus da hepatite B

HCV: Vírus da hepatite C

HIV: Vírus da imunodeficiência humana

HVR: Região hipervariável

IC: Intervalo de confiança

IFN: Inteferon

IgG: Imunoglobulina G

IgM: Imunoglobulina M

IPTSP: Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública

IRES: Sítio de entrada interno para ribossomos

LDL: Lipoproteína de baixa densidade

LIA: *line immunoassay* - imunoensaio de linha

LVP: Partículas lipovirais

NANBH: Hepatite não-A não-B

NC: Não codificante

nt: nucleotídeo

OMS: Organização Mundial de Saúde

ORF: Região de leitura aberta

PCDT: Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas

PCR: Reação em cadeia pela polimerase

RE: Retículo endoplasmático

RIBA: *recombinant immunoblot assay* - ensaio de imunotransferência recombinante

RNA: Ácido ribonucleico

SL: *Stem loops* - Laços de haste

TCLE: Termo de consentimento livre e esclarecido

TMA: *Transcription Mediated Amplification* - Amplificação Mediada por Transcrição

TR: Teste rápido

UFG: Universidade Federal de Goiás

UTM: Unidade de testagem móvel

RESUMO

Rastreamento Sorológico da Infecção pelo Vírus da Hepatite C em Cortadores de Cana-de-açúcar nos Estados de Goiás e Paraíba

Introdução: A infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) é considerada um importante problema para a saúde pública global, com aproximadamente 71 milhões de pessoas cronicamente infectadas em todo o mundo, sendo uma das principais causas de cirrose e hepatocarcinoma. A Organização Mundial de Saúde (OMS) definiu como meta para 2030 a eliminação das hepatites virais como problema de saúde pública. Para tanto é necessário rastrear essas infecções em todas as populações. Cortadores de cana-de-açúcar são uma população de trabalhadores sazonais, de difícil acesso aos serviços de saúde, os quais inexistem informações sobre hepatite C. **Objetivo:** Este estudo teve como objetivo realizar o rastreamento sorológico da infecção pelo vírus da hepatite C em cortadores de cana em Goiás e Paraíba. **Métodos:** A população foi constituída de 937 cortadores de cana-de-açúcar, 636 em Goiás e 301 em Santa Rita-PB. Todos os cortadores foram convidados a participar do estudo, e aqueles que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, foram entrevistados utilizando questionário padronizado. Em seguida, coletou-se amostras sanguíneas que foram triadas para anti-HCV por testes rápidos e ELISA. Os dados foram analisados no programa estatístico SPSS version 17.0 for Windows. **Resultados:** A população foi constituída de indivíduos do sexo masculino (100%), com a média de idade de 35,4 anos. Em relação a escolaridade, 47,4% relataram ter até quatro anos de estudo e a renda familiar mensal de 78,8% dos participantes era inferior a 2.000,00 reais. Após a triagem para anti-HCV por teste rápido e ELISA, verificou-se que nenhum indivíduo foi exposto ao HCV. As características de risco para potencial disseminação viral relatado pelos cortadores de cana foram tatuagem/piercing, compartilhamento de material de uso pessoal e uso de drogas não injetáveis. Os testes rápidos possuem uma alta sensibilidade ao anti-HCV, portanto são apropriados e viáveis para populações de difícil acesso, como cortadores de cana e outros seguimentos populacionais. **Conclusão:** O presente estudo mostrou que não houve exposição ao HCV nos cortadores de cana-de-açúcar das regiões de Goiás e Santa Rita-PB. Para o alcance da meta da OMS de eliminação das hepatites virais como problema de saúde pública, é importante que mais investigações sobre prevalência do HCV sejam realizadas, principalmente em grupos de difícil acesso ao sistema de saúde.

Palavras-chave: cortadores de cana-de-açúcar, HCV, rastreamento sorológico.

ABSTRACT

Serological Screening of Infection by Hepatitis C Virus in Sugarcane Cutters in the States of Goiás and Paraíba

Introduction: Hepatitis C virus (HCV) infection is a major problem for a global public health, with about 71 million people chronically infected worldwide, being a major cause of cirrhosis and hepatocarcinoma. The World Health Organization (WHO) set the goal of eliminating viral hepatitis as a public health problem by 2030. To do so, it is necessary to track infections in all populations. Sugarcane cutters are a population of seasonal workers, with difficulty to access to health services, which lack information on hepatitis C. **Objective:** This study aimed to perform the serological screening of hepatitis C virus infection in sugarcane cutters in Goiás and Paraíba. **Methods:** The population consisted of 937 sugar cane cutters, 636 in Goiás and 301 in Santa Rita-PB. All cutters were invited to participate in the study, and those who signed the consent form were interviewed using a standardized questionnaire. Then, blood samples were collected and screened for anti-HCV by rapid tests and ELISA. The data were analyzed in the statistical program SPSS version 17.0 for Windows. **Results:** The population was composed of males (100%), with a mean age of 35.4 years. Regarding schooling, 47.4% reported having up to four years of study and the monthly family income of 78.8% of the participants was less than 2,000.00 reais. After screening for anti-HCV by rapid test and ELISA, it was verified that no individual was exposed to HCV. The risk characteristics for potential viral spread reported by cane cutters were tattooing/piercing, sharing of personal use material, and use of non-injectable drugs. Rapid tests are highly sensitive to anti-HCV, so they are appropriate and feasible for hard-to-reach populations such as sugarcane cutters and other populations. **Conclusion:** The present study showed that there was no exposure to HCV in the sugarcane cutters of the regions of Goiás and Santa Rita-PB. To achieve WHO's goal of eliminating viral hepatitis as a public health problem, it is important that more research on HCV prevalence is conducted, especially in groups that have difficulty accessing the health system.

Key words: Sugarcane cutters, HCV, serological screening.

1. INTRODUÇÃO / REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Considerações Iniciais

Durante a década de 1970, ocorreram vários surtos de hepatite pós-transfusionais. Levando em consideração o grande número de casos, vários foram os esforços para identificar o agente infeccioso e prevenir sua transmissão (FEINSTONE et al., 1975). Com a identificação do vírus da hepatite A (HAV) (FEINSTONE; KAPIKIAN; PURCELL, 1973), e do vírus da hepatite B (HBV) (DANE; CAMERON; BRIGGS, 1970) e posteriormente o desenvolvimento de testes para o diagnóstico desses patógenos, ficou evidente que a maioria dos casos pós-transfusionais não era causada por HAV e nem HBV, sendo intitulada de hepatite não-A não-B pós-transfusional (PTNANBH) (FEINSTONE et al., 1975).

Com o avanço das técnicas de biologia molecular, Choo e colaboradores em 1989 conseguiram clonar o genoma do agente infeccioso responsável por 80% a 90% das PTNANBH, denominando de vírus da hepatite C (HCV) (CHOO et al., 1989). A partir do genoma do HCV, Kuo e colaboradores (1989) desenvolveram teste sorológico capaz de detectar anticorpos específicos contra o HCV (anti-HCV), tornando possível o diagnóstico laboratorial da hepatite C (KUO et al., 1989).

A infecção causada pelo HCV geralmente é de evolução silenciosa, varia de uma doença aguda com eliminação espontânea até seis meses, a uma doença crônica, podendo evoluir para cirrose e/ou carcinoma hepatocelular. Estima-se que 60-80% das pessoas infectadas pelo HCV se tornam portadores crônicos desse vírus e, destes, 15-30% têm o risco de desenvolver cirrose em 20 anos (CDC, 2015; WHO, 2018). A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que pelo menos 71 milhões de pessoas no mundo estejam cronicamente infectadas pelo HCV e aproximadamente 399 mil pessoas morrem a cada ano devido as complicações da infecção (WHO, 2018).

1.2 O Vírus da Hepatite C

O HCV pertence a família *Flaviviridae*, gênero *Hepacivirus* (ICTV, 2018). A partícula viral possui aproximadamente 55-65 nm de diâmetro, sendo constituída internamente por um nucleocapsídeo de simetria icosaédrica e apresenta externamente

um envelope lipoproteico (Figura 1) proveniente do retículo endoplasmático da célula hospedeira (KAITO et al., 1994; PENIN et al., 2004).

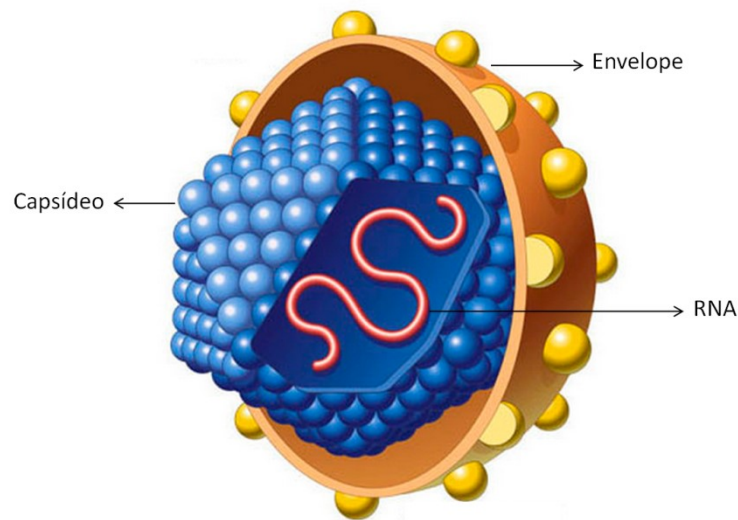


Figura 1 - Esquema da estrutura do HCV

Fonte: <https://people.rit.edu/japfaa/infectious.html> – modificada

O material genético do HCV é constituído por uma fita simples de RNA com polaridade positiva e com aproximadamente 9.600 pares de base. O genoma possui duas regiões não codificantes (NC) nas extremidades 5' e 3'. Essas flanqueiam uma única região de leitura aberta (*Open Reading Frame* - ORF) que codifica uma poliproteína de aproximadamente 3.000 aminoácidos (aa), a qual é clivada por proteases celulares e virais, resultando em três proteínas estruturais (*core*, E1 e E2) e sete não estruturais (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B) (Figura 2) (CLARKE, 1997; BRASS; MORADPOUR; BLUM, 2006; WILLIAMS, 2016; MOROZOV; LAGAYE, 2018).

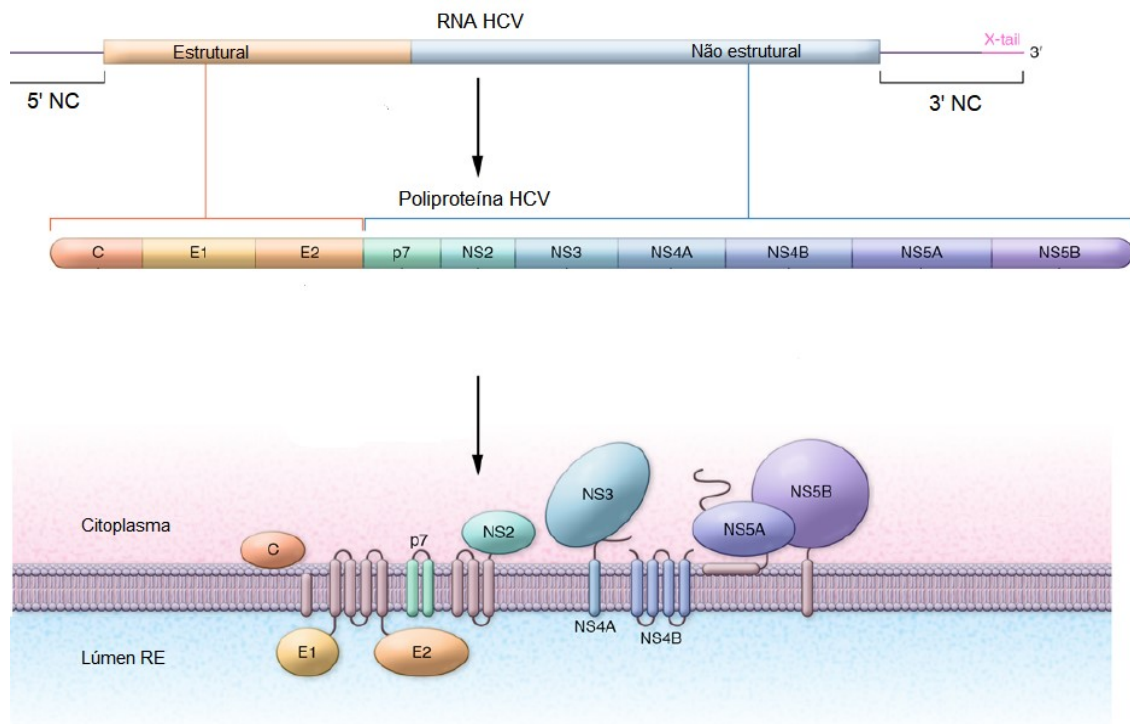


Figura 2 - Esquema do genoma e proteínas do vírus da hepatite C

Fonte: Williams (2016) - modificada

A região 5' não codificante possui 341 nucleotídeos (nt), e é altamente conservada (KATO, 2001; GUILLOU-GUILLEMETTE et al., 2007). Essa região contém um sítio de entrada interno para ribossomos (IRES - *internal ribosome entry site*) que possui a capacidade de se ligar diretamente a subunidade 40S do ribossomo do hospedeiro, iniciando a tradução do genoma viral no retículo endoplasmático (RE) (SUZUKI et al., 2007; SHARMA, 2010; NOORALI; PACE; BAGASRA, 2011). A região 5' NC, por ser a mais conservada, é geralmente usada para o desenvolvimento de testes moleculares para a detecção do RNA HCV (ZEIN, 2000).

A extremidade 3' NC, constituída por aproximadamente 200 nt, também é conservada e dividida em três partes funcionais. A primeira é uma sequência variável de 40 nucleotídeos, a segunda é uma sequência de polipirimidina (poli U/UC), cuja extensão varia de 30 a 80 nt dependendo da variante do HCV, a terceira parte funcional, uma cauda 3' X, constituída por 98 nt e contém três alças encurvadas (*stem-loops* - SL), chamadas: 3'SLI, 3'SLII, 3'SLIII (MAJOR; FEINSTONE, 1997; KATO, 2001; SHARMA, 2010).

As proteínas estruturais do HCV estão localizadas na região aminoterminal da poliproteína precursora, e as não estruturais na porção carboxiterminal. Tanto as

proteínas estruturais, quanto as não estruturais, são multifuncionais (MAJOR; FEINSTONE, 1997; TANG; GRISÉ, 2009).

Proteína do *core* (ou proteína C), composta de 191 aa é altamente conservada quando comparada com as outras proteínas do HCV. Sua principal função é a montagem do nucleocapsídeo viral. Essa proteína pode ser dividida em três domínios distintos: o primeiro está envolvido na ligação ao RNA viral, o segundo na associação dessa proteína com a membrana do RE e ligação com a gotículas lipídicas e o terceiro atua como um sinal para a translocação da E1 para o RE. A proteína do *core* também interage com uma variedade de proteínas celulares com funções como transcrição, metabolismo lipídico e apoptose (SUZUKI et al., 1999; BRASS; MORADPOUR; BLUM, 2006; DUBUISSON, 2007; NOORALI; PACE; BAGASRA, 2011).

As glicoproteínas do envelope E1 e E2 são proteínas transmembrana tipo 1, presentes no envelope da partícula viral, possuem cerca de 160 e 334 aa, respectivamente, e são responsáveis pela adsorção ao hepatócito. As glicoproteínas contêm ectodomínios hidrofílicos e domínios transmembrana responsáveis por ancorar e reter as proteínas do envelope na membrana do RE. A E1 é essencial para a interação com os receptores celulares (BRASS; MORADPOUR; BLUM, 2006; NOORALI; PACE; BAGASRA, 2011).

A glicoproteína E2 se liga ao receptor celular e contém regiões hipervariáveis (HVR) que são consideradas as partes mais mutáveis do genoma (PENIN et al., 2004; MOROZOV; LAGAYE, 2018). A sequência HVR1 (27 aa) é a região mais variável de todo o genoma viral, auxiliando ao escape da pressão do sistema imunológico e ao estabelecimento de uma infecção crônica. Já a HVR2 é constituída por sete aa, e foi proposto que essa região pode modular a ligação ao receptor de E2 (FARCI et al., 1996; DUBUISSON, 2007; TANG; GRISÉ, 2009).

A proteína p7 é uma pequena proteína com 63 aa. Está localizada entre as proteínas E2 e NS2, ou seja, é ligada a proteínas estruturais e não estruturais (JONES et al., 2007). A p7 pode atuar como uma sequência de sinal para promover a translocação de NS2 para o lúmen do RE e também é classificada como uma virosporina, formando um canal iônico que tem papel importante na infecção pelo HCV. Esse canal pode ser bloqueado por antiviral. Além disso, a proteína parece ser essencial durante montagem e liberação de partículas virais infecciosas (GIFFIN et al., 2003; CARRÈRE-KREMER et al., 2004; TELLINGHUISEN et al., 2007; WOZNIAC et al., 2010).

As proteínas NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B são necessárias para a replicação do genoma viral (SHARMA, 2010). A NS2 é uma proteína não estrutural composta por 217 aa. É uma metaloprotease, transmembrana dependente de zinco. A principal função da NS2 é a autoclivagem do sítio NS2/NS3, resultando na separação das proteínas NS2 e NS3 (KATO, 2001; DUBUISSON, 2007; NOORALI; PACE; BAGASRA, 2011).

A NS3 é uma proteína composta por 631 aa, clivada em sua região aminoterminal pela autoprotease NS2/NS3. A NS3 tem atividade ATPase/helicase, catalisando a ligação e desenrolamento do genoma do RNA viral durante a replicação. A NS3 junto com a proteína NS4 estão envolvidas nas clivagens: NS3/NS4A, NS4A/NS4B, NS4B/NS5A e NS5A/NS5B. Uma interação direta entre NS3 e NS5B é mediada pelo domínio de protease de NS3, sugere-se, assim, que essas proteínas podem agir em conjunto durante a replicação do HCV e ainda interferem na imunidade adaptativa. Além disso, a protease NS3/NS4A é essencial para a infectividade viral, sendo, portanto, um alvo para antivirais (SUZUKI et al., 1999; KATO, 2001; TANG; GRISÉ, 2009).

A NS4A é uma proteína composta por 54 aa, um co-fator necessário para a atividade de protease NS3. A NS4A é necessária para o direcionamento do NS3 no RE. A interação NS4A com NS5A é essencial também para a fosforilação de NS5A. Além de seu importante papel na replicação viral, a NS4A também pode contribuir na patogênese viral, influenciando algumas funções celulares. Foi demonstrado que a expressão de NS4 altera a distribuição de mitocôndrias, causando danos que levam a apoptose da célula hospedeira (SUZUKI et al., 1999; PENIN et al., 2004; SHARMA, 2010; MOROZOV; LAGAYE, 2018).

A proteína NS4B, de 217 aa, possui quatro domínios que são importantes em recrutamento das outras proteínas virais não estruturais. Ela possui propriedades hidrofóbicas, induzindo alterações na membrana intracelular que dão origem a estruturas membranosas que formam um complexo de replicação viral nas células infectadas pelo HCV. É possível que a NS4B também contribui para a montagem e a liberação das partículas virais (KATO, 2001; BRASS; MORADPOUR; BLUM, 2006; MOROZOV; LAGAYE, 2018).

A NS5A é uma fosfoproteína de 485 aa. Nas células infectadas pelo HCV, essa proteína atua no processo de replicação viral, patogênese viral e vias de sinalização

celular. A NS5A é usada como alvo para os antivirais de ação direta para o tratamento da hepatite C (KATO, 2001; SHARMA, 2010; NOORALI; PACE; BAGASRA, 2011).

A NS5B, uma proteína com 591 aa de comprimento, é uma RNA polimerase-RNA dependente. Devido ao seu papel fundamental replicação do vírus, a proteína NS5B é considerada um alvo para os medicamentos antivirais (DUBUISSON, 2007; NOORALI; PACE; BAGASRA, 2011).

Além destas 10 proteínas, existe o *frameshift* ou proteína F. Essa é constituída de 126 a 161 aa. A proteína F é codificada pelo quadro de leitura que se sobrepõe à sequência de codificação da proteína do *core* (VARAKLIOTI et al., 2002). A proteína F possui vida curta e está associada ao retículo endoplasmático (XU et al., 2003). Estudos mostraram que essa pode induzir a produção de um anticorpo específico, além de respostas imunes celulares em alguns pacientes infectados pelo HCV. Apesar destes achados, a função da proteína F no ciclo viral do HCV ainda precisa ser elucidado (KOMURIAN-PRADEL et al., 2004; SAMRAT et al., 2014).

1.3 Variabilidade do HCV

O HCV possui uma alta heterogeneidade genética. Essa diversidade é resultado da ausência de atividade de reparo da RNA polimerase-RNA dependente, o que pode acarretar em substituições de nucleotídeos e, também devido a ausência de atividade de exonuclease de 5' para 3' falta de correção dos erros. A frequência média de mutações nucleotídicas varia de $1,4 \times 10^{-3}$ a $1,9 \times 10^{-3}$ substituições por nucleotídeo por ano. As mutações podem conferir mais eficácia para a replicação viral ou contribuir para a evasão do sistema imune do hospedeiro (MAJOR; FEINSTONE, 1997; LYRA; FAN; DI BISCEGLIE, 2004; GUILLOU-GUILLEMETTE et al., 2007).

De acordo com a análise das sequências nucleotídeas do genoma do HCV, esse foi classificado em: genótipos, subtipos, isolados e *quasispecies*, de acordo com a homologia entre eles. Os genótipos diferem entre si em 31% a 33% na sequência de nucleotídeos, os subtipos diferem em 15% na região codificante, isolados diferem entre si em menos de 13% e as *quasispecies* diferem de 1-5% (SIMMONDS et al., 1993; ZEIN, 2000; SIMMONDS et al., 2005; SMITH et al., 2014).

A região 5' NC é a mais conservada do genoma, com mais de 90% de identidade entre os genótipos virais. A região que codifica a proteína C (região do *core*) também é conservada, com 81% a 88% de identidade de sequência entre seus isolados. Já a região mais variável do genoma codifica as glicoproteínas do envelope, E1 e E2. As

sequências de HVR1 e HVR2 da E2 podem diferir em mais de 50% entre os genótipos do HCV (MAJOR; FEINSTONE, 1997; LYRA; FAN; DI BISCEGLIE, 2004; GUILLOU-GUILLEMETTE et al., 2007; MURPHY et al., 2007).

Atualmente, o HCV é classificado em sete genótipos identificados por números arábicos (1-7), diversos subtipos denominados por letras minúsculas do alfabeto (1a, 1b, 1c, etc) (Figura 3), isolados e *quasispecies*. Esse último é definido como variantes intimamente relacionadas, mas geneticamente distintas dentro de um único hospedeiro (SIMMONDS et al., 1993; MURPHY et al., 2007; TORRES-PUENTE et al., 2008; PRECIADO et al., 2014; SMITH et al., 2014).

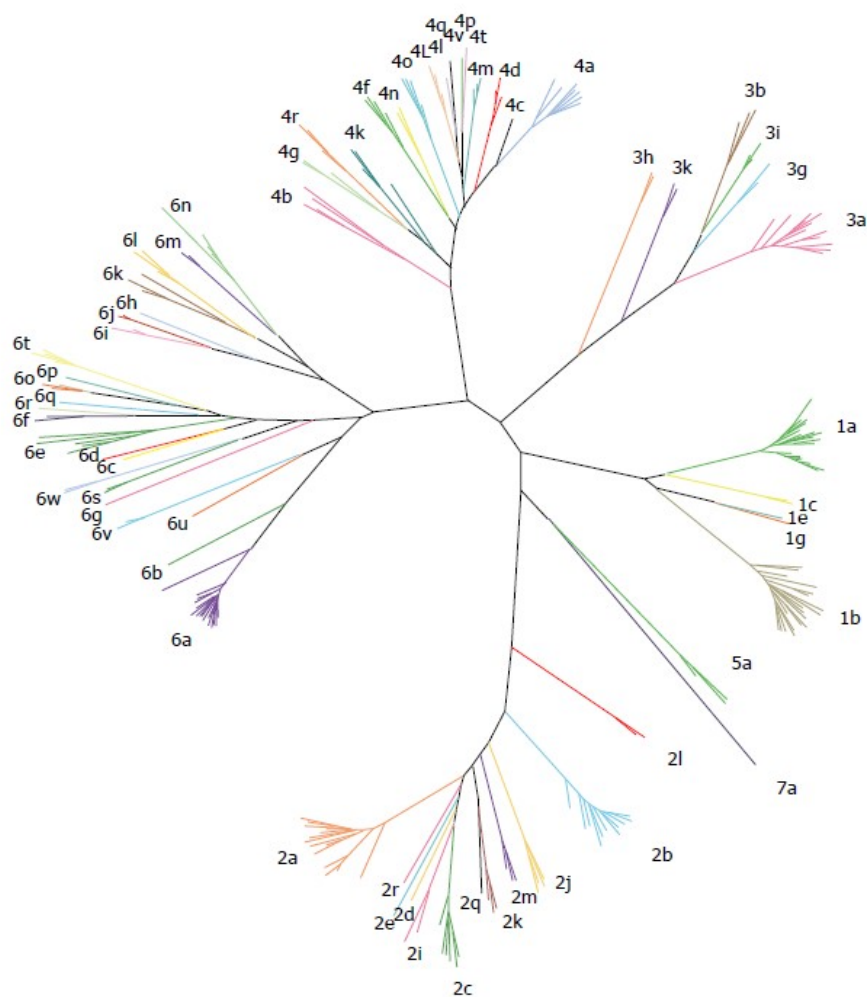


Figura 3 - Genótipos e subtipos do vírus da hepatite C

Fonte: Preciado et al. (2014) – modificada

1.4 Aspectos Clínicos da Hepatite C

O período de incubação da infecção pelo HCV pode variar de duas a 26 semanas, sendo que geralmente é de sete semanas. A maioria dos casos de infecção

aguda é assintomático, por isso desvendar a história natural da hepatite C é um desafio (WESTBROOK, 2014). A hepatite C aguda pode apresentar sintomas inespecíficos e os mais reportados são fadiga, náusea, dor abdominal, perda de apetite, mal estar geral, febre e mialgia. O sintoma mais específico que pode aparecer é a icterícia (LINGALA; GHANY, 2015).

Durante os primeiros seis meses de infecção, uma porcentagem dos indivíduos infectados (15 a 45%) elimina o HCV espontaneamente sem tratamento e 60% a 80% evoluem para a doença crônica (WHO, 2018). A detecção do marcador RNA HCV por mais de seis meses caracteriza evolução para hepatite C crônica (MAASOUMY; WEDEMEYER, 2012; WESTBROOK, 2014).

Acredita-se que os mecanismos responsáveis pela persistência viral e pelo curso clínico da hepatite C sejam devido a fatores associados a diversidade viral e características do hospedeiro (WEINER et al., 1992; MAASOUMY; WEDEMEYER, 2012). Apesar de não estar totalmente elucidada, os estudos com humanos sugeriram que a progressão da hepatite C aguda para crônica está relacionada com as *quasispecies* do HCV e os fatores do hospedeiro incluem: idade da infecção, idade, sexo, raça, coinfeções, comorbidades e fatores genéticos (FARCI et al., 2000, SEEFF et al. 2002).

A cronicidade é caracterizada pela inflamação hepática, necrose e fibrose hepatocelular, resultantes da resposta imunológica à replicação viral. Isto pode causar danos hepáticos contínuos, resultando em cirrose e, possivelmente, carcinoma hepatocelular. A hepatite C crônica varia de indivíduo para indivíduo. Nessa fase, pacientes podem relatar sintomas como desconforto abdominal, náusea, fadiga, mialgia, artralgia ou perda de peso. O aparecimento desses sintomas, geralmente está relacionado com a cirrose hepática avançada (MAASOUMY; WEDEMEYER, 2012).

A hepatite C crônica também pode estar associada a diversas manifestações extra-hepáticas. Aproximadamente 76% dos pacientes com a infecção pelo HCV desenvolvem pelo menos um tipo de manifestação extra-hepática (STEFANOVA-PETROVA et al., 2007; CACOUB et al., 2016). As manifestações relatadas são: crioglobulinemia, glomerulonefrite membranoproliferativa, porfiria cutânea tardia, líquen plano, síndrome de Sjögren, tireoidite autoimune, linfoma de células B, câncer de tireóide, síndrome de Sicca, fibrose alveolite-pulmão, diabetes mellitus, nefropatias não crioglobulinêmicas e aterosclerose aórtica (ZIGNEGO et al., 2007).

1.5 Diagnóstico da Infecção pelo Vírus da Hepatite C

O diagnóstico da hepatite C geralmente é feito a partir de exames de rotina. Na maioria das vezes, o diagnóstico é realizado na fase crônica da doença, sendo imprescindível fazer o acompanhamento do paciente, para uma avaliação clínica e tratamento (BRASIL 2018a; WHO 2018). É estimado que menos de 20% das pessoas vivendo com HCV desconhecem seu *status* sorológico e, para a mudança dessa realidade, é necessário fazer a triagem e o diagnóstico dessas pessoas (EASTERBROOK et al., 2016)

O diagnóstico laboratorial e monitoramento da infecção pelo HCV são realizados por ensaios sorológicos e moleculares, por meio da pesquisa de anticorpos anti-HCV totais, antígeno do *core* do HCV e RNA viral (CHEVALIEZ, 2011). Durante a infecção aguda, o primeiro marcador detectado no soro é o RNA HCV que aparece de uma a duas semanas após a infecção e, com a resolução da infecção torna-se indetectável depois do sexto mês, assim como a alanina aminotransferase (ALT). O marcador anti-HCV aparece em média de duas a oito semanas após a infecção e pode persistir por toda a vida (Figura 4) (SCOTT; GRETCH 2007; MAHESHWARI; THULUVATH 2010; CHEVALIEZ, 2011).

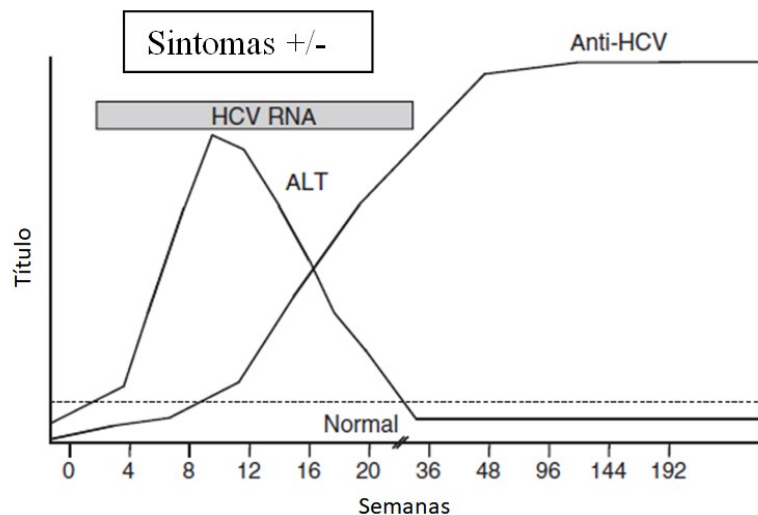


Figura 4 - Perfil sorológico da hepatite C aguda

Fonte: Chevaliez (2011) – modificada

Na infecção crônica, o marcador RNA HCV pode ser detectado em um período superior a seis meses, enquanto os níveis de ALT sofrem oscilações. O marcador anti-

HCV continua sendo detectável (Figura 5) (SCOTT; GRETCH 2007; MAHESHWARI; THULUVATH 2010; CHEVALIEZ, 2011). A ALT e a aspartato aminotransferase (AST) são marcadores sensíveis para detecção de lesão do parênquima hepático, porém não são específicas para nenhum tipo de hepatite. Os níveis desses marcadores não possuem correlação direta com a gravidade da doença. Também podem ser detectadas elevações de bilirrubinas e fosfatase alcalina, além de discreta linfocitose (BRASIL, 2018a).

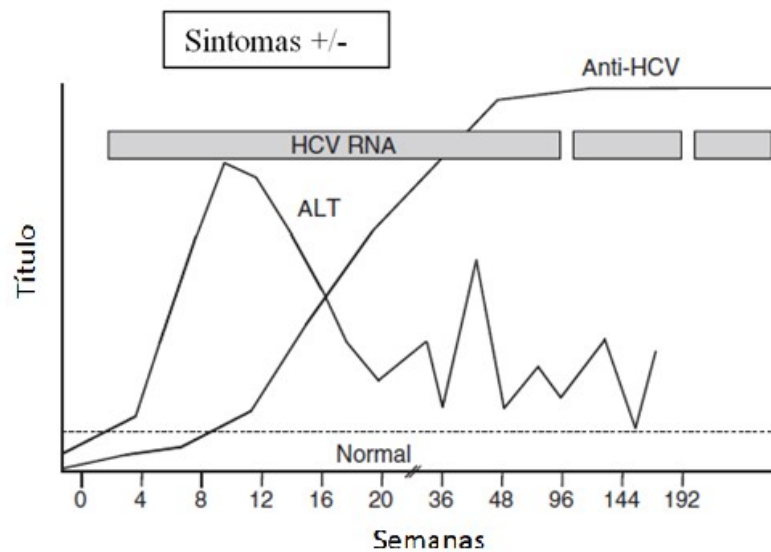


Figura 5 - Perfil sorológico da hepatite C crônica

Fonte: Chevaliez (2011) - modificada

O ensaio imunoenzimático (ELISA), baseado na detecção de anticorpos específicos totais, e o método sorológico de triagem mais utilizado para detecção do marcador anti-HCV em laboratório. Contudo, a detecção de anti-HCV indica somente exposição ao vírus, não permitindo diferenciar se a infecção é ativa ou passada. Para confirmar uma infecção ativa, se faz necessário a pesquisa qualitativamente ou quantitativamente do RNA HCV no soro do paciente, por meio de técnicas moleculares, como a reação em cadeia pela polimerase (PCR) (CHEVALIEZ, 2011; BRASIL, 2018a).

Após a identificação do HCV em 1989, começaram a surgir os testes de diagnóstico e, com o passar o tempo, estes testes foram melhorados em relação à sensibilidade e especificidade. O ELISA de primeira geração (ELISA I) continha o epítipo c100-3 da proteína NS4, e apresentava uma baixa sensibilidade e especificidade (70-80% e 30-50%, respectivamente). O período de soroconversão para detecção de

anticorpos era de 12 a 26 semanas após a exposição ao HCV (KUO et al., 1989; MARWAHA; SACHDEV, 2014).

O ELISA de segunda geração (ELISA II) incorporou antígenos adicionais das proteínas NS3 (c33c) e *core* (c22-3). Neste ensaio, houve um aumento de sensibilidade para 92-95%. O período de janela imunológica reduziu para 10 semanas (RICHTER, 2002; CHEVALIEZ, PAWLOTSKY, 2007; KAMILI et al., 2012; KUMAR et al., 2018).

Em 1996, surgiu o ELISA de terceira geração (ELISA III), no qual foi acrescentado um quarto antígeno (correspondente a região NS5), além dos já incorporado no ELISA II. A principal vantagem desse novo ensaio foi a diminuição do período de janela imunológica para 7 a 8 semanas. Além disso, houve um aumento na sensibilidade para 97% e especificidade para 99% (BRANDÃO et al., 2001; COLIN et al., 2001; CHEVALIEZ, PAWLOTSKY, 2007).

Atualmente, estão disponíveis os testes de quarta geração (ELISA IV). Esses são capazes de detectar, tanto os anticorpos contra o HCV (regiões NS3, NS4A, NS4B e NS5A), quanto o antígeno do *core*. Devido a isso, a especificidade do teste é de aproximadamente 99,8%, com redução da janela imunológica para 26,8 dias (MARWAHA; SACHDEV, 2014; KUMAR et al., 2018).

As vantagens do ELISA incluem automação, custo relativamente baixo e resultados altamente reprodutíveis. Já sua principal limitação é incapacidade de definir se a infecção é ativa ou passada. Embora menos comum nos dias hoje, os testes anti-HCV podem apresentar resultados falso-negativos, principalmente, em indivíduos imunocomprometidos. Resultados falso-positivos são observados em pacientes com doenças auto-imunes, devido interações não específicas entre imunoglobulinas séricas e os antígenos do HCV utilizados no teste (GHANY et al., 2009; PONDÉ, 2011; VILLAR et al., 2015).

Teste “point of care” é definido como o teste realizado perto do paciente, ou seja, onde os cuidados de saúde são fornecidos fora do tradicional laboratório. Eles têm melhorado significativamente a qualidade dos cuidados dentro do quadro de abordagens centradas no paciente. Nos últimos anos, “point of care” testes baseado em imunoenaios cromatográficos para a determinação qualitativa de anticorpos ou antígenos vêm ganhando espaço como tragem para doenças infecciosas como sífilis, hepatites B e C e a infecção pelo HIV. Esses imunoenaios são capazes de detectar anticorpos ou antígenos dentro de um curto intervalo de tempo (geralmente em até 30

minutos) e por isso são chamados de “teste rápido” (TR) (CHEVALIEZ; PAWLITSKY, 2018).

Os TRs disponíveis atualmente podem usar sangue total, soro ou plasma, sangue em papel de filtro e fluido oral para pesquisa de anti-HCV (SMITH et al., 2012). Esses testes constituem é uma inovação na triagem da hepatite C, pois são essenciais para a ampliação do acesso ao diagnóstico, principalmente em populações em situações de vulnerabilidade, de difícil acesso aos serviços de saúde (BRASIL, 2018a). As principais vantagens são: simplicidade na execução, não necessitam de equipamentos, resultado rápido, podem ser armazenado à temperatura ambiente e facilitam o diagnóstico em populações vulneráveis e de difícil acesso. As desvantagens são a subjetividade na leitura dos resultados e a necessidade de testes confirmatórios (CHEVALIEZ; PAWLITSKY, 2018).

As sensibilidades e especificidades dos diferentes testes rápidos variam amplamente de acordo com o fabricante. De acordo com uma metanálise realizada por Tang e colaboradores em 2017, a sensibilidade e a especificidade dos testes rápidos para a detecção do anti-HCV variam de 98-100% e 99-100%, respectivamente (TANG et al., 2017). Essas variações podem ocorrer em função do: espécime biológico utilizado, volume do espécime e, principalmente, se a população testada apresenta um alto ou baixo risco de infecção (GAO, 2014; SCALIONI et al., 2014; CHEVALIEZ et al., 2016). Desde 2011, o Ministério da Saúde introduziu o uso dos testes rápidos no Brasil, que são produzidos com antígenos recombinantes das proteínas do *core*, NS3, NS4 e NS5 (SCHEIBLAUER et al., 2010; BRASIL, 2015).

A escolha do teste utilizado para o diagnóstico da infecção pelo HCV depende da epidemiologia local (prevalência do HCV); dos cuidados de saúde existentes no local; infraestrutura; custos; disponibilidade financeira e de recursos humanos (EASTERBROOK et al., 2016).

O Ministério da Saúde indica o uso de TR em rede de serviços de saúde sem infraestrutura laboratorial ou localizada em regiões de difícil acesso; Programas do Ministério da Saúde, tais como: “Rede Cegonha”, “Programa de Saúde da Família”, “Consultório de Rua”, “Quero Fazer”, dentre outros; Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) e Unidade de Testagem Móvel (UTM) (BRASIL, 2018a). Para confirmar os resultados reagentes para anti-HCV por TR ou ELISA, é possível a realização de variantes do *Western blot* que são o *recombinant immunoblot assay*

(RIBA) e o *line immunoassay* (LIA) que são metodologias mais específicas para anti-HCV quando comparado ao ELISA (LI; LO, 2015).

Para verificar a infecção ativa pelo vírus da hepatite C, é necessária a realização de testes moleculares para a detecção do RNA HCV ou do antígeno do *core*. Os testes qualitativos de amplificação de ácidos nucleicos são utilizados para confirmar o diagnóstico de infecção pelo HCV e os quantitativos são usados para monitorar a carga viral. Esses métodos de amplificação de ácido nucleico possuem alta sensibilidade e especificidade (BRASIL, 2018a; MUKHERJEE et al., 2015).

O antígeno do *core* pode ser detectado no soro dentro de duas a três semanas da infecção (LAPERCHE et al., 2015). O antígeno do *core* tem sido considerado como uma alternativa em relação a pesquisa do RNA viral para identificar a viremia, devido ao menor custo e correlação entre esses dois marcadores (WHO, 2016). Porém, de acordo com uma revisão sistemática, até os ensaios com maior desempenho para a detecção do antígeno do *core* não atingem a sensibilidade do teste molecular, sendo que a sensibilidade chega até 93,4% para determinados ensaios e a especificidade é maior 98% (OKAZAKI et al., 2008).

Com uma sensibilidade de aproximadamente 96% e especificidade maior que 99%, a reação em cadeia pela polimerase pós-transcrição reversa (RT-PCR) é um método muito usado para a detecção do RNA viral, e os ensaios podem ser qualitativos ou quantitativos. Os métodos quantitativos são usados para verificar a carga viral e avaliar a resposta ao tratamento. Além disso, limites de quantificação dos ensaios qualitativos (10-15 IU/mL) geralmente são menores que os quantitativos (600-1.100 IU/mL). Já para genotipagem do HCV, é possível utilizar como pesquisa o genoma completo ou algumas regiões, assim como a região 5' NC (BRANDÃO et al., 2001; SCOTT; GRETCH, 2007; VERMEHREN et al., 2008; EASTERBROOK et al., 2016).

1.6 Tratamento da Hepatite C

O principal objetivo do tratamento é obter a resposta virológica sustentada (RVS) que é caracterizada como a indetectabilidade do RNA HCV a partir da 12^o ou 24^o semana após o término do tratamento com medicamentos de ação direta. Com a terapia medicamentosa, pretende-se aumentar a qualidade e a expectativa de vida do paciente, diminuir a incidência de complicações da doença hepática crônica, como cirrose, carcinoma hepatocelular e óbito, além de reduzir a transmissão do HCV. Nos pacientes

com cirrose hepática instalada, a RVS do HCV não exclui o risco de hepatocarcinoma ou descompensação clínica (BRASIL, 2018b).

O tratamento com a combinação de alfa interferon peguilado e ribavirina apresentava uma RVS variando de 40% a 80%, dependendo dos genótipos virais e fatores do hospedeiro. Após a primeira geração de antivirais de ação direta (DAAs) os níveis de RVS começaram a aumentar (EASL, 2014). Desde 2015, o Ministério da Saúde tem disponibilizado antivirais de ação direta para o tratamento da hepatite C e atualizou o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) para Hepatite C e coinfeções. Esse traz uma flexibilização do tratamento com opções terapêuticas, com menos efeitos adversos e maior expectativa de cura (BRASIL, 2018b).

O tratamento da hepatite C crônica dispõe dos fármacos daclatasvir, um inibidor de NS5A, simeprevir (inibidor de protease) e sofosbuvir (análogo de nucleotídeo que inibe a polimerase do HCV). Também estão disponíveis no SUS a associação dos fármacos ombitasvir (inibidor de NS5A), dasabuvir (inibidor não nucleosídico da polimerase NS5B), veruprevir (inibidor de protease NS3/4A), ritonavir (potencializador farmacocinético), ledipasvir (inibidor da NS5A), elbasvir (inibidor da NS5A) e grazoprevir (inibidor da protease NS3/4A). Esses medicamentos são antivirais de ação direta, ou seja, interrompem a replicação do HCV e são recentes avanços no tratamento da hepatite C crônica (HÉZODE et al., 2017; BRASIL, 2018b).

1.7 Aspectos Epidemiológicos da Infecção pelo HCV

1.7.1 Transmissão

O vírus da hepatite C é transmitido, principalmente pela via parenteral, por exposição percutânea direta ao sangue contaminado. As formas de transmissão vertical e sexual também são possíveis, apesar de menos eficazes (ALTER, 2011). Os fatores de risco associados com a aquisição do HCV são: transfusão de sangue a partir de doadores infectados; uso de drogas injetáveis; hemodiálise e exposição percutânea com instrumentos infectados com HCV (JADOUL, 1996; ALTER, 2011; PONDÉ, 2011).

A infecção associada à transfusão sanguínea foi virtualmente eliminada em países que implementaram a testagem para doadores de sangue (ALTER, 2011). No Brasil, a triagem sorológica para anti-HCV se tornou obrigatória em bancos de sangue em 1993 por meio da Portaria nº 1376 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1993). Apesar da triagem sorológica ter reduzido o número de casos de infecção pelo HCV por transfusão, deve ser observado que, mesmo usando o ELISA III, o período de janela

imunológica continua de sete a oito semanas (COLIN et al., 2001). Portanto, foi instituído o uso de ensaios moleculares em banco de sangue (SELVARAJAHA; BUSCH, 2012). No Brasil, o teste de amplificação de ácido nucléico (NAT) tornou-se obrigatório desde 2014 pela portaria nº 2.265 com objetivo de reduzir significativamente o risco de transmissão pós-transfusional (BRASIL, 2014).

O HCV foi isolado em sangue e fluidos corporais como saliva, leite materno, urina, fezes, sêmen e secreções vaginais, porém a infecciosidade do fluido corporal depende do número de virions no inóculo (ABOU-SETTA, 2004; INDOLFI; NESI; RESTI, 2013). O HCV pode permanecer viável no ambiente por pelo menos 16 horas, o que aumenta o risco de transmissão por meio de instrumentos contaminados, como injeções inseguras realizadas por profissionais e não profissionais de saúde (HAURI; ARMSTRONG; HUTIN, 2004; KAMILI et al., 2007).

A transmissão vertical do HCV pode ocorrer, porém os mecanismos biológicos envolvidos nesse processo ainda não estão completamente elucidados. A chance de transmissão do vírus da hepatite C de uma mãe infectada para a criança depende da carga viral e da coinfeção pelo HIV (BENOVA et al., 2014; FAUTEUX-DANIE et al., 2017). Já a transmissão intrafamiliar, pode ser entre pessoas infectadas por HCV e os membros da mesma casa devido ao compartilhamento de objetos pessoais. Para minimizar esse tipo de transmissão horizontal, é necessário evitar a exposição ao sangue, saliva e ao sêmen de pessoas infectadas por HCV na mesma casa (INDOLFI; NESI; RESTI, 2013).

A transmissão por via sexual é considerada uma via de baixa frequência e presume-se que o HCV é transmitido pela exposição da mucosa ao sangue infectado (ALTER, 2011). A transmissão pode ser relacionada com o sexo anal desprotegido e uso de brinquedos sexuais que causam trauma na mucosa anal ou retal (CHAN et al., 2016).

1.7.2 Prevalência

Considerando a positividade para anti-HCV, a prevalência global foi estimada em 1,6% (IC 95%: 1,3–2,1%), correspondendo a 115 milhões de pessoas no mundo e, levando em conta a positividade do RNA HCV, 71 milhões de pessoas estão cronicamente infectadas (GOWER et al., 2014; WHO, 2018).

A prevalência de anti-HCV é altamente variável entre as diferentes regiões do mundo, grupos etários e de risco (Figura 6). Essa variação pode ser parcialmente

atribuída as características da população analisada e ao modo de transmissão (ANSALDI et al., 2014). Em geral, a prevalência aumenta com a idade, sendo mais elevada em pessoas com mais de 40 anos (GOWER et al., 2014).

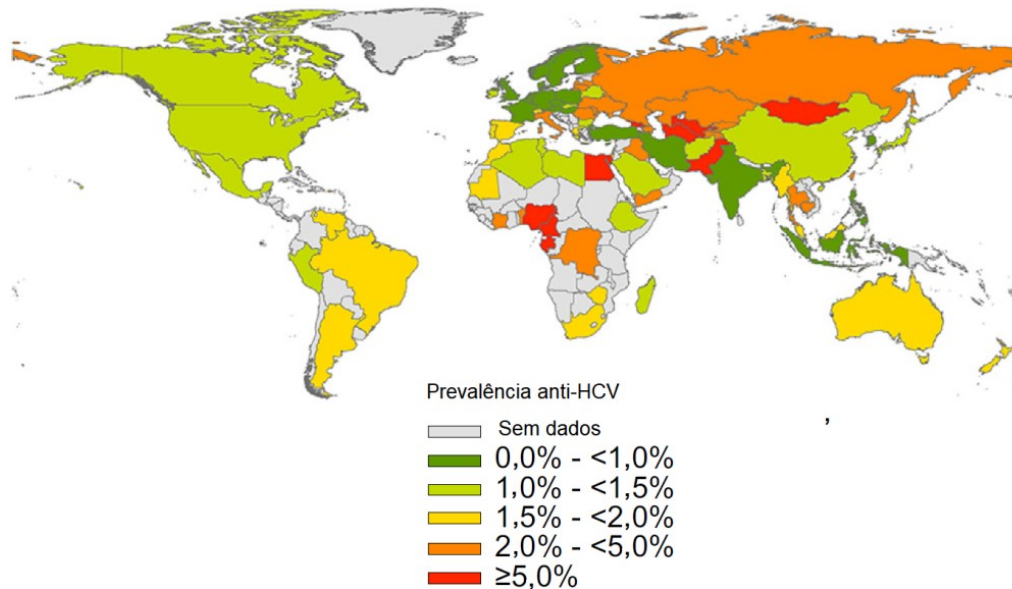


Figura 6 - Distribuição mundial da prevalência do anti-HCV

Fonte: Gower et al (2014) – modificada

A região da Ásia Central apresenta a maior prevalência da infecção crônica pelo HCV no mundo com 3,6% (IC: 2,8–3,9). Gabão é o país com a maior prevalência de RNA HCV com 7,0% (IC: 5,1–7,3), seguido pelo Egito com 6,3% (IC: 4,5–6,7) (THE POLARIS OBSERVATORY HCV COLLABORATORS, 2017). No Brasil, em um inquerito de base populacional realizado nas capitais de 1999 a 2017, foram detectados 331.855 casos de hepatite C que apresentaram positividade para um dos marcadores do HCV (anti-HCV e/ou RNA HCV). A prevalência de anti-HCV no Brasil de acordo com o Ministério da Saúde é de 0,7%. Em relação a distribuição dos casos por regiões, verificou-se que 63,2% ocorreram na região Sudeste, 25,2% no Sul, 5,9% no Nordeste, 3,2% no Centro-Oeste e 2,5% no Norte, sendo que houve um aumento entre 2003 e 2016 (BRASIL, 2018b; BRASIL, 2018c).

Investigações epidemiológicas no Estado de Goiás, realizadas pelo grupo de pesquisa do presente estudo, mostraram que a soroprevalência do HCV varia de 0% (crianças provenientes de creches) a 63,3% (hemofílicos) de acordo com o grupo populacional estudado (MARTINS et al., 1995; BARBOSA et al., 2002).

1.8 Prevenção da Hepatite C

Apesar dos avanços no tratamento da hepatite C, principalmente com os DAA, muitas pessoas com infecção crônica pelo HCV não estão em tratamento. Além disso, ainda não existe uma vacina disponível para prevenir a infecção pelo HCV, devido a diversidade genética do vírus (BAUMERT et al., 2014; GUO et al., 2018).

Por esse motivo, a prevenção destina-se a reduzir ou eliminar a transmissão do HCV. Os principais fatores de risco que devem ser considerados são: segurança de hemoderivados, transplante de órgãos sólidos de doadores infectados, uso de drogas injetáveis, exposição ocupacional a sangue (agulhas contaminadas), nascimento de mãe infectada, sexo com parceiro infectado e múltiplos parceiros sexuais. Também é necessário realizar aconselhamento sobre as vias de transmissão do HCV (ALTER et al., 2002; MANNS et al., 2017).

Outra forma de prevenção é o tratamento dos indivíduos com hepatite C, pois muitas pessoas não sabem que estão infectadas. A identificação da infecção em pessoas que desconhecem seu *status* sorológico é um dos principais focos nos programas de prevenção atuais (KEW et al., 2004).

Como a infecção pelo HCV continua sendo um desafio para a saúde pública em todo globo, em maio de 2016 a OMS publicou o plano ‘Combate às Hepatites B e C para Alcançar a Eliminação até 2030’ (*Combating hepatitis B and C to reach elimination by 2030*) que visa a eliminação das hepatites virais através da combinação entre medidas de prevenção e tratamento. A prevenção para a infecção pelo HCV incluem segurança em uso de hemoderivados; injeções seguras; redução de danos para pessoas que usam drogas injetáveis e tratamento. O plano, ainda visa ampliar do diagnóstico laboratorial desta infecção para 90% até 2030 (WHO, 2016).

No Brasil, também foi lançado um plano pactuado entre o Ministério da Saúde, estados e municípios com o objetivo de eliminar a hepatite C no Brasil até 2030, alinhado com as metas da OMS, com a intenção tratar 19 mil pessoas no ano de 2018, e 50 mil pacientes a partir de 2019 até 2024 e 32 mil novos tratamentos ao ano começando em 2025. A expectativa é reduzir em 65% a mortalidade por hepatite C no Brasil até 2030 (BRASIL, 2017a; COELHO, 2018).

1.9 Cortadores de Cana-de-açúcar

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, seguido pela Índia e Austrália. Cerca de 80% da produção total de cana é cortada manualmente, embora o

uso de colheitadeiras mecanizadas tenha aumentado significativamente nos últimos anos. O setor sucroalcooleiro é responsável pela geração de cerca de 3,6 milhões de empregos diretos e indiretos no Brasil (UNICA, 2013). O corte manual da cana é um trabalho desgastante, que exige excessivo esforço físico intenso. Alguns estudos abordam as precárias condições de trabalho que refletem diretamente nas condições de saúde dos cortadores de cana (SILVA, 2005; ALVES, 2006).

O cortador da cana-de-açúcar é migrante e de baixa escolaridade. Em geral, a participação desse trabalhador no setor é sazonal, pois costuma deixar a sua cidade de origem apenas durante o período da colheita de cana. Historicamente, o setor sucroalcooleiro teve trabalho escravo, entre 2003 e 2013. Os fiscais resgataram 10.709 trabalhadores em condições análogas às de escravos, mas esse número vem caindo ano após ano, por diversos motivos. Nas lavouras de cana-de-açúcar da Região Nordeste, a colheita mecanizada é dificultada por conta do relevo montanhoso. Por isso, ainda predominam os cortadores manuais (BARROS et al., 2014).

Devido à atividade laboral, os cortadores de cana ficam expostos ao calor intenso, chuva, vento, poeira, fuligem, intoxicações por agrotóxicos, a acidentes com agentes biológicos e animais peçonhentos, e ao risco de acidentes com ferramentas utilizadas para o corte manual da cana, como foices e facões, que podem expor esses trabalhadores ao contato com sangue (OLIVEIRA, 2009; ROCHA; MARZIALE; HONG, 2010). O cortador de cana utiliza um facão para cortar a cana bem rente ao solo, realizando vários movimentos de extremo esforço físico e posturas inadequadas (ALESSI; NAVARRO, 1997). Isso, associado às precárias condições de vida e de dificuldade de acesso aos serviços de saúde, os tornam uma população vulnerável para doenças respiratórias, postural (ROCHA; MARZIALE; ROBAZZI, 2007).

Os cortadores de cana são um grupo que possui características próximas a população rural. Estudos que avaliam a saúde deste segmento populacional, principalmente em relação a doenças infecciosas como a hepatite C, são raros no Brasil e mundo (Quadro 1). Em relação aos cortadores de cana, os dados sobre a prevalência do HCV, até a realização deste estudo, eram inexistentes. Neste contexto torna-se imprescindível conhecer a endemicidade do HCV, visando o controle e tratamento desta infecção e, para isto, é necessário ampliar o acesso ao diagnóstico.

Quadro 1. Prevalência da infecção pelo HCV em populações rurais do Brasil e de outros países.

Referência	Localização	Prevalência do anti-HCV
Silva et al. (1995)	Castro Alves - BA (Brasil)	0,00%
Tavares-Neto et al. (2005)	Moradores de Catolândia - BA (Brasil)	0,08%
Reis et al. (2008)	Comunidades afrodescendentes - MS (Brasil)	0,2%
El Khouri et al. (2005)	Moradores de aldeia - AM (Brasil)	0,38%
Almeida et al. (2006)	Comunidade do Nordeste (Brasil)	0,4%
Melo et al. (2015)	Indivíduos rurais - SP (Brasil)	0,4%
Araújo et al. (2014)	Assentados de GO e MS (Brasil)	0,43%
Matos et al. (2009)	Comunidades afrodescendentes - GO (Brasil)	0,6%
Chadha, Tungatkar e Arankalle (1999)	Área rural (Índia)	0,0%
Nguyen, Mclaws e Dore (2007)	Região rural norte (Vietnã)	1,0%
Akcam et al. (2009)	Região rural sudoeste (Turquia)	1,0%

2. JUSTIFICATIVA

Estudos sobre a prevalência da infecção pelo HCV no cenário atual são de extrema importância, pois a hepatite C ainda é considerada um desafio para a saúde pública do Brasil e do mundo. Neste contexto, em 2016, a OMS publicou o plano ‘Combate às Hepatites B e C para Alcançar a Eliminação até 2030’ (*Combating hepatitis B and C to reach elimination by 2030*) que visa a eliminação das hepatites como problema de saúde pública. O plano tem o objetivo de ampliar a cobertura do diagnóstico laboratorial da infecção pelo HCV para 90% até 2030 (WHO, 2016).

O Ministério da Saúde também lançou um plano, alinhado com as metas da OMS, com o objetivo ampliar o diagnóstico para a identificação de pessoas infectadas para o início do tratamento. No Brasil, a hepatite C foi responsável por 75,3% dos óbitos por hepatites virais no período de 2000 a 2016 e foram registrados 24.460 novos casos desta infecção (BRASIL, 2017).

Para o alcance da meta da OMS de eliminação das hepatites virais até 2030, é fundamental rastrear essas infecções em todos os segmentos populacionais. Cortadores de cana representam um subgrupo de trabalhadores rurais sazonais, majoritariamente formado por homens adultos que, em geral, não acessam os serviços de saúde, e não existe informação sobre as hepatites virais nesse subgrupo populacional empobrecido. Portanto a proposta deste estudo foi preencher esta lacuna do conhecimento estimando a prevalência do HCV em cortadores de cana. Acredita-se que a inexistência de dados epidemiológicos sobre as doenças infecciosas impossibilita a tomada de decisões para prevenção e controle, sendo este um desafio aos programas de saúde pública.

Os testes rápidos tem sido largamente utilizado para rastreamento de infecções em populações de difícil acesso. Contudo, não existe estudos que verificam o desempenho destes ensaios “*point of care*” em condições geográficas extremas, como a realizada em cortadores de cana no local de trabalho, ou seja no canavial. Este é o primeiro estudo sobre a soroprevalência da hepatite C em cortadores de cana em no Goiás, na Paraíba e no Brasil. As informações da presente investigação poderão contribuir para o conhecimento do estado de saúde dos cortadores de cana-de-açúcar.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Realizar o rastreamento sorológico da infecção pelo vírus da hepatite C em cortadores de cana em Goiás e Paraíba.

3.2 Objetivos Específicos

- Descrever as características dos cortadores de cana-de-açúcar estudados;
- Estimar a prevalência da infecção pelo HCV em cortadores de cana em Goiás e Paraíba;
- Verificar o desempenho do TR como ensaio “*point of care*” no rastreamento da hepatite C em condições ambientais adversas.

4. MÉTODOS

4.1 Delineamento e Local

Esta investigação faz parte de um projeto matriz intitulado “Epidemiologia das hepatites virais B e C, HIV/AIDS e sífilis em cortadores de cana-de-açúcar: bases para ações de promoção da saúde”. Este é um estudo observacional, descritivo, de corte transversal, conduzido em cortadores manuais de cana-de-açúcar nos Estados de Goiás e Paraíba.

Para a realização da presente investigação, foram selecionadas usinas que utilizavam o corte manual da cana-de-açúcar e estavam em atividade de cultivo da cana, no período de fevereiro a setembro de 2016, o período de coleta de dados.

No estado de Goiás, segundo a Federação dos Trabalhadores Agrícolas do Estado de Goiás, existem 41 usinas produtoras de álcool e açúcar distribuídas entre as regiões do Estado e 14 usinas relataram ter produção manual de cana-de-açúcar, porém a coleta foi realizada em quatro que estavam em atividade de corte de cana no período do estudo. Essas usinas estavam localizadas nos seguintes municípios: Rubiataba; Carmo do Rio Verde; Americano do Brasil/Anicuns e Serranópolis.

Em relação ao estado da Paraíba, a coleta foi realizada em Santa Rita, que é um município localizado na Região Metropolitana de João Pessoa-PB. Existem nove usinas na Paraíba, porém somente uma usina foi elegível, onde o corte da cana era feito manualmente. Essa era a maior usina da região, representando quase a totalidade de cortadores de cana-de-açúcar manuais do Estado.

4.2 Recrutamento e Critérios de Inclusão e Exclusão

Os critérios de inclusão foram: ter idade igual ou superior a 18 anos e ser cortador manual de cana. Os critérios de exclusão foram: não ter relações sexuais na vida.

O recrutamento dos participantes foi realizado por um integrante da pesquisa, que primeiramente apresentou o projeto e seus respectivos objetivos, a importância do estudo em termos de conhecimento em relação às hepatites virais, HIV e sífilis, além do fornecimento de vacinas contra tétano e hepatite B. A amostra mínima necessária foi de 795 cortadores de cana, considerando um poder estatístico de 80% ($\beta=20\%$), nível de significância de 95% ($\alpha=0,05$), precisão de 1%, desenho de efeito de 1,5, prevalência

para anti-HCV de 1,38% (PEREIRA et al., 2013). Porém, todos os cortadores que se encontravam nos locais de coleta foram convidados a fazer parte da pesquisa, totalizando uma população de 937 cortadores de cana, com 636 localizados em Goiás e 301 em Santo Rita-PB.

4.3 Coleta de Dados e Amostras de Sangue

Todos os participantes receberam informações sobre os riscos e benefícios da participação na pesquisa, assim como a liberdade de sair da mesma a qualquer momento. Os indivíduos que consentiram em participar da investigação, mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foram entrevistados no próprio local de trabalho (canavial), de forma individual e confidencial. Em caso de analfabetismo, o TCLE foi lido para o indivíduo e a assinatura do participante foi dactiloscópica. As entrevistas foram conduzidas utilizando um questionário estruturado adaptado, contendo dados sociodemográficos e possíveis fatores de risco associados a infecção pelo HCV.



Figura 7 - Entrevista aos cortadores de cana-de-açúcar manual

Após a entrevista, foi realizada coleta de sangue por punção venosa periférica (aproximadamente 10 mL). De cada amostra sanguínea, foram utilizados 10 μ L do sangue total para a realização do teste rápido no canavial e o restante foi armazenado em tubos de ensaios enumerados com o número do questionário e as iniciais do nome do participante. Em seguida, foram transportadas ao laboratório de apoio das respectivas cidades incluídas no estudo para serem centrifugadas. Os soros foram aliquotados em dois tubos, congelados e acondicionados em caixas térmicas com gelo para o transporte

até o Laboratório de Virologia do IPTSP/UFG em Goiânia-GO, onde foram armazenadas a -20°C até a realização dos testes laboratoriais. A Figura 7 mostra o fluxograma do estudo.



Figura 8 - Realização dos testes rápidos para HIV, Sífilis e Hepatites B e C



Figura 9 - Entrega do resultado dos testes rápidos e aconselhamento pós-teste individual.

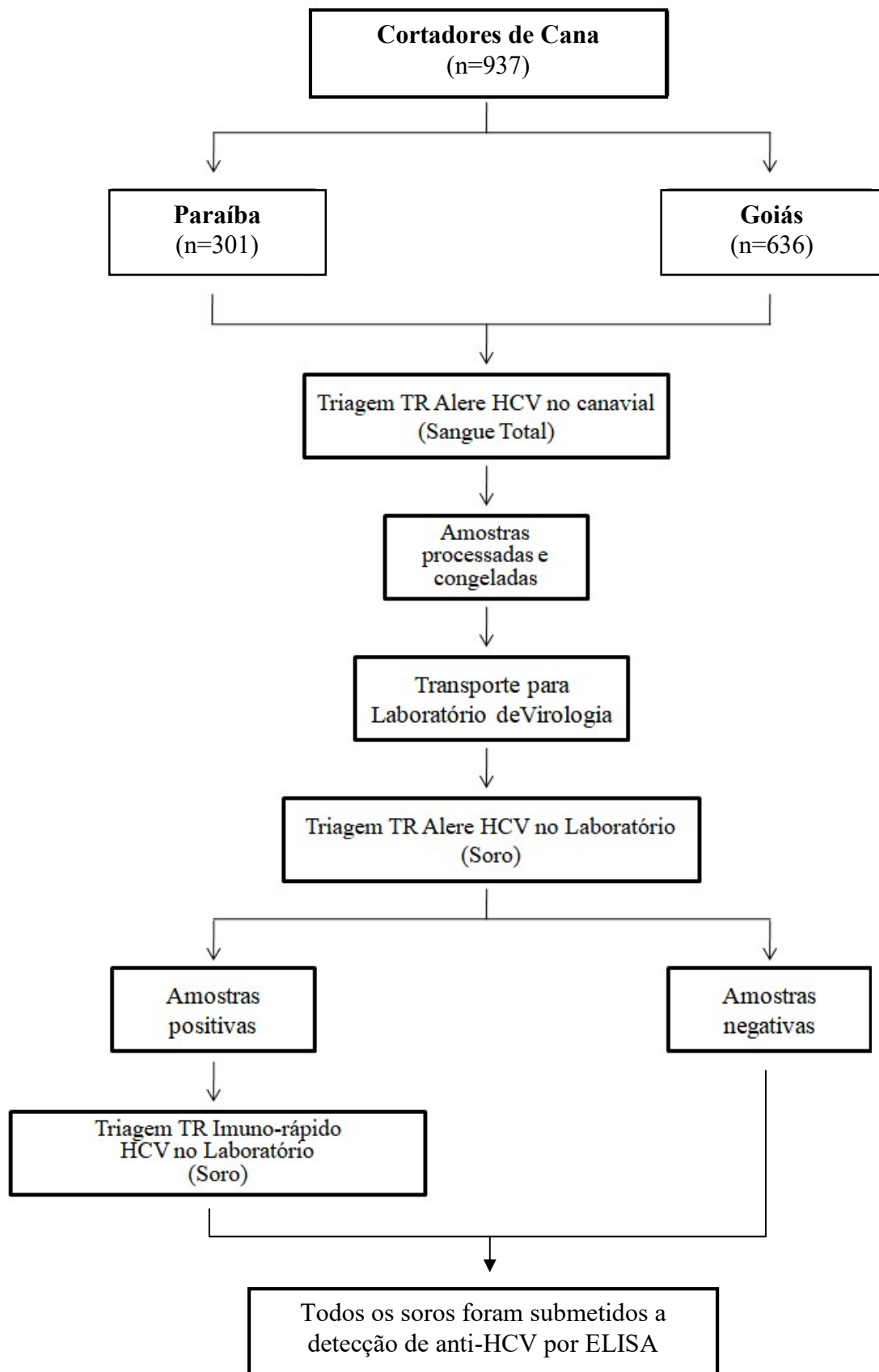


Figura 10 - Fluxograma do estudo.

4.4 Testes Sorológicos

4.4.1 Teste Rápido

Todas as amostras foram inicialmente triadas pelo teste rápido qualitativo Alere HCV (*Standard Diagnostic Inc* - Coréia do Sul) para detecção de anti-HCV no próprio local da coleta, ou seja, nos canaviais (Santa Rita-PB e Goiás). O resultado do exame foi liberado entre 20 e 25 minutos, conforme instruções do fabricante.

No Laboratório de Virologia, todas as amostras foram submetidas novamente ao teste rápido Alere HCV e, as amostras reagentes foram retestadas pelo Imuno-rápido HCV (WAMA Diagnóstica, Brasil) de acordo com as instruções dos fabricantes (Anexos 4 e 5) para confirmar os resultados obtidos. As características dos TRs utilizados estão apresentados no Quadro 2.

Quadro 2. Características técnicas dos dois testes rápidos utilizados para triagem do anti-HCV.

Características técnicas	Alere (Local de coleta e Laboratório)	Imuno-rápido HCV (Laboratório de Virologia)
Fabricante	Standard Diagnostics Inc	WAMA Diagnóstica
País	Coréia do Sul	Brasil
Sensibilidade	100%	100%
Especificidade	99,42%	99,8%
Antígenos	<i>core</i> , NS3, NS4, NS5	<i>core</i> , NS3, NS4, NS5

4.4.2 - Ensaio Imunoenzimático - ELISA

Ainda no Laboratório de Virologia, todos os soros foram submetidos a triagem de anti-HCV por ELISA de terceira geração, Bioelisa HCV 4.0 (*Biokit S.A* - Espanha) e Symbiosys HCV (Symbiosys Diagnóstica - Brasil) de acordo com as recomendações dos fabricantes (Anexos 6 e 7). As características dos kits comerciais utilizados estão apresentados no Quadro 3.

Quadro 3. Características dos kits de ELISA comerciais utilizados na pesquisa.

Características técnicas	Bioelisa	Symbiosys
Fabricante	BIOKIT, S.A.	Symbiosys Diagnóstica
País	Espanha	Brasil
Sensibilidade	100%	100%
Especificidade	99,63%	99,7%
Fase sólida	<i>Core</i> , NS3, NS4 e NS5	<i>Core</i> , NS3, NS4 e NS5

4.5 Processamento e Análise dos Dados

Os dados das entrevistas e os resultados dos testes sorológicos foram digitados em microcomputador e analisados nos programas “EpiInfo versão 3.5.1” (Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA) e SPSS, versão 11.0 (SPSS for Windows, 11.0). A análise descritiva foi realizada por meio de distribuição de frequências, cálculo da média de idade e seu desvio padrão. A prevalência foi calculada com seu respectivo intervalo de confiança de 95% (IC 95%).

4.6 Aspectos Éticos e Financiamento

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás (UFG) (Protocolo nº 1.147.258), em Goiânia-GO e pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley, da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) (Parecer nº 1507737). O projeto foi financiado pelo Edital CNPq universal/2014 Processo:442404/2014-0.

5. RESULTADOS

5.1 Características Sociodemográficas dos Cortadores de Cana-de-açúcar

A Tabela 1 apresenta as variáveis sociodemográficas dos cortadores de cana nos Estados de Goiás e Paraíba. Todos os participantes foram do sexo masculino. Verificou-se que a média de idade foi de 35,4 anos (dp 9,2), sendo que 40,5% tinham idade variando entre 30 e 39 anos.

Em relação ao grau de instrução dos cortadores de cana, 47,4% dos indivíduos declararam ter até quatro anos de escolaridade. A maioria dos participantes (85,7%) era natural da Região Nordeste do país e 77,5% eram casados e/ou com união estável. Além disso, 78,8% dos 937 participantes referiram renda mensal inferior ou igual a R\$ 2.000,00 (dois mil reais) por mês.

Tabela 1. Características sociodemográficas de 937 cortadores de cana em Goiás e Paraíba

<i>Característica</i>	<i>Paraíba (n = 301) f (%)</i>	<i>Goiás (n=636) f (%)</i>	<i>Total f (%)</i>
Idade (anos) – 35,4 (9,2)*			
18 – 29	76 (25,2)	190 (29,9)	266 (28,4)
30 – 39	121 (40,2)	259 (40,7)	380 (40,5)
40 – 67	104 (34,6)	187 (29,4)	291 (31,1)
Escolaridade (anos)			
≤ 4 anos	183 (60,8)	261 (41,0)	444 (47,4)
5 a 8 anos	84 (27,9)	225 (35,4)	309 (33,0)
≥ 9 anos	34 (11,3)	150 (23,6)	184 (19,6)
Renda familiar mensal (reais) – 1801 (438)*			
≤ 1500	139 (46,2)	187 (29,4)	326 (34,8)
1500 – 2000	137 (45,5)	275 (43,2)	412 (44,0)
2001 – 6000	25 (8,3)	174 (27,4)	199 (21,2)
Naturalidade			
Nordeste	301 (100)	502 (79,0)	803 (85,7)
Centro-Oeste	0	129 (20,3)	129 (13,8)
Norte	0	4 (0,6)	4 (0,4)
Sudeste	0	1 (0,1)	1 (0,1)
Estado civil			
Casado/União estável	274 (91,0)	452 (71,0)	726 (77,5)
Solteiro/Separado/Viúvo	27 (9,0)	184 (29,0)	211 (22,5)

* média (desvio padrão)

5.2 Detecção de anti-HCV

5.2.1 Triagem por Testes Rápidos

No presente estudo, as 937 amostras de cortadores de cana foram inicialmente triadas para anti-HCV por teste rápido (Alere HCV) no local da coleta utilizando sangue total. Destas, cinco amostras foram reagentes, sendo todas de cortadores de Santa Rita-PB. Posteriormente, todas as amostras foram retestadas no laboratório com os soros estocados (TR Alere HCV). Das cinco amostras reagentes anteriormente, somente uma amostra se manteve positiva.

Adicionalmente, um segundo teste rápido (Immuno-rápido HCV) foi utilizado para esclarecer o diagnóstico das cinco amostras inicialmente reagentes que foram consideradas não reagentes (Tabela 2).

Tabela 2. Detecção de anti-HCV por Testes rápidos Alere HCV e Imuno-Rápido HCV.

Amostra	TR Alere HCV Triagem Local (Sangue Total)	TR Alere HCV Laboratório (Soro)	TR Imuno-rápido HCV Laboratório (Soro)
CAP 24	Reagente	Reagente	Não reagente
CAP 27	Reagente	Não reagente	Não reagente
CAP 49	Reagente	Não reagente	Não reagente
CAP 197	Reagente	Não reagente	Não reagente
CAP 209	Reagente	Não reagente	Não reagente

*CAP: cortadores de cana de Paraíba

5.2.2 Testagem por ELISA

As 937 amostras de cortadores de cana também foram testadas para anti-HCV por dois kits comerciais de ELISA de fabricantes diferentes (BioKit e Symbiosys). Todas as amostras foram não reagentes, inclusive as cinco amostras com resultados reagentes pelo TR Alere HCV realizado no local da coleta (canavial).

Considerando os resultados apresentados, a prevalência da infecção pelo HCV (anti-HCV) em cortadores de cana-de-açúcar de Goiás e Paraíba foi de 0,0% (IC 95%: 0,00–0,38%).

5.3 Características de risco dos cortadores de cana-de-açúcar localizados em Goiás e Santa Rita-PB

Apesar da ausência do marcador anti-HCV nos cortadores de cana estudados, alguns participantes relataram comportamentos de risco associados a principal via de transmissão do HCV (Tabela 4). A maioria dos cortadores de cana (53,9%) relatou acidente com ferramenta de trabalho e 45,8% deles já compartilharam material de uso pessoal. Em relação a drogas ilícitas, 13,4% mencionaram já ter usado em algum momento da vida e a grande maioria dos cortadores de cana (77,3%) referiram a ingestão de álcool.

Tabela 3. Variáveis de risco relatadas pelos cortadores de cana estudados.

<i>Característica</i>	<i>N</i>	<i>%</i>
Caso de hepatite na família		
Sim	74	7,9
Não	858	91,6
Não sabe	5	0,5
Álcool		
Não	213	22,7
Sim	724	77,3
Já usou drogas ilícitas		
Sim	126	13,4
Não	811	86,6
Uso de drogas injetáveis		
Sim	2	0,2
Não	935	99,8
Tatuagem/piercing		
Sim	106	11,3
Não	831	88,7
História de hemotransusão		
Sim	38	4,1
Não	899	95,9
Hemotransusão antes 1994		
Sim	16	1,7
Não	14	1,5
Não lembra	8	0,8

Tabela 3. Variáveis de risco relatadas pelos cortadores de cana estudados (Continuação).

<i>Característica</i>	<i>N</i>	<i>%</i>
Histórico de prisão		
Sim	90	9,6
Não	847	90,4
Histórico de internação		
Sim	515	55,0
Não	422	45,0
Acidente com ferramenta de trabalho		
Sim	505	53,9
Não	432	46,1
Compartilhamento de material cortante de higiene		
Não	501	53,5
Sim	429	45,8
Não lembra	7	0,7
Histórico de hemodiálise		
Não	934	99,7
Sim	3	0,3
Número de parceiros sexuais nos últimos 12 meses		
≤ 1 parceiro (a)	564	60,2
≥ 2 parceiros (as)	373	39,8%
Relação sexual com parceiro do mesmo sexo		
Sim	52	5,5
Não	885	94,5
Abuso sexual		
Sim	13	1,4
Não	924	98,6
Uso de preservativos nos últimos 12 meses		
Sempre	222	23,7
As vezes/nunca	715	76,3

6. DISCUSSÃO

A função extenuante executada pelo cortador de cana-de-açúcar, associada à exposição direta à queima de biomassa, contribui para o desgaste físico e psicológico, juntamente com as características dessa população, como má alimentação, pouca ingestão de líquido, tabagismo e consumo de álcool, fatores que afetam a qualidade de vida relacionada à saúde (ROCHA; MARZIALE; HONG, 2010). Existem alguns estudos que abordam a condição de trabalho dos cortadores de cana-de-açúcar, no entanto, não há pesquisas que analisem a saúde, principalmente as doenças infecciosas, como as hepatites virais nesses indivíduos.

No presente estudo, a média de idade da população foi de 35,4 anos, constituída exclusivamente de indivíduos do sexo masculino, com baixo nível de escolaridade. O perfil da população analisada no presente estudo é concordante com o observado por Rocha, Marziale e Hong (2010) em um grupo de cortadores de cana do estado de São Paulo. O perfil jovem e masculino da população é condizente com o tipo de atividade laboral que eles realizam no dia a dia que exige extremo esforço físico e resistência.

A prevalência da infecção pelo vírus da hepatite C em cortadores de cana dos Estados de Goiás e Paraíba foi de 0,0% (IC 95%: 0,00-0,38%), evidenciando a não exposição ao HCV neste grupo. Até a realização deste estudo não existiam dados publicados sobre as estimativas do HCV em cortadores de cana. Esta pesquisa foi publicada recentemente no periódico BMC Infectious Diseases (Anexo 3). Os cortadores de cana são uma população peculiar, entretanto, possui características que se aproximam da população rural, onde os estudos também mostraram baixa endemicidade da infecção pelo HCV (ARAÚJO et al., 2014; MELO et al., 2015).

Na investigação conduzida por Melo e colaboradores (2015) foi verificado uma prevalência de anti-HCV de 0,4% (IC 95%: 0,10-1,02) em indivíduos rurais de Cássia dos Coqueiros-SP. Em comunidades na Amazônia, a positividade para anti-HCV foi de 0,38% (IC 95%: 0,0-2,1) (EL KHOURI et al., 2005). Em assentados da Região Centro-Oeste, a prevalência do anti-HCV foi de 0,43% (IC 95%: 0,14-1,19) (ARAÚJO et al., 2014) e em comunidades de afrodescendentes de Goiás a positividade para anti-HCV foi de 0,57% (IC 95%: 0,2-1,4) (MATOS et al., 2009). Outro estudo realizado por Silva e colaboradores em 1995, na população rural de Castro Alves - BA, assim como neste estudo não foi evidenciado nenhum caso de hepatite C (SILVA et al., 1995). Estes

dados de estimativas de prevalência do HCV conduzidos em populações rurais corroboram o do presente estudo.

Em relação a prevalência mundial, os países como Índia, Vietnã e Turquia possuem endemicidade do HCV semelhante a do Brasil. Um estudo internacional realizado em área rural da Índia por Chadha, Tungatkar e Arankalle (1999), a prevalência do anti-HCV foi de 0,0% (IC 95%: 0,0-6,5%) semelhante a encontrada no presente estudo. Outras investigações realizadas em populações rurais do Vietnã e Turquia relataram taxas de prevalência para anti-HCV de 1,0% (IC 95%: 0,4%-1,9%) e 1,0% (IC 95%: 0,7%-1,4%), respectivamente, sendo relativamente superiores a encontrada na população de cortadores de cana (NGUYEN; MCLAWS; DORE, 2007; AKCAM et al., 2009). Estes dados mostraram que a circulação do HCV em populações rurais de outra regiões e do presente estudo são baixas.

A baixa endemicidade do HCV em populações rurais, provavelmente está relacionado aos poucos casos de uso de drogas injetáveis e antecedentes de hemotransfusao (SILVA et al., 1995; COUTINHO et al., 2019). De fato, somente dois cortadores de cana relataram uso de drogas injetáveis e 16 referiram transfusao antes de 1994. Entretanto, estudos investigativos sobre a soropidemiologia do HCV neste grupo são importantes, pois alguns participantes do estudo mencionaram comportamentos de risco para transmissão do HCV (ALTER, 2011). Recentemente, nosso grupo de pesquisa analisou dados de 1.600 indivíduos que negaram antecedentes de consumo de drogas injetáveis e hemotransfusao, e verificaram que *tatuagem/piercing*, compartilhamento de material de uso pessoal e uso de drogas não injetáveis foram preditores de positividade ao HCV (TELES et al., 2017). Estes comportamentos foram identificados entre os cortadores de cana investigado, evidenciando o potencial de disseminação viral.

Os resultados inicialmente reagentes do TR (Alere HCV) para anti-HCV da presente investigação foram considerados falso-positivos. É importante ressaltar que a aplicação de um único ensaio para detecção do anti-HCV, mesmo com alta especificidade (99%), pode resultar em números consideráveis de diagnósticos falso-positivos, principalmente em populações de baixa endemicidade para o HCV ($< 0,1\%$) (PARRY; EASTERBROOK; SANDS, 2017), como os cortadores de cana. Um estudo clínico para avaliar aplicabilidade do TR foi conduzido em 84 pacientes com infecção pelo HCV e 105 controles negativos, e doze pacientes (12/105) tiveram resultados falso-

positivos no TR. Os pesquisadores não conseguiram identificar nenhuma condição clínica associada a baixa a especificidade do ensaio (KANT et al., 2013).

Quando a sensibilidade do teste é alta (100%), as reações falso-negativas são raras, a maioria dos ensaios anti-HCV tem alta sensibilidade (PARRY; EASTERBROOK; SANDS, 2017). Outras publicações também mostraram que os testes rápidos apresentam sensibilidade e especificidade superior a 90% (O'CONNELL et al., 2013; HAYES et al., 2014; FISHER et al., 2015; CHEVALIEZ et al., 2016). Nos testes rápidos utilizados no presente estudo, a sensibilidade, de acordo com o fabricante, é de 100% para ambos, a especificidade do teste Imuno-Rápido é de 99,8% e do Alere HCV de 99,42% (Anexo 4 e 5), sendo que o Imuno-Rápido apresentou melhor desempenho em relação a especificidade na presente investigação, esclarecendo os resultados como falso-positivos. O teste da Imuno-Rápido foi avaliado por Scalioni e colaboradores em 2014, em diferentes grupos de baixo e alto risco para aquisição do HCV, e este apresentou elevada sensibilidade e especificidade e excelente reprodutibilidade (SCALIONI et al., 2014).

Na presente investigação, verificou-se concordância entre o TR Imuno-Rápido e os ensaios imunoenzimáticos. Estudos que avaliaram esse TR mostram que ela apresenta sensibilidade e especificidade elevadas (KOSACK; NICK, 2016; TANG et al., 2017).

Um fato que poderia ser questionável para justificar os resultados falso-positivos seria possíveis erros operacionais da equipe durante a realização do TR. Entretanto, a equipe era altamente qualificada e extremamente cuidadosa em todos os aspectos relacionados ao procedimento do teste e seguiu rigorosamente todas as especificações do fabricante. O desempenho dos TR ou outros ensaios são frequentemente geradas em condições laboratoriais ideais, usando pessoal altamente treinado, provavelmente não sendo realizadas em condições de campo. No presente estudo houve uma pequena variabilidade no desempenho do ensaio realizado no canavial e posteriormente no laboratório (TR Alere HCV). Outro estudo também verificou uma variação de resultados em relação ao local de realização do TR campo versus laboratório (SMITH et al., 2012).

Segundo a literatura, os resultados falso-positivos podem ocorrer também devido as reações cruzadas em resposta a anticorpos de outros patógenos, imunizações, autoanticorpos e gravidez (KLARKOWSKI et al., 2014; PARRY; EASTERBROOK; SANDS, 2017). Um estudo verificou falso-positivos nos testes rápidos para o HCV

devido as reações cruzadas o *Plasmodium vivax* (SCALIONI et al., 2014). No presente estudo, este agente não foi pesquisado, mas as amostras com resultados discordantes foram testadas para o HBV, HIV e sífilis e não foram detectadas coinfeções com esses agentes.

Outra questão seria em relação aos tipos de espécimes biológicos (soro, sangue total, plasma e secreção oral) utilizados para a realização dos testes rápidos. No local da coleta (canavial) foi empregado o sangue total para a pesquisa de anti-HCV e, no laboratório, o soro. De acordo com o protocolo dos TRs (Anexo 4 e 5) utilizados na pesquisa, os testes podem ser realizados utilizando soro ou sangue total. Em uma investigação realizada por Kant e colaboradores (2013), os autores utilizaram o sangue total e soro para pesquisa de anti-HCV por TR (Toyo anti-HCV), os dados mostraram que a aplicabilidade do teste foi aceitável com amostras de soro (98%), mas foi menor com sangue total (90%) (KANT et al., 2013). Por outro lado, em uma meta-análise publicada em 2012, os pesquisadores verificaram que independente do espécime biológico utilizado (soro, plasma, sangue total e fluido oral) nos TR para triagem do anti-HCV, os resultados foram precisos e adequados para o rastreamento da hepatite C (SHIVKUMAR et al., 2012).

Uma hipótese que poderia ser discutida seria em relação a triagem inicial que foi realizada no próprio canavial, um ambiente extremamente hostil, no qual os cortadores não queriam se deslocar do local de corte da cana, pois o ganho é de acordo com a sua produtividade. O desempenho dos TR ou outros ensaios é frequentemente avaliado em condições laboratoriais ideais, com pessoal altamente treinado e provavelmente não é realizado em condições de campo. No presente estudo, houve uma pequena discordância entre os resultados do ensaio realizado no canavial e posteriormente no laboratório (TR Alere HCV).

Nossos dados sugerem que os TRs podem ser usados para detecção de anticorpos específicos (anti-HCV). Apesar dos resultados falso-positivos encontrados em cinco amostras (5/937), é importante ressaltar que nenhum resultado falso-negativo foi observado, o que implica que estes testes rápidos possuem uma alta sensibilidade ao anti-HCV, portanto são apropriados e viáveis para populações de difícil acesso, como cortadores de cana e outras. Essa abordagem vem de encontro com as expectativas do Ministério da Saúde que pretende eliminar a hepatite C no Brasil até 2030. A ideia é simplificar o diagnóstico, ampliar a testagem e fortalecer o atendimento às hepatites

virais. Atualmente, o tratamento disponível no SUS possibilita em mais de 90% a chance de cura (BRASIL, 2018b).

O controle da infecção pelo HCV dependerá fortemente da capacidade de identificar pessoas que vivem com hepatite C crônica e oferecer-lhes tratamento. O teste para triagem simplificado e o monitoramento pós-tratamento será fundamental para que tais esforços sejam viáveis. Atualmente, custos e complexidade do algoritmo de diagnóstico são barreiras notáveis para o controle da hepatite C em vários países. Com a disponibilidade de tratamento antiviral altamente eficaz, a possibilidade de curar a grande maioria dos pacientes é agora um objetivo realista. O desafio futuro será implementar diferentes algoritmos de diagnóstico para o HCV, com metodologia mais simplificada, como os testes rápidos, que são ideais em situações onde o acesso a infraestrutura laboratorial é limitado, como para a testagem em diversos segmentos populacionais (EASTERBROOK et al., 2016).

7. CONCLUSÕES

- A população estuda foi constituída por indivíduos do sexo masculino (100%), com média de idade de 35,4 anos, com até quatro anos de escolaridade (47,4%) e renda mensal inferior a R\$ 2.000,00 por mês;
- A prevalência global da infecção pelo vírus da hepatite C em cortadores de cana em Goiás e Paraíba foi de 0,0% (IC 95%: 0,00-0,38%).
- Características de risco para potencial disseminação viral foram tatuagem/piercing, compartilhamento de material de uso pessoal e uso de drogas não injetáveis.
- Os testes rápidos possuem uma alta sensibilidade ao anti-HCV, portanto são apropriados e viáveis para populações de difícil acesso, como cortadores de cana e outros seguimentos populacionais.

REFERÊNCIAS

- ABOU-SETTA, A. M. Transmission risk of hepatitis C virus via semen during assisted reproduction: how real is it? **Hum Reprod**, v. 19, n. 12, p. 2711-2717, 2004.
- AKCAM, F. Z. et al. Hepatitis B virus and hepatitis C virus seroprevalence in rural areas of the southwestern region of Turkey. **Int J Infect Dis**, v. 13, n. 2, p. 274-284, 2009.
- ALESSI, N. P.; NAVARRO, V. L. Saúde e trabalho rural: o caso dos trabalhadores da cultura canavieira na região de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 13, supl. 2, p. S111-S121, 1997.
- ALMEIDA, D. et al. Serological markers of hepatitis A, B and C viruses in rural communities of the semiarid Brazilian Northeast. **Braz J Infect Dis**, v. 10, n. 5, p. 317-21, 2006.
- ALTER, M. J. HCV routes of transmission: what goes around comes around. **Semin Liver Dis**, v. 31, n. 4, p. 340-346, 2011.
- ALTER, M. J. et al. Prevention of spread of hepatitis C. **Hepatology**, v. 36, n. 5, Suppl. 1, p. S93-8, 2002.
- ALVES, F. Por que morrem os cortadores de cana? **Saude soc**, v. 15, n. 3, p. 90-98, 2006.
- ANSALDI, F. et al. Hepatitis C virus in the new era: perspectives in epidemiology, prevention, diagnostics and predictors of response to therapy. **World J Gastroenterol**, v. 20, n. 29, p. 9633-9652, 2014.
- ARAÚJO, L. A. et al. **Investigação epidemiológica e molecular da infecção pelo vírus da hepatite C em assentados nos estados de Goiás e Mato Grosso do Sul, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical e Saúde Pública) - Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás: 1-104, 2014.
- BARBOSA, A. P. et al. Prevalence of hepatitis C virus infection among hemophiliacs in Central Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 5, p. 643-44, 2002.
- BARROS, J. et al. As condições de trabalho no setor sucroalcooleiro. **Repórter Brasil**. 2014. Disponível em: <https://reporterbrasil.org.br/wp-content/uploads/2015/02/26.-Folder_Sucroalcooleiro_web_baixa.pdf> Acesso em 22 de ago. de 2018.
- BAUMERT, T. F. et al. A prophylactic hepatitis C virus vaccine: a distant peak still worth climbing. **J Hepatol**, v. 61, n. 1, p. S34-44, 2014.
- BENOVA, L. et al. Vertical transmission of hepatitis C virus: systematic review and meta-analysis. **Clin Infect Dis**, v. 59, n. 6, p. 765-773, 2014.

BRANDÃO, A. B. M. et al. Diagnóstico da hepatite C na prática médica: revisão da literatura. **Pan Am J Public Health**, v. 9, n. 3, p. 161-168, 2001.

BRASIL. Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais – 2017. Secretaria de Vigilância em Saúde - **Ministério da Saúde**, v. 48, n. 24, 2017.

BRASIL. Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais – 2018. Secretaria de Vigilância em Saúde - **Ministério da Saúde**, v. 48, n. 24, 2018c.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria n. 1.376, de 19 de novembro de 1993**. Diário Oficial da União, Brasília-DF, 1993.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria n. 2.265, de 16 de outubro de 2014**. Diário Oficial da União, Brasília-DF, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. O Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais. **Ministério da Saúde**, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. O Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais. **Ministério da Saúde**, 2018a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções. Nº360. **Ministério da Saúde**, 2018b.

BRASS, V.; MORADPOUR, D.; BLUM, H. E. Molecular Virology of Hepatitis C Virus (HCV): 2006 Update. **Int J Med Sci**, v. 3, n. 2, p. 29-34, 2006.

BROWNE, R. et al. Increased numbers of acute hepatitis C infections in HIV positive homosexual men; is sexual transmission feeding the increase? **Sex Transm Infect**, v. 80, p. 326-7, 2004.

CACOUB, P. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C virus infection. **Ther Adv Infect Dis**, v. 3, n. 1, p. 3-14, 2016.

CARRÈRE-KREMER, S. et al. Regulation of hepatitis C virus polyprotein processing by signal peptidase involves structural determinants at the p7 sequence junctions. **J Biol Chem**, v. 279, n. 40, p. 41384-41392, 2004.

CDC. **Centers for Disease Control and Prevention**. Hepatitis C. 2015. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/hepatitis/hcv/index.htm>> Acesso em 13 de set. de 2018.

CHADHA, M. S.; TUNGATKAR, S. P.; ARANKALLE, V. A. Insignificant prevalence of antibodies to hepatitis C in a rural area of western Maharashtra. **Indian J Gastroenterol**, v. 18, n. 1, p. 22-23, 1999.

CHAN, D. P. et al. Sexually acquired hepatitis C virus infection: a review. **Int J Infect Dis**, v. 49, p. 47-58, 2016.

CHEVALIEZ, S. et al. Prospective assessment of rapid diagnostic tests for the detection of antibodies to hepatitis C virus, a tool for improving access to care. **Clin Microbiol Infect**, v. 22, n. 5, p. 459.e1-6, 2016.

CHEVALIEZ, S. Virological tools to diagnose and monitor hepatitis C virus infection. **Clin Microbiol Infect**, v. 17, n. 2, p. 116-121, 2011.

CHEVALIEZ, S.; PAWLITSKY, J. M. Hepatitis C virus: virology, diagnosis and management of antiviral therapy. **World J Gastroenterol**, v. 13, n. 17, p. 2461-2466, 2007.

CHEVALIEZ, S.; PAWLITSKY, J. M. New virological tools for screening, diagnosis and monitoring of hepatitis B and C in resource-limited settings. **J Hepatol**, v. 69, n. 4, p. 916-926, 2018.

CHOO, Q. L. et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. **Science**, v. 244, n. 4902, p. 359-362, 1989.

CLARKE, B. Molecular virology of hepatitis C virus. **J of General Virology**, v. 78, p. 2397-2410, 1997.

COELHO, N. Saúde lança plano para eliminar hepatite C. **Ministério da Saúde**, 2018. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/43763-ministerio-da-saude-lanca-plano-para-eliminar-hepatite-c-ate-2030>> Acesso em 02 de ago. de 2018.

COLIN, C. et al. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: An analysis of the literature. **J Viral Hepat**, v. 8, p. 87-95, 2001.

COUTINHO, C. et al. The risks of HCV infection among Brazilian crack cocaine users: incorporating diagnostic test uncertainty. **Scientific Reports**, v. 9, p. 443, 2019.

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

DUBUISSON, J. Hepatitis C virus proteins. **World J Gastroenterol**, v. 13, n. 17, p. 2406-2415, 2007.

DUBUISSON, J.; COSSET, F. L. Virology and cell biology of the hepatitis C virus life cycle: an update. **J Hepatol**, v. 61, n. 1, p. S3-S13, 2014.

EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. **European Association for the Study of Liver**; 2014.

EASTERBROOK, P. J.; WHO Guidelines Development Group. Who to test and how to test for chronic hepatitis C infection - 2016 WHO testing guidance for low- and middle-income countries. **J Hepatol**, v. 65, Suppl 1, p. S46-S66, 2016.

- EL KHOURI, M. et al . Seroprevalence of hepatitis B virus and hepatitis C virus in Monte Negro in the Brazilian western Amazon region. **Clinics**, v. 60, n. 1, p. 29-36, 2005.
- FARCI, P. et al. Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees by hyperimmune serum against the hypervariable region 1 of the envelope 2 protein. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 93, n. 26, p. 15394-15399, 1996.
- FARCI, P. The outcome of acute hepatitis C predicted by the evolution of the viral quasispecies. **Science**, v. 288, n. 5464, p. 339-44, 2000.
- FAUTEUX-DANIEL, S. et al. Vertical Transmission of Hepatitis C Virus: Variable Transmission Bottleneck and Evidence of Midgestation In Utero Infection. **J Virol**, v. 91, n. 23, p. e01372-17, 2017.
- FEINSTONE, S. M. et al. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. **N Engl J Med**, v. 292, n. 15, p. 767-770, 1975.
- FEINSTONE, S. M.; KAPIKIAN, A. Z.; PURCELL, R. H. Hepatitis A: detection by immunoelectron microscopy of a viruslike antigen associated with acute illness. **Science**, v. 182, n.116, p. 1026-1028, 1973.
- FISHER, D. G. et al. Comparison of Rapid Point-of-Care Tests for Detection of Antibodies to Hepatitis C Virus. **Open Forum Infect Dis**, v. 2, n. 3, p. ofv101, 2015.
- GAO, F. Performance of the OraQuick HCV rapid antibody test for screening exposed patients in a hepatitis C outbreak investigation. **J Clin Microbiol**, v. 52, n. 7, p. 2650-2562, 2014.
- GHANY, M. G. et al. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. **Hepatology**, v. 49, n. 4, p. 1335-1374, 2009.
- GOWER, E. et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. **J Hepatol**, v. 61, n. 1, p. S45-57, 2014.
- GRIFFIN, S. D. et al. The p7 protein of hepatitis C virus forms an ion channel that is blocked by the antiviral drug, Amantadine. **FEBS Lett**, v. 535, n. 1-3, p. 34-38, 2003.
- GRIGNOLI, R.; GOOSSENS, N.; NEGRO, F. Extrahepatic manifestations of HCV. **Minerva Gastroenterol Dietol**, v. 61, n. 1, p. 31-38, 2015.
- GUILLOU-GUILLEMETTE, L. H. et al. Genetic diversity of the hepatitis C virus: impact and issues in the antiviral therapy. **World J Gastroenterol**, v. 13, n. 17, p. 2416-2426, 2007.
- GUO, X.; ZHONG, J. Y.; LI, J. W. Hepatitis C Virus Infection and Vaccine Development. **J Clin Exp Hepatol**, v. 8, n. 2, p. 195-204, 2018.

- HAURI, A. M.; ARMSTRONG, G. L.; HUTIN, Y. J. The global burden of disease attributable to contaminated injections given in health care settings. **Int J STD AIDS**, v. 15, n. 1, p. 7-16, 2004.
- HAYES, B. et al. Preference, acceptability and implications of the rapid hepatitis C screening test among high-risk young people who inject drugs. **BMC Public Health**, v. 14, p. 645, 2014.
- HÉZODE, C. et al. Elbasvir/Grazoprevir for Patients With Hepatitis C Virus Infection and Inherited Blood Disorders: A Phase III Study. **Hepatology**, v. 66, n. 3, p. 736-745, 2017.
- ICTV 2018. International Committee on Taxonomy of Viruses. Hepatitis C virus. Virus Taxonomy: 2018 Release. EC 50, Washington, DC, July 2018. Disponível em: <<https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>> Acesso em: 14 fev. 2018.
- INDOLFI, G.; NESI, A.; RESTI, M. Intrafamilial transmission of hepatitis C virus. **J Med Virol**, v. 85, n. 4, p. 608-614, 2013.
- JADOUL, M. Transmission routes of HCV infection in dialysis. **Nephrol Dial Transplant**, v. 11, n. 4, p. 36-38, 1996.
- JONES, C. T. et al. Hepatitis C virus p7 and NS2 proteins are essential for production of infectious virus. **J Virol**, v. 81, n. 16, p. 8374-8383, 2007.
- KAITO, M. et al. Hepatitis C virus particle detected by immunoelectron microscopic study. **J Gen Virol**, v. 75, Pt. 7, p. 1755-60, 1994.
- KAITO, M. et al. Morphology of hepatitis C and hepatitis B virus particles as detected by immunogold electron microscopy. **Med Mol Morphol**, v. 39, n. 2, p. 63-71, 2006.
- KAMILI, S. et al. Infectivity of hepatitis C virus in plasma after drying and storing at room temperature. **Infect Control Hosp Epidemiol**, v. 28, n. 5, p. 519-24, 2007.
- KAMILI, S. et al. Laboratory diagnostics for hepatitis C virus infection. **Clin Infect Dis**, v. 11, n. 1, p. S43-S48, 2012.
- KANT J. et al. Evaluation of a rapid on-site anti-HCV test as a screening tool for hepatitis C virus infection. **Eur J Gastroenterol Hepatol**, v. 25, n. 4, p. 416-20, 2013.
- KATO, N. Molecular virology of hepatitis C virus. **Acta Med Okayama**, v. 55, n. 3, p. 133-159, 2001.
- KEW, M. et al. Prevention of hepatitis C virus infection. **J Viral Hepat**, v. 11, n. 3, p. 198-205, 2004.
- KLARKOWSKI, D. et al. Causes of false-positive HIV rapid diagnostic test results. **Expert Rev Anti Infect Ther**, v. 12, n. 1, p. 49-62, 2014.

- KOMURIAN-PRADEL, F. et al. Antigenic relevance of F protein in chronic hepatitis C virus infection. **Hepatology**, v. 40, n. 4, p. 900-9, 2004.
- KOSACK, C. S.; NICK, S. Evaluation of two rapid screening assays for detecting hepatitis C antibodies in resource-constrained settings. **Trop Med Int Health**, v. 21, n. 5, p. 603-9, 2016.
- KUMAR, A. et al. Genotyping & diagnostic methods for hepatitis C virus: A need of low-resource countries. **Indian J Med Res**, v. 147, n. 5, p. 445-455, 2018.
- KUO, G. et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. **Science**, v. 244, n. 4902, p. 362-364, 1989.
- LAPERCHE, S. et al. Sensitivity of hepatitis C virus core antigen and antibody combination assays in a global panel of window period samples. **Transfusion**, v. 55, n. 10, p. 2489-98, 2015.
- LI, H. C.; LO, S. Y. Hepatitis C virus: Virology, diagnosis and treatment. **World J Hepatol**, v. 7, n. 10, p. 1377-1389, 2015.
- LINGALA, S.; GHANY, M. G. Natural History of Hepatitis C. **Gastroenterol Clin North Am**, v. 44, n. 4, p. 717-34, 2015.
- LYRA, A. C.; FAN, X.; DI BISCEGLIE, A. M.. Molecular biology and clinical implication of hepatitis C virus. **Braz J Med Biol Res**, v. 37, n. 5, p. 691-695, 2004.
- MAASOUMY, B.; WEDEMEYER, H. Natural history of acute and chronic hepatitis C. **Best Pract Res Clin Gastroenterol**, v. 26, n. 4, p. 401-412, 2012.
- MAHESHWARI, A.; THULUVATH, P. J. Management of acute hepatitis C. **Clin Liver Dis**, v. 14, n. 1, p. 169-176, 2010.
- MAJOR, M.E.; FEINSTONE, S. M. The molecular virology of hepatitis C. **Hepatol**, v. 25, n. 6, p. 1527-1531, 1997.
- MANNS, M. P. et al. Hepatitis C virus infection. **Nat Rev Dis Primers**, v. 3, p. 17006, 2017.
- MARTINS, R. M. B. et al. Prevalence of hepatitis C viral antibody among Brazilian children, adolescents, and street youths. **Am J Med Hyg**, v. 53, p. 654-55, 1995.
- MARWAHA, N.; SACHDEV, S. Current testing strategies for hepatitis C virus infection in blood donors and the way forward. **World J Gastroenterol**, v. 20, n. 11, p. 2948-2954, 2014.
- MATOS, M. A. D. et al. Epidemiological study of hepatitis A, B and C in the largest Afro-Brazilian isolated community. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 103, n. 9, p. 899-905, 2009.

- MCLAUCHLAN, J. Hepatitis C virus: viral proteins on the move. **Biochem Soc Trans**, v. 37, Pt 5, 2009.
- MELO, L. V. L. et al. Epidemiological study of hepatitis B and C in a municipality with rural characteristics: Cássia dos Coqueiros, State of São Paulo, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 48, n. 6, p. 674-681, 2015.
- MOROZOV, V. A.; LAGAYE, S. Hepatitis C virus: Morphogenesis, infection and therapy. **World J Hepatol**, v. 10, n. 2, p. 186-212, 2018.
- MUKHERJEE, R. et al. Diagnosis and Management of Hepatitis C Virus Infection. **J Lab Autom**, v. 20, n. 5, p. 519-538, 2015.
- MURPHY, D. G. et al. A new genotype of hepatitis C virus originating from Central Africa. **Hepatol**, v. 46, n. 4, p. 623A-4A, 2007.
- MURRAY, C. L.; RICE, C. M. Turning hepatitis C into a real virus. **Annu Rev Microbiol**, v. 65, p. 307-327, 2011.
- NERY, N. C. S.; SANTOS, J. C. Fim do corte manual da cana-de-açúcar e o "fim" do cortador de cana: a conjuntura dos trabalhadores migrantes na microrregião de Ituiutaba - MG. **Revista Pegada**, v. 17, n. 1, p. 143-17, 2016.
- NGUYEN, V. T. T.; MCLAWS, M. L.; DORE, G. J. Prevalence and risk factors for hepatitis C infection in rural north Vietnam. **Hepatol Int**, v. 1, n. 3, p. 387-393, 2007.
- NOORALI, S.; PACE, D. G.; BAGASRA, O. Of lives and livers: emerging responses to the hepatitis C virus. **J Infect Dev Ctries**, v. 5, n. 1, p. 1-17, 2011.
- O'CONNELL, R. J. et al. Laboratory evaluation of rapid test kits to detect hepatitis C antibody for use in predonation screening in emergency settings. **Transfusion**, v. 53, n. 3, p. 505-517, 2013.
- OKAZAKI, K. et al. Fundamental evaluation of HCV core antigen method comparison with Cobas Amplicor HCV monitor v2.0 (high range method). **Rinsho Byori**, v. 56, n. 95, p. 95-100, 2008.
- OLIVEIRA, C. S. F. et al. Hepatitis B and C virus infection among Brazilian Amazon riparians. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 44, n. 5, p. 546-550, 2011.
- OLIVEIRA, M. T. **Cortadores de cana e o princípio da dignidade da pessoa humana.** Jus Navigandi. 2009. Disponível em: <<https://jus.com.br/artigos/12669/cortadores-de-cana-e-o-principio-da-dignidade-da-pessoa-humana>>. Acesso em: 24 jan. 2018.
- PARRY, J. V.; EASTERBROOK, P.; SANDS, A. R. One or two serological assay testing strategy for diagnosis of HBV and HCV infection? The use of predictive modelling. **BMC Infect Dis**, v. 17, n. 1, p. 705, 2017.

- PENIN, F. et al. Structural biology of hepatitis c virus. **Hepatology**, v. 39, n. 1, p. 5-19, 2004.
- PEREIRA, L. M. M. B. et al. Prevalence and risk factors of Hepatitis C virus infection in Brazil, 2005 through 2009: a cross-sectional study. **BMC Infect. Dis**, v. 13, n. 60, 2013.
- PONDÉ, R. A. Hidden hazards of HCV transmission. **Med Microbiol Immunol**, v. 200, n. 1, p. 7-11, 2011.
- PRECIADO, M. V. et al. Hepatitis C virus molecular evolution: transmission, disease progression and antiviral therapy. **World J Gastroenterol**, v. 20, n. 43, p. 15992–16013, 2014.
- REIS, N. R. S. et al. Prevalence of hepatitis C virus infection in quilombo remnant communities in Central Brazil. **Rev Inst Med Trop**, v. 50, n. 6, p. 359-60, 2008.
- RICHTER, S. S. Laboratory assays for diagnosis and management of hepatitis C virus infection. **J Clin Microbiol**, v. 40, n. 12, p. 4407-12, 2002.
- ROCHA, F. L. R.; MARZIALE, M. H. P.; HONG, O. Work and health conditions of sugar cane workers in Brazil. **Rev esc enferm USP**, v. 44, n. 4, p. 978-983, 2010.
- ROCHA, F. L. R.; MARZIALE, M. H. P.; ROBAZZI, M. L. C. C. Poverty as a predisposing factor of illness tendencies in sugar cane workers. **Rev Latino-Am Enfermagem**, v. 15, p. 736-741, 2007.
- SAMRAT, S. K. et al. Alternate Reading Frame Protein (F Protein) of Hepatitis C Virus: Paradoxical Effects of Activation and Apoptosis on Human Dendritic Cells Lead to Stimulation of T Cells. **PLoS One**, v. 9, n. 1, p. e86567, 2014.
- SCALIONI, L. P. et al. Performance of rapid hepatitis C virus antibody assays among high- and low-risk populations. **J Clin Virol**, v. 60, p. 200-205, 2014.
- SCHEIBLAUER, H. et al. Performance evaluation of 70 hepatitis B virus (HBV) surface antigen (HBsAg) assays from around the world by a geographically diverse panel with an array of HBV genotypes and HBsAg subtypes. **Vox Sang**, v. 98, n. 3p2, p. 403–414, 2010.
- SCOTT, J. D.; GRETCH, D. R. Molecular diagnostics of hepatitis C virus infection: a systematic review. **JAMA**, v. 297, n. 7, p. 724-732, 2007.
- SEEFF, L. B. Natural history of chronic hepatitis C. **Hepatology**, v. 36, n. 5, Suppl , p. S35-46, 2002.
- SELVARAJAH, S. BUSCH, M. P. Transfusion-transmission of HCV, a long but successful road map to safety. **Antivir Ther**, v. 17, n. 7, p. 1423-1429, 2012.
- SHARMA, S. D. Hepatitis C virus: Molecular biology & current therapeutic options. **Indian J Med Res**, v. 131, p. 17-34, 2010.

SHIVKUMAR, S. et al. Accuracy of rapid and point-of-care screening tests for hepatitis C: a systematic review and meta-analysis. **Ann Intern Med**, v. 157, n. 8, p. 558-66, 2012.

SILVA, L. et al. Prevalência do vírus da hepatite C em populações urbana e rural no nordeste do Brasil – Estudo piloto. **Arq Gastroenterol**, v. 32, n. 4, p. 168-171, 1995.

SILVA, M. A. M. Trabalho e trabalhadores na Região do “Mar de Cana e do Rio de Álcool”. **Rev Agrária**, n. 2, p. 2-39, 2005.

SIMMONDS, P. et al. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. **J Gen Virol**, v. 74, Pt. 11, p. 2391-2399, 1993.

SIMMONDS, P. et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. **Hepatology**, v. 42, n. 4, p. 962-73, 2005.

SMITH, B. D. et al. Rapid diagnostic HCV antibody assays. **Antivir Ther**, v. 17, n. 7, Pt B, p. 1409-1413, 2012.

SMITH, D. B. et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. **Hepatology**, v. 59, p. 318-327, 2014.

STEFANOVA-PETROVA, D.V. et al. Chronic hepatitis C virus infection: prevalence of extrahepatic manifestations and association with cryoglobulinemia in Bulgarian patients. **World J Gastroenterol**, v. 13, n. 48, p. 6518-28, 2007.

STRAUSS, E. Hepatitis C. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 34, n. 1, p. 69-82, 2001.

SUZUKI, R. et al. Processing and functions of Hepatitis C virus proteins. **Intervirol**, v. 42, n. 2-3, p. 145-152, 1999.

SUZUKI, T. et al. Molecular biology of hepatitis C virus. **J Gastroenterol**, v. 42, n. 6, p. 411-423, 2007.

TANG, H.; GRISÉ, H. Cellular and molecular biology of HCV infection and hepatitis. **Clin Sci (Lond)**, v. 117, n. 2, p. 49-65, 2009.

TANG, W. et al. Diagnostic accuracy of tests to detect Hepatitis C antibody: a meta-analysis and review of the literature. **BMC Infect Dis**, v. 17, Suppl. 1, p. 695, 2017.

TAVARES-NETO, J. et al. Very low prevalence of hepatitis C virus infection in rural communities of northeastern Brazil with a high prevalence of schistosomiasis mansoni. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 38, n. 4, p. 290-93, 2005.

TE, H. S.; JENSEN, D. M. Epidemiology of hepatitis B and C viruses: a global overview. **Clin Liver Dis**, v. 14, n. 1, p. 1-21, 2010.

TELLINGHUISEN, T. L. et al. Studying hepatitis C virus: making the best of a bad virus. **J Virol**, v. 81, n. 17, p. 8853-8867, 2007.

POLARIS OBSERVATORY HCV COLLABORATORS. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. **Lancet Gastroenterol Hepatol**, v. 2, n. 3, p. 161-176, 2017.

TORRES-PUENTE, M. et al. Using evolutionary tools to refine the new hypervariable region 3 within the envelope 2 protein of hepatitis C virus. **Infect Genet Evol**, v. 8, n. 1, p. 74-82, 2008.

UNICA. União da Indústria de Cana-de-Açúcar. Avanço Da Mecanização Incentiva Adoção De Tecnologias De Última Geração Em Sp. (2013). Disponível em: <<http://www.unica.com.br/noticia/2981091792031019628/avancodamecanizacaoincentivaado caodetecnologiasdeultimageracaoemsp>> Acesso em: 19 Jan 2019.

VARAKLIOTI, A. et al. Alternate translation occurs within the core coding region of the hepatitis C viral genome. **J Biol Chem**, v. 277, n. 20, p. 17713-21, 2002.

VILLAR, L. M. et al. Update on hepatitis B and C virus diagnosis. **World J Virol**, v. 4, n. 4, p. 323-342, 2015.

WEINER, A. J. et al. Evidence for immune selection of hepatitis C virus (HCV) putative envelope glycoprotein variants: potential role in chronic HCV infections. **PNAS**, v. 89, n. 8, p. 3468-3472, 1992.

WESTBROOK, R. H. Natural history of hepatitis C. **Journal of hepatology**, v. 61, n. 1, p. S58-S68, 2014.

WHO (**World Health Organization**). Combating hepatitis b and c to reach elimination by 2030. 2016.

WHO (**World Health Organization**). Hepatitis C. Fact Sheet n°164, 2018. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>>. Acesso em 11 de set. de 2018.

WILLIAMS, C. L. Ralf Bartenschlager, Charles Rice, and Michael Sofia are honored with the 2016 Lasker-DeBakey Clinical Medical Research Award. **J Clin Invest**, v. 126, n. 10, p. 3639-3644, 2016.

WITT, M. D. et al. Incident hepatitis C virus infection in men who have sex with men: a prospective cohort analysis, 1984–2011. **Clin Infect Dis**, v. 57, p. 77–84, 2013.

WOZNIAK, A. L. et al. Intracellular proton conductance of the hepatitis C virus p7 protein and its contribution to infectious virus production. **PLoS Pathog**, v. 6, n. 9, p. e1001087, 2010.

XU, Z. Hepatitis C virus f protein is a short-lived protein associated with the endoplasmic reticulum. **J Virol**, v. 77, n. 2, p. 1578-83, 2003.

ZEIN, N. N. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. **Clin Microbiol Rev**, v. 13, n. 2, p. 223-235, 2000.

ZIGNEGO, A. L. et al. Extrahepatic manifestations of Hepatitis C Virus infection: a general overview and guidelines for a clinical approach. **Dig Liver Dis**, v. 39, n. 1, p. 17, 2007.

ANEXOS

Anexo 1 - Parecer do Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Epidemiologia das hepatites virais B e C, HIV/aids e sífilis em cortadores de cana de açúcar: bases para ações de promoção da saúde

Pesquisador: SHEILA ARAUJO TELES

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 45109115.3.0000.5083

Instituição Proponente: Universidade Federal de Goiás - UFG

Patrocinador Principal: MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.147.258

Data da Relatoria: 13/07/2015

Apresentação do Projeto:

Título da Pesquisa: Epidemiologia das hepatites virais B e C, HIV/aids e sífilis em cortadores de cana de açúcar: bases para ações de promoção da saúde. **Pesquisadora Responsável:** SHEILA ARAUJO TELES. **N. CAAE:** 45109115.3.0000.5083. Existe uma lacuna de conhecimentos sobre as hepatites virais, HIV/aids, HTLV e outras DST na população

de cortadores de cana de açúcar, uma população rural, de baixo poder aquisitivo, formada por populações flutuantes, e muitas vezes migrantes, com comportamentos que os colocam em risco para essas infecções, como o consumo de crack. Assim, a proposta deste estudo é investigar a epidemiologia acerca dessas infecções em cortadores de cana nos Estados de Goiás, região distante do centro industrial do País e do epicentro da epidemia do HIV/aids. Também, estimar a prevalência de usuários de crack, e avaliar a situação vacinal desses indivíduos, oferecer e avaliar a adesão as vacinas para adultos, e comparar a aceitação e dor a vacina antitetânica usando a região ventroglútea e deltóide.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Investigar a epidemiologia das hepatites virais, HIV/aids, HTLV e sífilis, bem como a situação vacinal em cortadores de cana em Goiás;

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.147.258

Objetivos secundários:

1. Estimar a prevalência das hepatites B e C, HIV/aids, HTLV 1/2 e sífilis nesta população; 2. Analisar potenciais fatores de risco para estas infecções; 3. Estimar a prevalência de usuários de crack nesta população; 4. Verificar a situação vacinal (vacinas para adultos) dos cortadores de cana investigados; 5. Oferecer e avaliar a adesão as vacinas para adultos; 6. Oferecer e comparar a aceitação da vacina antitetânica na região ventroglútea ou deltóide em cortadores de cana em Goiás; 7. Comparar a experiência de dor no local da aplicação da vacina dupla contra tétano e difteria em cortadores de cana vacinados na ventroglútea ou deltóide.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: de acordo com a pesquisadora responsável, "Referem-se à coleta de sangue, que será realizada por meio de punção venosa. Essa técnica será realizada por um profissional capacitado, sendo asseguradas todas as medidas para prevenção de infecção no local da punção. Em alguns poucos casos, poderá ocorrer a formação de hematoma no local da coleta do sangue, o qual desaparecerá após alguns dias. Poderá ainda ter reações adversas a vacinação, como aconteceria se fosse imunizado na unidade de saúde. Se isto ocorrer, o participante será acompanhado pela equipe e pelo programa de imunização da secretaria de saúde de cada município e pela secretaria estadual".

Benefícios: ainda de acordo com o pesquisador responsável "os benefícios com a participação neste estudo incluem o conhecimento sobre a prevalência do vírus da hepatite B e C, HIV/aids, HTLV e sífilis em cortadores de cana em Goiás, sendo que os testes rápido possibilitam que o indivíduo tenha acesso imediato ao resultado, fato importante, uma vez que trata-se de uma população flutuante. Este trabalho permitirá, também, a identificação de potenciais fatores preditores dessas infecções que serão a base para construção de estratégias de prevenção e controle em cortadores de cana dessas regiões, e avaliação da situação de imunização para adultos em população de baixa renda. Ainda, entre os benefícios diretos, os participantes serão encaminhados ao tratamento e ao acompanhamento imediato, caso o teste rápido seja positivo para alguma destas infecções. Além disto, se estiverem com o calendário de imunização para adultos atrasado ou incompleto serão vacinados. Os testes convencionais serão utilizados para confirmação dos resultados prévios com testes rápidos. Em casos de resultados discordantes, os participantes serão informados para definição de tratamento. Por fim, após a coleta de dados, serão realizadas atividades de promoção da saúde, e por meio destas atividades os indivíduos receberão informações sobre as infecções investigadas e imunização, podendo esclarecer dúvidas em relação

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia CEP: 74.001-970
UF: GO Município: GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 Fax: (62)3521-1163 E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com



à sua saúde e como prevenir as DST/HIV/Aids. Por fim, os trabalhadores estarão imunizados contra doenças mais prevalentes, que são oferecidas pelo PNI".

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Será realizado um estudo observacional, analítico, de corte transversal, com trabalhadores rurais da área canieira no Estado de Goiás. Serão selecionadas as unidades que realizam predominantemente o corte de cana manual. Para responder aos objetivos específicos 1, 2 e 3, a amostra mínima necessária, considerando um poder estatístico de 80% (=20%), nível de significância de 95% (0,05), precisão de 0,5%, prevalência para o anti-HIV de 0,6% (Brasil, 2010) será de 916 assentados. Para responder aos objetivos 5, 6 e 7, na ausência de estudos para referência, serão considerados os resultados de Oliveira et al. (2014), que comparou a dor após injeção da penicilina IM nas regiões deltóide vs. ventroglútea em adultos. Assim, a amostra mínima necessária, considerando um poder estatístico de 80% (=20%), nível de significância de 95% (0,05), razão 1:1, dor no primeiro minuto após a administração da penicilina benzantina em 15,8% nos indivíduos que receberam a penicilina na região ventroglútea vs. 24,7% nos que receberam na região VLC será de 350 cortadores de cana para o grupo de intervenção e 350 para o grupo controle. Para realizar a triagem para vacinação pretende-se solicitar aos participantes o cartão de vacina (padrão ouro), para confirmação da vacinação. Caso o participante não tenha cartão, será considerado o relato de vacinação. Aos cortadores de cana identificados como não vacinados ou com o esquema vacinal incompleto/desatualizado serão oferecidas as vacinas preconizadas pelo PNI para adultos (dt, triplice viral, vacina contra hepatite B e vacina contra febre amarela). Todos os indivíduos elegíveis a vacinação serão esclarecidos sobre a importância das vacinas e a seguir convidados à vacinação, sendo então avaliada a aceitação as vacinas ofertadas. Para os indivíduos que receberem a primeira dose da vacina contra hepatite B serão agendadas as segunda e terceira doses a serem realizadas em unidades de saúde. Indivíduos que apresentarem o esquema incompleto da vacina contra hepatite B receberá um dose, e se for o caso, será agendada a dose subsequente para conclusão do esquema. Testes laboratoriais: O transporte das amostras sanguíneas será realizado de acordo com as normas de biossegurança, preconizadas pela ANVISA. Sorologia convencional: Hepatites Virais, HIV e HTLV1/2 Todas as amostras serão testadas, utilizando-se o ensaio imunoenzimático (ELISA) para detecção dos marcadores do HBV (HBsAg, anti-HBs e anti-HBc), HCV (anti-HCV), HIV (anti-HIV1 e 2), HIV (anti-HIV1 e 2) e HTLV (anti-HTLV 1 e 2), empregando-se

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia CEP: 74.001-970
UF: GO Município: GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 Fax: (62)3521-1163 E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.147.258

kits comerciais. *Treponema pallidum* Inicialmente, todas as amostras serão testadas para a detecção do marcador anti-*Treponema pallidum* pelo ELISA, empregando-se kit comercial. As amostras reagentes ao anti-T. *pallidum* serão retestadas e, em seguida, submetidas ao teste não treponêmico, VDRL (V.D.R.L. test, Wiener Lab., Rosário, Argentina), numa diluição de 1:8 e 1:16. Serão realizados Ensaio Molecular para a Detecção e tipagem do DNA-HBV, Detecção e tipagem do RNAHCV, Detecção e tipagem do RNA-HIV e Extração de DNA e subtipagem do HTLV. As variáveis do estudo serão: sociodemográficas, de fatores de risco e vacinação contra hepatite B.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentos apresentados: Aprovação do conselho diretor (Faculdade de Enfermagem, termo de compromisso assinado por todos os participantes, termo de anuência da Federação dos trabalhadores agrícolas do estado de Goiás (FETAEG), comprovante de financiamento da pesquisa (CNPQ, Questionário a ser aplicado, TCLE adequado, garantia de confidencialidade e privacidade contemplados no projeto e no TCLE, folha de rosto preenchida, cronograma adequado. Para o atendimento de pendências anexaram os seguintes arquivos: projeto certo enviado 09-07.pdf; PB INFORMAÇÕES BÁSICAS DO PROJETO 494669.pdf; PB XML INTERFACE REBEC.xml

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A pesquisadora responsável esclarece que "as amostras sanguíneas (soro e sangue total) permanecerão congeladas no laboratório de processamento de amostras da Faculdade de Enfermagem/UFG, conforme Resolução CNS nº 441, podendo ser utilizada em futuras pesquisas com outros agentes infecciosos, mediante autorização dos participantes e aprovação do(s) novo(s) projeto(s) pelo CEP da UFG e, quando for o caso, da CONEP. Esclareceu a pendência do parecer anterior, portanto após análise dos arquivos postados somos favoráveis à aprovação do presente protocolo de pesquisa.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

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

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia CEP: 74.001-970
UF: GO Município: GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 Fax: (62)3521-1163 E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com



CERTIDÃO

Com base na Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde – CNS, do Ministério da Saúde, que regulamenta a ética na pesquisa em seres humanos, **certificamos** que o Colegiado do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley - HULW, da Universidade Federal da Paraíba – UFPB, em Reunião Ordinária realizada no dia 29 de março de 2016, **APROVOU** o **Projeto de Pesquisa** intitulado “*Epidemiologia das hepatites virais B e C, HIV/aids e sífilis em cortadores de cana de açúcar: base para ações de promoção da saúde*”, estudo multicêntrico, tendo como pesquisadora responsável Ana Cristina Oliveira e Silva, com parecer de nº 1507737, com Certificado de Apresentação para Apreciação Ética – CAAE nº 53400516.8.0000.5183, conforme registros contidos na Plataforma Brasil.

Ressaltamos que aguardamos o envio do Relatório Final do estudo para emissão da Certidão Definitiva, para fins de comprovação quando da publicação dos resultados.

João Pessoa, 19 de julho de 2016.


Prof. Dr. Solange Fátima Geraldo da Costa
Coordenadora Adjunta do Comitê de Ética em Pesquisa-HULW



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 Sheila Araújo Teles, sou professora da Faculdade de Enfermagem da Universidade Federal de Goiás 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 com atenção e, em caso de dúvidas, pergunte-as junto à equipe de pesquisa, para decidir se participa ou não do estudo. No caso de aceitar fazer parte desta proposta, 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 (CEP) da Universidade Federal de Goiás, no telefone (62)3521-1215.

Título da pesquisa: Epidemiologia das hepatites virais B e C, HIV/aids e sífilis em cortadores de cana de açúcar: base para ações de promoção da saúde.

Pesquisador responsável: Profa. Sheila Araujo Teles.

Telefone para contato: (62) 3209-6280 Ramal: 208

Objetivo da pesquisa: investigar a epidemiologia das hepatites virais B e C, HIV/aids e sífilis, bem como a situação vacinal em cortadores de cana em Goiás e Paraíba;

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 em uma única etapa, por um período aproximado de 1 hora, no qual conversaremos sobre o tema em questão. Pedimos sua autorização para que responda ao instrumento de coleta de dados contendo perguntas sobre características sociodemográficas e comportamentos de risco para as infecções: hepatites B e C, sífilis e HIV. 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 doenças de transmissão sexual. Ainda, seu dedo da mão será furado com uma agulha para realizar os testes rápido de hepatites B e C, sífilis e HIV, em seguida serão coletados 10 ml de sangue de sua veia para comprovar as infecções: hepatites B e C, sífilis e HIV. Os tubos, contendo os sangues, serão guardados em caixas térmicas e transportados para o Laboratório Municipal da região, onde os sangues (soros) serão separados e estocados a -20°C até serem transportados para laboratórios das respectivas universidades, até a realização dos ensaios. Se após a realização desses testes, ainda restar algum "sangue" (soro), esse permanecerá congelado, podendo ser utilizado em futuras pesquisas com outros agentes infecciosos, mediante a sua autorização e aprovação do(s) novo(s) projeto(s) pelo CEP da UFG e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Riscos: os riscos da sua participação no estudo referem-se à coleta de sangue, que será realizada de duas formas, a primeira é uma picada no dedo, e a segunda se retirará sangue da veia do braço, como a que você faz quando precisa fazer outros exames laboratoriais que necessitam de sangue para sua realização. Em alguns poucos casos, pode ocorrer a formação de uma área arroxeadada/escurecida no local da injeção do braço (hematoma), o qual desaparece após alguns dias. As vacinas administradas podem fazer você sentir dor e também ficar um pouco mais duro e vermelho no local da vacina, mas que também desaparecem em poucos dias. Essas técnicas serão realizadas por um profissional capacitado, e todos os materiais utilizados durante os testes rápido, coleta de sangue no braço e vacinação serão estéreis e descartáveis, além de garantidos todas as medidas para prevenção de infecção no local da punção e vacinação. Além desse desconforto físico, você pode se sentir incomodado em responder algumas perguntas de sua intimidade. Assim, você pode escolher o local que considerar melhor e mais aconchegante no local do sindicato para responder as perguntas.

Benefícios: os benefícios indiretos com a participação neste estudo incluem o conhecimento sobre a epidemiologia atual das hepatites virais B e C, bem como da sífilis e HIV em uma população que vive a injustiça social e de saúde; informações que serão valiosas na elaboração de medidas educativas-preventivas que contribuirão para a melhoria da qualidade de vida deste grupo de trabalhadores

rurais. Ainda, entre os benefícios diretos, vocês serão encaminhados ao tratamento e ao acompanhamento imediato caso o teste sorológico seja positivo para alguma das infecções. Por meio da Educação em Saúde, vocês também receberão informações, podendo esclarecer dúvidas com relação à sua saúde e como prevenir as Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST/HIV/Aids). Por fim, a vacinação oferecida é o único meio eficaz de prevenção da hepatite B, tétano, rubéola, febre amarela e por meio deste projeto você receberá gratuitamente estas vacinas.

Confidencialidade e período de participação: sua participação se dará no período da entrevista, nos testes rápido, coleta de sangue pelo braço, vacinação e atividades educativas. Se você consentir em participar deste estudo, as informações obtidas serão registradas em formulário próprio e serão mantidas em maior sigilo por um período de cinco anos. Portanto, seu nome não estará nos formulários, registros ou publicações. Ainda, você tem liberdade de retirar sua permissão a qualquer tempo, e mesmo diante sua saída do projeto, você terá direito a tratamento, caso seja seu caso.

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 solicitar junto aos órgãos competentes, indenização, que será concedida, por determinação legal, caso seja comprovado a 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. Sheila Araujo Teles 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 _____

Anexo 3 - Artigo publicado

Artigo: DE CASTRO ROCHA, D.F.N. Epidemiology of HIV, syphilis, and hepatitis B and C among manual cane cutters in low-income regions of Brazil. **BMC Infect Dis**, v. 18, n. 1, p. 546. doi: 10.1186/s12879-018-3439-4.

Anexo 4 – Bula Teste Rápido Alere HCV (Standard Diagnostics Inc, Coréia do Sul).

ALERE HCV Código: 02FK10

1. Explicação do teste

O vírus da hepatite C é mundialmente conhecido como maior agente de hepatite crônica transfusional. O HCV é um vírus de RNA, e a doença pode ser diagnosticada através da detecção de anticorpos contra HCV em soro, plasma ou sangue total.

O ALERE HCV foi desenvolvido através de genes de HCV para a expressão de antígenos recombinantes através de sistemas de bactérias como a *E.coli*, para a obtenção de partes estruturais e não estruturais definidas como imunogênicas.

Os antígenos de maior imunoreatividade foram reportados como as regiões core, NS3, NS4 e NS5. Para o diagnóstico de infecção por HCV estas proteínas recombinantes foram utilizadas como material de captura de um teste rápido imunocromatográfico. Em comparação com os testes de primeira geração, os testes de terceira geração que utilizam proteínas recombinantes possuem maior sensibilidade.

O ALERE HCV é um teste rápido imunocromatográfico para detecção qualitativa de anticorpos específicos contra HCV em amostras de soro, plasma ou sangue total humanos.

O ALERE HCV contém uma membrana pré-revestida com antígenos de captura (core, NS3, NS4 e NS5) na região do teste. A proteína A (conjugado de ouro coloidal) e amostra do paciente se movem cromatograficamente pela membrana até atingir a região do teste. O complexo antígeno-anticorpo-conjugado forma uma linha visível na região do teste quando os anticorpos estão presentes na amostra.

O ALERE HCV possui uma região controle e outra para teste. Em ambas as regiões não é possível visualizar nenhuma linha antes do teste. A linha controle deve sempre se tornar visível após a realização do teste, se o procedimento do teste for feito adequadamente e se os reagentes estiverem em condições adequadas.

2. Materiais fornecidos

O ALERE HCV contém os seguintes itens para a realização dos testes.

- Dispositivos de teste embalados individualmente com dessecante.
- Diluente de ensaio.
- Instruções de uso.

3. Precauções/Armazenagem e estabilidade do kit

- 1) O ALERE HCV deve ser armazenado entre 1 e 30°C. Não armazenar em geladeira.
- 2) O teste é sensível a umidade e ao calor.
- 3) Realizar o teste imediatamente após removê-lo da embalagem de alumínio.
- 4) Não utilizar o teste após a data de validade.
- 5) O prazo de validade do kit é indicado na parte externa de sua embalagem.
- 6) Não utilize o kit se a embalagem estiver danificada ou o selo violado.
- 7) Confira o indicador de umidade através da alteração de cor do dessecante e descarte a embalagem se a cor indicar saturação.
- 8) Não reutilize o dispositivo de teste.

4. Atenção

- 1) Somente para o diagnóstico de uso *in vitro*.
- 2) Não comer ou fumar durante o manuseio de amostras.
- 3) Usar luvas de proteção ao manipular as amostras. Lavar bem as mãos após o procedimento.
- 4) Evitar respingos ou formação de aerossol.
- 5) Limpar os respingos utilizando um desinfetante apropriado.
- 6) Descontaminar e descartar todas as amostras, kits de reação e materiais potencialmente contaminados, como se fossem resíduos infectantes, em um recipiente de risco biológico.
- 7) Não misturar e trocar amostras.
- 8) Anticoagulantes, tais como heparina, EDTA e citrato de sódio não afetam o resultado do teste.
- 9) A utilização de amostras hemolíticas, amostras e lipídicas, ictericas, contendo fatores reumatóides são amostras que podem afetar o resultado do teste.

5. Coleta de amostras, armazenamento e precauções

- Sangue total

[Coleta por punção venosa]

- 1) Coletar o sangue total em tubo de coleta (contendo anticoagulante, como por exemplo, heparina, EDTA ou citrato de sódio) por punção venosa.
- 2) Caso a amostra de sangue não seja imediatamente testada, deve-se refrigerar entre 2 e 8°C.
- 3) Quando conservada entre 2 a 8°C a amostra deve ser usada em até 3 dias.

4) Para períodos de armazenamento maiores que 3 dias, o congelamento é recomendado. As amostras devem ser trazidas à temperatura ambiente (1 a 30°C) antes do uso.

5) Utilizar amostras de sangue coletadas há mais de 3 dias pode causar reações inespecíficas.

[Coleta usando lanceta]

- 1) Limpe a área a ser perfurada.
- 2) Aperte a extremidade da ponta do dedo e perfure-o com uma lanceta estéril.
- 3) Utilizando uma pipeta capilar, mergulhe a extremidade aberta na gota de sangue e, em seguida, libere a pressão para que o sangue entre na pipeta capilar.

- Plasma ou Soro

1) [Plasma] Coletar o sangue total em tubo de coleta (contendo algum anticoagulante, como por exemplo, heparina, EDTA ou citrato de sódio) por punção venosa e então centrifugar para obter somente o plasma.

[Soro] Coletar o sangue total em tubo de coleta (que não contenha anticoagulante) por punção venosa, deixar em repouso por 30 minutos para coagulação do sangue e, em seguida centrifugar a amostra para obter somente o soro sobrenadante.

2) Caso as amostras de plasma ou soro não sejam testadas imediatamente, deve-se refrigerar entre 2 a 8°C. Para períodos de armazenamento maiores que 2 semanas, o congelamento é recomendado. As amostras devem ser trazidas à temperatura ambiente (1 a 30°C) antes do uso.

3) Amostras de plasma ou soro que apresentarem qualquer precipitação podem causar resultados inconsistentes. Tais amostras devem ser clarificadas antes do ensaio.

6. Procedimento do teste

1) Deixe todos os componentes e amostras em temperatura ambiente antes do teste.

2) Remover o dispositivo da embalagem de alumínio, colocá-lo sobre uma superfície limpa, seca e plana.

3) [Usando uma micropipeta]

Adicionar 10µl de soro, plasma ou sangue total na cavidade da amostra (S).

Ou

[Usando uma pipeta capilar]

Adicionar 10µl da amostra de sangue com uma pipeta capilar na cavidade da amostra (S).

4) Adicionar 4 gotas de diluente de ensaio, na mesma cavidade da amostra (S).

5) No início da reação você observará uma cor roxa em toda janela de resultado (no centro do dispositivo de teste).

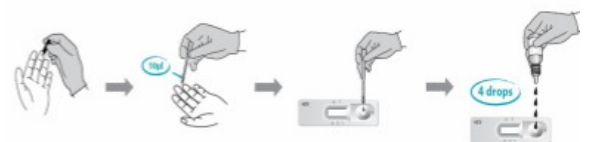
6) Interpretar o resultado entre 5 e 20 minutos.

Atenção: Não interpretar os resultados após 20 minutos. Leituras tardias podem induzir a resultados falsos.

[Punção venosa]



[Punção digital]



7. Interpretação do teste

1) Uma linha colorida aparecerá do lado esquerdo da janela de resultados indicando que o teste está funcionando corretamente. Esta linha é a Linha Controle (C).

2) Uma linha colorida aparecerá do lado direito da janela de resultados. Esta linha é a Linha Teste (T).

Resultado Negativo: Quando aparecer somente uma linha colorida na janela de resultados, a Linha Controle "C", como indicada na ilustração. Esta linha deve aparecer em todos os testes.



Resultado Positivo: Quando aparecer duas linhas coloridas na janela de resultados, a Linha Controle "C" e a Linha Teste "T", independente de qual linha aparecer primeiro, como indicadas na ilustração.



Nota: A intensidade da cor das linhas "C" e "T" pode ser diferente, ou seja, a Linha Controle "C" poderá ser mais fraca que a Linha Teste "T" ou vice-versa. Considerar o resultado positivo em qualquer situação.

Resultado Inválido: Quando nenhuma linha colorida aparecer na janela de resultados (linha "C") após a execução do teste o resultado deve ser considerado inválido. Algumas causas de resultados inválidos são: não seguir corretamente as instruções de uso; teste com a data de validade ultrapassada; amostras armazenadas por um longo período. Recomendamos repetir o ensaio utilizando um novo dispositivo e uma nova amostra.



8. Limitações do teste

Um resultado negativo não exclui a possibilidade de infecção por HCV. São necessários outros testes clínicos quando os resultados obtidos forem questionáveis. Tal como acontece com todos os testes de diagnóstico, um diagnóstico clínico definitivo não deve ser baseado nos resultados de um teste único, mas deve ser feito apenas pelo médico depois que todos os dados clínicos e laboratoriais foram avaliados.

9. Controle de Qualidade Interno

O dispositivo de teste de HCV tem uma "Linha Teste" e uma "Linha Controle" sobre a superfície do dispositivo. Toda a Linha Teste e Controle na janela de resultados não são visíveis antes da aplicação da amostra. A Linha Controle é usada para o controle processual. A Linha Controle do teste rápido apenas mostra que o diluente foi aplicado com sucesso, e que os ingredientes ativos dos principais componentes estão funcionando devidamente, porém não é uma garantia de que a amostra foi devidamente aplicada e não representa um controle positivo da amostra.

10. Características de Desempenho

1) Sensibilidade e Especificidade

O ALERE HCV foi avaliado utilizando-se amostras positivas e negativas confirmadas por RT-PCR.

Método	Resultado	ALERE HCV		Resultados Totais
		REAGENTE	NÃO REAGENTE	
RT-PCR	POSITIVO	157	0	157
	NEGATIVO	6	1,024	1,030
Resultados Totais		163	1,024	1,187
Sensibilidade		157/157 x 100 = 100%		
Especificidade		1,024/1,030 x 100 = 99,4%		

2) A reprodutibilidade do teste foi demonstrada por estudos (intra-ensaio, inter-ensaio e lote a lotes), com painéis de referência internos. Todos os valores foram idênticos aos critérios de aceitação do painel de referência.

10. Bibliografia

- 1) Arash G., Czeslaw W., Chao Lin, Stephen M. Feinstone, and Charles M. Rice : Expression and Identification of Hepatitis C Virus Polyprotein Cleavage Products. Journal of Virology, March, 1993, p.1385-1395.
- 2) Young Gyu Cho, Min Kyung Yi, Kyung Lib jang, Chang Min Kim and Young Chul Sung : Cloning and Overexpression of the Highly Immunogenic Region of HCV Genome from Korean Patients. Mol. Cells, Vol. 3, 4-7 – 416.
- 3) S. Osborne, E. Ceconato, S. Griva, F. Garetto, R. Calogero, C. Rosa and F. Bonelli : Expression in E. coli and purification of a chimeric p22-NS3 recombinant antigen of Hepatitis C Virus (HCV). Federation of European Biochemical Societies, Volume 324, number 3, 253-257.

- 4) A. Yoshikawa, K. Takahashi, S. Kishimoto : Serodiagnosis of hepatitis C virus infection by ELISA for antibodies against the putative core protein (p20C) expressed in *Escherichia coli*. Journal of Immunological Methods, 148 (1992) 143-150.

Atenção

Mesmo que tomadas todas as precauções para garantir a eficiência de diagnóstico e precisão deste produto, o kit é utilizado fora do controle do fabricante e distribuidor e o resultado pode, portanto ser afetado por fatores ambientais e/ou erro do usuário. A pessoa que foi diagnosticada através deste produto deve consultar um médico para confirmação do resultado.

Aviso

O fabricante e o distribuidor deste produto não serão responsáveis por quaisquer perdas, custos ou danos decorrentes direta ou indiretamente da utilização incorreta deste produto (resultado positivo, negativo ou inválido).

Produzido por Standard Diagnostic Inc

156-68, Hagal-Dong, Giheung-Ku, Yongin-Si, Kyonggi-Do, Republic of Korea.

Importador ALERE S/A.

Rua dos Pinheiros, 498, 7º andar, bairro Pinheiros.
São Paulo, SP. CEP: 05.422-000.
CNPJ: 50.248.780/0001-61
Registro: MS 10071770685.

Departamento de Assessoria Técnica

Para esclarecimentos de dúvidas quanto ao produto e assessoria técnica:
Tel: 0800 11 3262 sac.brasil@alere.com
Número de lote, data de fabricação e validade do produto, vide rótulo externo ou interno.

Versão: 04 SET 2014
29/09/2014
11:22

Referência: 02FK10 Revision N° 1 de 11/2013

Anexo 5 - Bula Teste Rápido Imuno-rápido HCV (WAMA Diagnóstica, Brasil).

Imuno-Rápido HCV

Kit para determinação qualitativa do anticorpo anti-HCV, por método imunocromatográfico usando antígenos sintéticos e recombinantes imobilizados na membrana para identificação seletiva de anti-HCV em amostras de soro ou sangue total.

A rapid chromatographic immunoassay test for the qualitative detection of anti-HCV antibodies using synthetic antigens and recombinants immobilized on the membrane for the selective identification of anti-HCV in serum or whole blood specimens.

Kit para determinação qualitativa del anticuerpo anti-HCV, por el método inmunocromatográfico usando antígenos sintéticos y recombinantes inmovilizados en la membrana para la identificación selectiva de anti-HCV en muestras de suero o sangre total.

- REF 621010-R: 10 determinações / determinations / determinaciones
- REF 621020-R: 20 determinações / determinations / determinaciones
- REF 621040-R: 40 determinações / determinations / determinaciones



WAMA Diagnóstica
Rua Aldo Germano Klein, 100 - CEAT
CEP 13573-470 - São Carlos - SP - Brasil
Fone 55 16 3377.9977 / Fax 55 16 3377.9970
www.wamadiagnostica.com.br

PORTUGUÊS

IMPORTÂNCIA CLÍNICA

O vírus da hepatite C é o maior causador de hepatites não-A, não-B, constituindo-se em sério problema de saúde no mundo. Ele é classificado como um gênero à parte dentro da família Flaviviridae. Possui uma molécula RNA de cadeia simples no seu núcleo e um envelope lipídico. O período de incubação da hepatite C é em média de 6 a 7 semanas, com uma faixa de 2 a 26 semanas. Aproximadamente, 20 a 30% dos pacientes com infecção aguda têm icterícia, 70% são assintomáticos, 70 a 85% evoluem para hepatite crônica, com conseqüente risco de desenvolvimento de cirrose e carcinoma hepatocelular.

Os fatores de risco associados à transmissão do HCV são, principalmente, as exposições percutâneas através de transfusão e transplante de doadores infectados e uso de drogas injetáveis, em menor proporção hemodialise e acidentes perfuro-cortantes. Outros fatores incluem a transmissão sexual e contato com familiares anti-HCV positivos. Associados a estes se encontra um alto percentual de pacientes (45%) sem causa específica, mas cuja característica é que a maior parte pertence a um nível socioeconômico baixo.

O avanço no desenvolvimento de testes diagnósticos para hepatite não-A, não-B veio com a clonagem de um cDNA obtido do genoma do HCV por Qui-Lim Choo e colaboradores, em 1989. Este genoma possui cerca 9400 nucleotídeos e no mínimo 9 proteínas codificadas, sendo 3 estruturais (Core, E1 e E2) e 6 não-estruturais (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B).

O Imuno-Rápido HCV utiliza na placa-teste, uma mistura de proteínas sintética e recombinantes do HCV.

APRESENTAÇÃO DO KIT

- REF 621010-R - 10 determinações
- 1. Placa-teste: 10 unidades
- 2. Solução Diluente: 1 x 2ml
- 3. Instruções para uso
- REF 621020-R - 20 determinações*
- 1. Placa-teste: 20 unidades
- 2. Solução Diluente: 2x2ml
- 3. Instruções para uso
- REF 621040-R - 40 determinações
- 1. Placa-teste: 40 unidades
- 2. Solução Diluente: 4x2ml
- 3. Instruções para uso

MATERIAL NECESSÁRIO, MAS NÃO FORNECIDO

Papel absorvente
Recipientes para descarte do material
Pipeta automática
PREPARAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES
PLACAS-TESTE (1): devem ser mantidas a temperatura ambiente antes de não congelar. Deixar a placa adquirir a temperatura ambiente antes de realizar os testes, se armazenado em geladeira.
SOLUÇÃO DILUENTE (2): pronta para uso. Contém azida sódica 0,095% como conservante. Estável a 2-30°C até a data do vencimento. Não congelar. Deixar adquirir a temperatura ambiente antes de realizar os testes, se armazenado em geladeira.
Obs.: O kit mantém o mesmo desempenho após a primeira utilização e é estável até a data de validade descrita no rótulo, desde que seja mantido a temperatura indicada (2-30°C)

AMOSTRAS
Usar amostras de soro recém-cohidas livre de hemólise, lipemia e contaminação. Se isto não for possível, devem ser conservadas em geladeira (2-8°C) por 48 horas. Para armazenagens mais longas, as amostras de soro devem ser mantidas no freezer (-20°C).
Amostras de Sangue total não utilizar anticoagulantes líquidos, pois em caso de amostras com baixa reatividade, pode induzir a um resultado falso negativo, devido à diluição da amostra.
Evitar repetidos congelamento e descongelamentos, pois isto causará falsos resultados.

ATENÇÃO: Se a amostra foi mantida no freezer, ela deverá ser descongelada e homogeneizada completamente, mantendo-a, posteriormente, em posição vertical para permitir que qualquer partícula que possa existir em suspensão seja sedimentada. Não agitar a amostra. **Amostras diluídas podem ocasionar resultado falso negativo.**

OBTENÇÃO DA AMOSTRA POR PUNÇÃO DIGITAL
Para coleta de sangue total recomenda-se utilizar o capilar heparinizado.

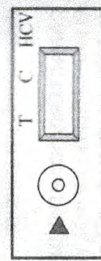
1. Realizar assepsia da ponta do dedo, então com uma lanceta para punção digital realizar a coleta de sangue total
2. Completar com sangue total a capilar heparinizado e utilizar uma gota da amostra para realização do teste, conforme procedimento descrito abaixo.

PROCEDIMENTO
1. Deixar a placa-teste (1) adquirir a temperatura ambiente antes de retirá-la do envelope laminado.

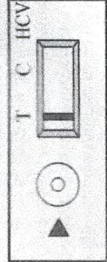
2. Pipetar 10µl de soro (sem bolha de ar) na cavidade da amostrador (>) na placa-teste.

No caso de sangue total, seguir procedimento de coleta por punção digital, conforme descrito acima, e dispensar 1 gota de sangue (20 µl) na cavidade da amostrador (>) na placa teste.

3. Dispensar 3 gotas (100 µl) da solução diluente (2).
4. Fazer a leitura dos resultados entre 10 e 15 minutos. Não considerar resultados lidos após 15 minutos.



INVALIDO: Se não surgir uma evidente banda de cor visível na área do teste (T) e controle, ou se não surgir banda no controle (C).



OBS.: Os resultados devem ser ignorados após o tempo determinado para leitura.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

O Imuno-Rápido HCV da Wama Diagnóstica apresentou uma sensibilidade de 100% utilizando-se 127 amostras verdadeiramente positivas. Em 777 amostras verdadeiramente negativas, foi encontrado 0,01 resultado falso positivo, conferindo ao Imuno-Rápido HCV da Wama Diagnóstica uma especificidade de 99,8%.

LIMITAÇÕES DE USO

O Imuno-Rápido HCV é um teste de triagem para caracterizar a presença de anticorpos anti-HCV, portanto, um resultado repetidamente positivo com este teste é uma presumível evidência da presença de anticorpos na amostra.

Resultados positivos deverão sempre ser confirmados por RIBA (Recombinant Immunoblot Assay) ou outro teste confirmatório.

Podem ocorrer resultados falso-positivos e falso-negativos com este teste, cuja proporção dependerá da prevalência da doença na população ensaiada.

Como em qualquer procedimento diagnóstico, o resultado deste teste deve ser sempre interpretado com outras informações clínicas disponíveis.

PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

1. SORÇÃO para uso diagnóstico "in vitro".
2. Ler cuidadosamente as instruções para uso antes de realizar o teste.
3. A data de validade corresponde ao último dia do mês assinalado na etiqueta do envelope da placa-teste e da caixa do kit.
4. Deve-se evitar expor o kit a temperaturas elevadas, bem como diretamente ao sol.
5. Não congelar a placa-teste, pois isto causará deterioração irreversível.
6. Como se emprega azida sódica a 0,095% como conservante, o descarte dos reativos deve ser acompanhado de grandes volumes de água para evitar acúmulo de resíduos de azida nos encanamentos, pois esta pode reagir com chumbo e cobre formando sais altamente explosivos. Além disso, a azida é tóxica quando ingerida.
7. Deixar os reagentes adquirirem a temperatura ambiente antes de iniciar os testes.
8. Não usar componentes do kit após a data de validade.
9. Não substituir componentes deste kit com o de outros fabricantes, nem usar componentes de lotes e códigos diferentes
10. Descartar o material conforme a regulamentação local.
11. Utilizar as Boas Práticas de Laboratório (BPLs) na conservação, manuseio e descarte dos materiais.

TERMO DE GARANTIA

A WAMA Diagnóstica garante a troca deste conjunto diagnóstico, desde que o mesmo esteja dentro do prazo de validade e que seja comprovado por sua assessoria técnica que não houve falhas na execução, manuseio e conservação deste produto. A WAMA e seus distribuidores não se responsabilizam por falhas no desempenho do kit sob essas condições.

ENGLISH

SUMMARY

Hepatitis C Virus (HCV) is known to be the major cause of parenterally transmitted non-A, non-B hepatitis. HCV is a small, enveloped, single-

bioelisa

LER ALTERAÇÕES DESTACADAS

bioelisa HCV 4.0

3000-1115

3000-1116

Teste de ELISA para a detecção de anticorpos contra o vírus da hepatite C (HCV) em soro humano para ser utilizado em laboratórios clínicos e como teste de triagem em bancos de sangue.

Sumário

A hepatite C é uma infecção viral do fígado que era denominada "hepatite não A, não B" de transmissão até 1989, quando foi identificado o agente causal. A descoberta e caracterização do vírus da hepatite C levaram à compreensão do seu papel primordial nas hepatites pós-transfusão e a sua tendência a uma infecção persistente. O HCV é a principal causa de hepatite aguda e doença hepática crônica, incluindo o câncer de fígado. Globalmente, se estima que 170 milhões de pessoas estão infectadas cronicamente e que 3 a 4 milhões de pessoas são infectadas cada ano. O HCV se dissemina primariamente por contato com sangue humano. A principal causa de infecção por HCV em todo o mundo é a utilização de sangue testado para transfusões e a reutilização de agulhas e seringas que não foram adequadamente esterilizadas.

Princípio

O teste bioelisa HCV 4.0 é um método imunoenzimático no qual os pocinhos de uma microplaca são revestidos com antígenos recombinantes que representam epitopos de HCV: Core, NS3, NS4 e NS5. As amostras de plasma a analisar são adicionadas aos pocinhos. Se a amostra contiver anticorpos específicos, estes formarão complexos estáveis com os antígenos que recobrem o pocinho. O excesso de amostra é removido por um ciclo de lavagem e se adiciona IgG de coelho anti-IgG humana conjugada com peroxidase. O conjugado se unirá aos complexos de antígeno-anticorpo formados. Após uma segunda lavagem, adiciona-se uma solução de substrato enzimático e cromógeno. Esta solução se tornará azul se a amostra for positiva para HCV e amarela se for negativa. A intensidade da cor é proporcional à concentração de anticorpos anti-HCV na amostra. Os pocinhos com amostras negativas permanecem incolores.

Componentes

- MCPL** MICROPLACA:
12 x 8 pocinhos recobertos com antígenos recombinantes de HCV (*E. coli*). Pocinhos separáveis.
- CONJ** CONJUGADO CONCENTRADO:
Anticorpos de coelho anti-IgG humana conjugados com peroxidase. Contém corante vermelho, estabilizantes, mertiolato sódico a 0,02% e sulfato de gentamicina a 0,001%. Diluir 1/51 com tampão de lavagem antes do uso.
- DIL CONJ** DILUENTE DO CONJUGADO:
Tampão Tris que contém corante amarelo, aditivos, mertiolato sódico a 0,02% e sulfato de gentamicina a 0,001%.
- DIL SAMP** DILUENTE DE AMOSTRAS:
Tampão Tris com proteínas estabilizantes, azida sódica < 0,1%, Triton X-100 < 1,0% com etilenoglicol 8%. Pronto para usar.
- WASH SOLN** SOLUÇÃO DE LAVAGEM CONCENTRADA:
Tampão fosfato concentrado que contém Tween 20 a 1% e mertiolato sódico a 0,01%. Diluir com água destilada ou deionizada antes de usar-se.
- SUBS BUF** TAMPÃO SUBSTRATO:
Tampão citrato-acetato que contém peróxido de hidrogênio e sulfato de gentamicina a 0,002%.
- SOLN TMB** CROMÓGENO:
Solução de 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) em tampão fosfato.

bioelisa

10. **CONTROL** CONTROLE NEGATIVO:
Soro humano diluído negativo para anticorpos contra HCV. Contém azida sódica < 0,1%, Tri e corante amarelo. Pronto para usar.
11. **H₂SO₄ 1N** SOLUÇÃO DE BLOQUEIO (somente no kit de 1 placa):
Ácido sulfúrico 1N. Pronto para usar.
12. **SEALS** FOLHAS ADESIVAS:
Para cobrir a placa durante as incubações.
13. **BAG** BOLSA DE PLÁSTICO:
Para guardar as tiras não utilizadas.

Precauções

bioelisa HCV 4.0 é para o diagnóstico IN VITRO.
Para uso exclusivamente por profissionais.

O **Diluyente de Amostras** e o **Controle Negativo** contêm azida sódica < 0,1% e Triton X-100 indicam-se os avisos referentes ao risco (R) e à segurança (S)

R22	Nocivo por ingestão
S46	Em caso de ingestão, consultar imediatamente o médico e mostrar-lhe a embalagem

ATENÇÃO: MATERIAL DE RISCO BIOLÓGICO.

Todos os materiais de origem humana utilizados na preparação deste produto foram testados resultado negativo em relação à presença de anticorpos contra os vírus HIV-1/HIV-2, assim como de superfície da hepatite B, utilizando um método comercial autorizado. No entanto, dado que pode oferecer a total segurança da ausência de agentes infecciosos, este produto deve ser precaução:

- Não permitir que os reagentes entrem em contato com a pele e os olhos. Se isto ocorrer abundante quantidade de água.
- Usar luvas.
- Não pipetar nenhum reagente com a boca.
- Não fumar.
- Descartar todos os materiais usados em recipientes adequados para material bio-contamina amostras, controles, reativos aspirados e ponteiras descartáveis, devem ser recolhidos e destinado a este fim, que deverá ser autoclavado a 121°C, ou tratar-se com hipoclorito concentração de 10%, durante 30 minutos. (Os restos que contêm ácido devem ser neutra adicionar hipoclorito de sódio).
- Alguns reativos deste kit contêm azida sódica. A azida sódica pode reagir com os encanamentos de chumbo ou cobre, originando azidas metálicas altamente explosivas. Ao descartar os reativos fazê-lo em abundante volume de água.

Cuidados de manipulação:

- Ajustar o lavador ao tipo de placa utilizada (fundo plano), para conseguir uma boa lavagem.
- Não utilizar reativos procedentes de lotes diferentes.
- Não utilizar os reativos após a data de validade.
- Não use o reagente se se observar qualquer alteração na aparência dos componentes incluídos.
- Tomar as devidas precauções para evitar contaminação microbiana e contaminação cruzada.
- Utilizar ponteiras descartáveis para pipetar as amostras e os reativos.

Conservação e estabilidade

Os componentes permanecem estáveis até a data de validade indicada nos rótulos se forem conservados em uma bolsa de plástico bem fechada, com a bolsinha de silicagel. A solução de lavagem, uma vez diluída, é estável por 2 meses, se conservada entre 2 e 8°C. O conjugado, uma vez diluído se mantém estável por 2 meses, se conservado entre 2 e 8°C. Guardar o cromógeno ao abrigo da luz. A solução substrato-TMB um não é estável, por isso devem-se seguir estritamente as indicações para sua utilização.

Apresentações disponíveis

- Kit de 1 placa (96 testes), **REF** 3000-1115.
Contém: 1 placa; 1 x 0,40 ml conjugado concentrado; 1 x 15 ml diluente do conjugado; 1 x 15 ml amostras; 3 x 50 ml solução de lavagem concentrada; 1 x 14 ml tampão substrato; 1 x 1, 1 x 3 ml controle positivo alto; 1 x 7 ml controle positivo baixo; 1 x 5 ml controle negativo; 1 x bloqueteio; 1 bolsa de plástico e folhas adesivas.
- Kit de 5 placas (5 x 96 testes), **REF** 3000-1116.
Contém: 5 placas; 1 x 1,5 ml conjugado concentrado; 1 x 70 ml diluente do conjugado; 1 x 15 ml amostras; 5 x 100 ml solução de lavagem concentrada; 5 x 14 ml tampão substrato; 1 x 1, 1 x 5 ml controle positivo alto; 1 x 7 ml controle positivo baixo; 1 x 5 ml controle negativo; 1 x 5 folhas adesivas.

Material necessário não incluído

- Água destilada ou deionizada.
- Pipeta multicanal e micropipetas (10 µl, 100 µl, 200 µl) e ponteiros descartáveis.
- Incubador (seco ou com umidade) a 37°C ± 1°C.
- Cronômetro.
- Leitor de microplacas com filtro de 450 nm. Recomendável filtro de referência de 620 ou 630 nm.
- Sistema de lavagem manual ou automático.
- Solução de bloqueio (kit de 5 placas): ácido sulfúrico 1N. Também se pode empregar ácido sulfúrico 0,1N.

Coleta da amostra

Usar soro fresco ou plasma (EDTA). Outros anticoagulantes devem ser avaliados antes de serem usados. Amostras podem ser conservadas por 3 dias entre 2-8°C. Para guardar por um período de tempo maior, amostras devem ser congeladas (-20°C). Evitar congelar e descongelar as amostras repetidamente (ciclos de congelamento-descongelamento). Partículas em suspensão devem ser eliminadas por centrifugação. Serosos ou plasmas não devem ser inativados pelo calor, pois podem produzir-se resultados incorretos.

Processamento automático

Esta prova pode ser utilizada de modo automático ou semi-automático com diferentes instrumentos. É importante validar qualquer sistema automático para demonstrar que os resultados obtidos são equivalentes aos obtidos empregando-se o ensaio manual. É recomendado que o usuário valide o instrumento. Se encontrar qualquer dificuldade na programação e ajuste dos processadores automáticos, por favor, contate seu distribuidor.

PROCEDIMENTO (Ver esquema do procedimento)

Operações prévias

Todos os reativos devem estar à temperatura ambiente (20-25°C) antes de iniciar o ensaio.

Os reativos líquidos devem ser homogeneizados suavemente antes de usar.

Diluir 1/10 a solução de lavagem concentrada com água destilada ou deionizada. Para uma amostra misturar 50 ml de solução de lavagem concentrada com 450 ml de água. No caso de não usar o kit de lavagem, preparar o volume proporcional de solução.

Diluir o conjugado concentrado 1/51 com o diluente do conjugado de acordo com o rótulo. Para

Resultados

1. Calcular a média das absorbâncias do controle positivo baixo (CPBx). O valor obtido, multiplique pelo valor *cut-off*.

$$\text{Valor cut-off} = \text{CPBx} \times 0,9$$

$$\text{Exemplo: CPBx} = 0,321 \quad \text{Valor cut-off} = 0,321 \times 0,9 = 0,289$$

2. Dividir a absorbância da amostra pelo valor *cut-off*.

Positivo: relação absorbância/*cut-off* $\geq 1,0$

Negativo: relação absorbância/*cut-off* $< 0,9$

Duvidoso: relação absorbância/*cut-off* $\geq 0,9 < 1,0$

Interpretação dos resultados

Um resultado repetidamente positivo é indicativo de infecção por HCV. Deve-se levar em consideração a história clínica do paciente.

Limitações do procedimento

Toda a amostra com resultado positivo ou duvidoso deve ser testada outra vez por duplicado. Se os resultados reanalisados forem inferiores ao *cut-off* a interpretação final é que a amostra é negativa para HCV. Se o resultado é repetidamente positivo ou duvidoso, deve-se testar com um outro método. Para o correto funcionamento do kit as instruções para uso devem ser seguidas estritamente. Resultados duvidosos podem dar origem a resultados aberrantes.

Como em todos os imunoenaios muito sensíveis, existe a possibilidade de resultados positivos que não são devido a HCV. Um resultado negativo não exclui a possibilidade de infecção por HCV.

Resultados esperados

Na Europa ocidental a prevalência de infecção pelo vírus da hepatite C é baixa, apesar de que varia de 0,1% no norte a 1% no sul. Na Europa oriental a prevalência de infecção por HCV é mais alta, variando com uma média de 2%. Estima-se que 3% da população mundial podem estar infectados com o HCV.

Características funcionais

Especificidade

- A especificidade diagnóstica foi avaliada analisando 5187 amostras não selecionadas de sangue. Desse total, 20 amostras foram reativas, sendo 1 delas confirmada como positiva. A especificidade obtida neste estudo foi de 99,63% (5167/5186).
- Em um segundo banco de sangue foram testadas 1019 amostras não selecionadas de doadores de sangue. Duas (2) delas foram também positivas com a técnica de referência. A especificidade encontrada foi de 99,8% (1015/1017).

Sensibilidade

- 200 amostras de pacientes de um hospital foram analisadas com o kit e com um método comercial de referência. Destas amostras, 26 foram positivas e 174 foram negativas tanto com o kit quanto com o método de referência.
- A sensibilidade contra diferentes genótipos foi comprovada com 723 amostras de genótipo 1 que foram positivas com um método comercial de referência. As 723 amostras foram do genótipo 1 e o **bioelisa HCV 4.0** que apresentou uma concordância de 100% com o método de referência.

TABELA 3. Reatividade do **bioelisa HCV 4.0** com amostras positivas de HCV de genótipo 1

Genótipo de HCV	Número de amostras	bioelisa HCV 4.0 positivas
-----------------	--------------------	----------------------------

- Estudos adicionais de sensibilidade foram realizados testando 30 painéis de soroconversã obtidos foram comparáveis aos de métodos comerciais autorizados.

Precisão

Reprodutibilidade intra-ensaio:

Os coeficientes de variação obtidos para os valores de absorbância de 48 replicados de uma foram de 4,50%, 7,78% e 7,50% em três lotes estudados.

Reprodutibilidade inter-ensaio:

Três amostras positivas de diferentes níveis foram analisadas em 5 ensaios diferentes. Os variação obtidos para os índices absorbância/cut-off das 3 amostras foram 5,40%, 4,63% e 4,51%

Interferências

Estudos controlados de adição de substancias potencialmente interferentes demonstraram que do teste não foi afetado significativamente por fator reumatóide (até 4000 UI/ml), hemoglobin bilirrubina (até 0,2 mg/ml) e triglicérides (até 13 mg/ml). Igualmente, estudos de condições interferentes demonstraram que o funcionamento do teste não foi significativamente afetado p anticorpos anti-nucleares (ANA), anticorpos anti-*E. coli*, gravidez e infecção por HIV ou HBV.

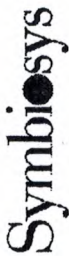
bioelisa: Guia de problemas

Problema	Possíveis causas	Solução
1. Controles fora de validação.	1a. Temperatura, incubação ou pipetagem incorreta.	<i>Verificar o procedimento. Repetir o ensaio.</i>
	1b. Preparação incorreta de reativos, erro de diluição. Reativos não homogeneizados.	<i>Verificar o procedimento. Repetir o ensaio.</i>
	1c. Contaminação cruzada entre controles.	<i>Pipetar cuidadosamente, intercambiar as tampas dos frascos. Repetir o ensaio.</i>
	1d. Filtro de leitura incorreto.	<i>Comprovar que o filtro de leitura seja de 450 nm. Não se usa filtro de referência de 620-630 nm, as absorbâncias aumentam aproximadamente 50 mil unidades.</i>
	1e. Interferência no caminho ótico.	<i>Verificar o leitor. Limpar e secar o fundo dos poços. Comprovar que não haja bolhas de ar. Repetir o ensaio.</i>
	1f. Foram utilizados componentes de lotes diferentes.	<i>Não utilizar componentes de lotes diferentes já que os mesmos são ajustados para cada lote.</i>
	1g. Reativos vencidos.	<i>Verificar a data de validade do kit e de seus componentes. Não utilizar reativos vencidos.</i>
2. Sem cor ou pouca cor ao final do ensaio.	2a. Um ou mais reativos não adicionados ou adicionados em seqüência incorreta.	<i>Verificar o procedimento. Repetir o ensaio.</i>
	2b. Conjugado inativo: diluição incorreta, má conservação.	<i>Verificar se há contaminação visível, verificar o procedimento. Repetir o ensaio.</i>
	2c. Microplaca inativa: conservação incorreta.	<i>Manter sempre as tiras utilizadas na bolsa de plástico, bem fechada, com dessecante dentro. Repetir o ensaio.</i>
	2d. Substrato inativo: conservação ou diluição incorreta, o recipiente utilizado afeta a estabilidade do substrato, contaminação cruzada com a solução de	<i>Utilizar sempre uma diluição recém preparada de TM. Tampão substrato. Utilizar recipientes descartáveis lavados com ácido ou base e enxaguados com água deionizada. Verificar o</i>

bioelisa: Guia de problemas

Problema	Possíveis causas	Solução
3. Demasiada cor em todos os pocinhos da microplaca.	3a. Substrato contaminado, oxidado ou preparado incorretamente.	<i>Comprovar que o substrato preparado seja incolor, descarte-o caso se torne colorido. Assegurar-se de que o substrato esteja completamente lavado antes de utilizá-lo. Misturar bem o TMB com o tampão do substrato. Utilizar frascos e recipientes descartáveis de plástico ou de vidro lavados com ácido ou etanol. Repetir o ensaio.</i>
	3b. Reativos contaminados ou preparados incorretamente.	<i>Verificar se há contaminação (aspecto turvo). Comparar as diluições. Repetir o ensaio.</i>
	3c. Solução de lavagem (1x) contaminada.	<i>Verificar a qualidade da água destilada/deionizada utilizada para preparar a diluição de lavagem. Repetir o ensaio.</i>
	3d. Lavagem insuficiente ou não uniforme: volume dispensado ou aspiração insuficiente ou não uniforme, número de ciclos de lavagem insuficiente. Lavador contaminado.	<i>Verificar o lavador. Enxaguar totalmente e aspirar completamente os pocinhos. Aumentar o número de ciclos de lavagem. Balancear a placa invertida sobre papel absorvente. Repetir o ensaio.</i>
	3e. Foi utilizada solução de lavagem de outro fabricante.	<i>Utilizar somente a solução de lavagem de biokit.</i>
	3f. Diluição incorreta das amostras.	<i>Verificar o procedimento de diluição. Repetir o ensaio.</i>
4. Reprodutibilidade pobre ou elevado número de amostras reativas que não se repetem.	4a. Problemas de lavagem.	<i>Ver itens 3c, 3d, 3e.</i>
	4b. Pipetas mal calibradas ou ponteiros mal encaixadas. Técnica de pipetagem incorreta.	<i>Utilizar pipetas calibradas com ponteiros bem encaixados. Pipetar cuidadosamente sem fazer bolhas nem salpicar. Repetir o ensaio.</i>
	4c. Reativos muito frios ou não homogeneizados antes de usar.	<i>Deixar os reativos alcar a temperatura ambiente e misturá-los bem antes de usar.</i>
	4d. Correntes de ar sobre a microplaca durante as incubações.	<i>Manter a microplaca protegida de correntes de ar.</i>
	4e. Demasiada demora na adição de amostras e/ou	<i>Desenvolver uma técnica de adição uniforme e reprodutível.</i>

Anexo 7 - Bula Symbiosys HCV (Symbiosys Diagnóstica - Brasil)



Anti HCV SYM Solution

96 testes 192 testes 480 testes 960 testes
(Cod.10149) (Cod.10150) (Cod. 10151) (Cod. 10152)

KIT IMUNOENZIMÁTICO PARA DETERMINAÇÃO QUALITATIVA DE ANTICORPOS CONTRA O VIRUS DA HEPATITE C EM SORO OU PLASMA HUMANO

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO "IN VITRO"

MS n° 80105220043

Fabricado por:
Symbiosis Diagnóstica Ltda. CNPJ: 04.299.232/0001-43
Rua Biazio Vicentini 350/360 - Leme - S.P. 13614-330
Responsável Técnico:
Silvia Maria Melges Duarte - CRF - SP: 15.502
Serviço de Atendimento ao Cliente: (19) 3554 8621

1. Introdução

O vírus da Hepatite C, ou HCV é um vírus RNA encapsulado, recém classificado na família do *Flaviviridae*.
O genoma é codificado por componentes estruturais, uma proteína nucleocapsídica, duas glicoproteínas do envelope, um constituinte funcional envolvido na replicação viral e uma proteína de processo. A região codificante do nucleocapsídeo parece ser a mais conservada entre os isolados identificados no mundo.

HCV é responsável por aproximadamente 95% das infecções de hepatite em receptores de transfusões de sangue e de 50% das hepatites esporádicas NANB. Geralmente o HCV produz hepatites assintomáticas que podem evoluir para hepatite crônica em muitos casos e algumas vezes para doenças graves como o hepatocarcinoma.
Anticorpos dirigidos contra os determinantes antigênicos imunodominantes das proteínas virais são detectados precocemente em pacientes infectados com HCV.

A detecção de anticorpos contra HCV é obrigatória na triagem ("screening") de bolsas de sangue para prevenir hepatites pós-transfusional. O teste também é usado no acompanhamento do tratamento de pacientes de risco em uso do interferon.

2. Descrição da finalidade

O kit "Anti HCV SYM Solution" é um ensaio baseado na técnica de ELISA para a determinação qualitativa de anticorpos contra o Vírus da Hepatite C em soro ou plasma humano. Para uso Diagnóstico "In Vitro" e somente por profissionais da saúde habilitados e treinados.

3. Descrição do princípio de ação

Nas cavidades das microplacas sensibilizadas com antígenos recombinantes do "core" e de regiões não estruturais do HCV, adicionam-se as amostras diluídas. Durante a primeira incubação o antígeno sensibilizado na microplaca captura os anticorpos específicos anti HCV presentes nas amostras.

Após aspiração e lavagem outros componentes da amostra não ligados são removidos. Em uma segunda incubação as ligações anti-HCV são detectadas pela adição de uma solução de anticorpo anti-IgG humano, conjugado com peroxidase de rábano (HRPO). A atividade enzimática fixada na fase sólida, agindo com a solução cromógeno-substrato, gera um sinal óptico que é proporcional a quantidade de anti HCV presente na amostra.

A intensidade da cor desenvolvida é medida por meio da 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 11,5 mL	1 frasco 23 mL	1 frasco 57 mL	2 frascos 57 mL
Diluyente de Amostras	1 frasco 11,5 mL	1 frasco 23 mL	1 frasco 57 mL	2 frascos 57 mL
Solução Lavagem	1 frasco 50 mL	1 frasco 50 mL	2 frascos 50 mL	3 frascos 50 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 sensibilizada: microplacas de 12 tiras com 8 cavidades sensibilizadas com antígenos recombinantes do HCV ("core", NS3, NS4, NS5). 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: tampão proteico, não reativo para anticorpos anti HCV. Contém ProClin 300 como conservante. **Pronto para uso.**

Controle Positivo: anticorpos anti HCV diluídos em tampão proteico. Contém ProClin 300 como conservante. **Pronto para uso.**

Conjugado: anticorpo de coelho anti IgG humano conjugado com peroxidase de rábano (HRPO) em tampão Tris-HCl, BSA e estabilizantes. Conservante: ProClin 300. **Pronto para uso.**

Diluyente de Amostras: solução proteica para diluição das amostras, contém detergente, estabilizantes, 0,1% de azida sódica 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 clórico. **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.

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

Micropipetas automáticas e ponteiros descartáveis com capacidade 10, 50 e 100 µL.

- Vidraria graduada.
- Timer (Temporizador).
- Termostato 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.
- Papel milimetrado
- H₂O destilada.

6. Condições de armazenamento e transporte do produto

- O kit deve ser mantido a 2 - 8°C.
- Mantier 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.
- Não usar a microplaca caso a embalagem esteja danificada.
- 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.
- As datas do vencimento de cada reagente são indicadas nos respectivos rótulos.
- Evitar a exposição do cromógeno-substrato à luz.

7. Precauções e limitações com o uso do produto

- O kit Anti HCV SYM Solution 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, descartar-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 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 infecciosos; 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 lixo especializado de materiais potencialmente infecciosos.
 - 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.
- A azida sódica utilizada como conservante em alguns reagentes pode reagir com o chumbo e o cobre dos canos e tubulações, formando azídes de metal explosivo. Ao dispensar resíduos de reagentes nas pias, permitir que grande quantidade de água seja despejada em seguida.
- Não pipetar com a boca.

14. Características do produto

Sensibilidade

A sensibilidade clínica do produto foi determinada testando um painel de 200 amostras positivas de pacientes com hepatite C confirmadas positivas com testes aprovados. Nenhuma amostra apresentou resultado negativo, portanto a sensibilidade clínica foi de 100%.

Especificidade

A especificidade foi determinada testando painéis de 1200 amostras negativas, obtidas de doadores de sangue e testadas em paralelo com testes disponíveis no mercado, 4 amostras resultaram reativas. Os resultados obtidos mostraram uma especificidade de 99,7%.

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada testando 3 amostras em 10 replicadas. Foram obtidos os seguintes resultados:

Amostras	Número Replicatas	Média DO	CV %
Positiva Fraca	10	0,205	5,8
Positiva	10	0,919	2,7
Positiva Forte	10	2,814	1,0

Repetitividade

A repetitividade foi calculada testando 3 amostras em 10 testes diferentes. Foram obtidos os seguintes resultados:

Amostras	Número Testes	Média DO	CV %
Positiva Fraca	10	0,516	11,5
Positiva	10	1,009	8,1
Positiva Forte	10	2,476	7,6

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. Alter H.J. (1978) You will wonder where the yellow went: A 15-year retrospective of posttransfusion hepatitis. In: Moore SB, ed. Transfusion-Transmitted Viral Diseases. Arlington, VA, Am. Assoc. Blood Banks, pp. 63-38.
2. Alter H.J., Purcell R.H., Holland P.V., et al. (1978) Transmissible agent in non-A, non-B hepatitis. Lancet: 459-463.
3. Choo Q-L, Weiner A.J., Overby L.R., Kukio G., Houghton M. (1990). Hepatitis C Virus: the major causative agent of viral non-A, non-B hepatitis. Br Med Bull 46: 423-441.
4. Engvall E, Perimann P. (1971). Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA): qualitative assay of IgG. Immunochimistry 8: 871-874

- Retirar a cobertura adesiva e lavar as cavidades 5 vezes com 300µL de solução de lavagem diluída (Ver item Instruções de Lavagem).
- Adicionar 100 µL de Conjugado em todas as cavidades, exceto na reservada para o branco.
- Cobrir a microplaca com a etiqueta adesiva.
- Incubar 30 minutos a 37*±1°C.
- Retirar a cobertura adesiva e lavar como descrito anteriormente.
- 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.
- Incubar por 15 minutos a 37*±1°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 450 nm em um espectrofotômetro de preferência bicromático, com comprimento de onda de referência a 620-630 nm (zerar o instrumento com o Branco). A leitura deve ser realizada dentro de 20 minutos do fim da dosagem.

- Retirar a cobertura adesiva e lavar as cavidades 5 vezes com 300µL de solução de lavagem diluída (Ver item Instruções de Lavagem).
- Adicionar 100 µL de Conjugado em todas as cavidades, exceto na reservada para o branco.
- Cobrir a microplaca com a etiqueta adesiva.
- Incubar 30 minutos a 37*±1°C.
- Retirar a cobertura adesiva e lavar como descrito anteriormente.
- 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.
- Incubar por 15 minutos a 37*±1°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 450 nm em um espectrofotômetro de preferência bicromático, com comprimento de onda de referência a 620-630 nm (zerar o instrumento com o Branco). A leitura deve ser realizada dentro de 20 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.

Respeitar os seguintes critérios de validação (descontando a DO do Branco):

Critério	DO 450 nm
Branco	< 0,080
Controle Negativo	< 0,100
Controle Positivo	≥ 0,800

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

Se todos os critérios acima foram aceitos, calcular o valor limite (cut-off) somando 0,120 ao valor médio dos Controles Negativos descontados do branco.

$$\text{Cut-off} = \text{média CN} + 0,120$$

Resultados

Interpretação dos resultados

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
< 1,0	Não Reagente
1,0 - 1,1	Indeterminado
≥ 1,1	Reagente

O resultado Não Reagente indica que o paciente não possui anticorpos contra o vírus da Hepatite C ou que os níveis são não 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 contra o vírus da Hepatite C.

Exemplo de cálculo:

Controle Negativo: média DO 450 = 0,016

Amostra desconhecida 1: DO 450 = 0,940

Amostra desconhecida 2: DO 450 = 0,098

Cálculo do cut off: $0,016 + 0,120 = 0,136$

Cálculo S/CO amostra 1: $0,940/0,136 = 6,91$ Reagente

Cálculo S/CO amostra 2: $0,098/0,136 = 0,72$ Não Reagente

- Não comer, beber ou fumar no laboratório.
- Usar luvas descartáveis e proteger os olhos quando manusear amostras durante o teste.
- Lavar as mãos quando terminar o procedimento.

9. Coleta, manuseio, preparo e conservação da amostra biológica

- A dosagem pode ser realizada usando soro ou plasma.
- Não é necessário nenhum preparo do paciente antes da coleta da amostra.
- As amostras devem ser coletadas conforme regras básicas de coleta de amostra de soro ou plasma por venipuntura.
- Amostras com anticoagulantes, tanto EDTA ou heparina podem ser usadas.
- As amostras fortemente lipêmicas, ictericas, hemolisadas ou com contaminação bacteriana podem dar resultados errôneos.
- As amostras podem ser conservadas a 2-8°C por 1-5 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.
- As amostras devem ser manuseadas conforme a legislação vigente para amostras biológicas humanas.

10. Preparo de Reagentes

- **Solução de Lavagem:** O frasco contendo a solução de lavagem concentrada 20x deverá ser diluído antes do uso. Diluir o conteúdo do frasco com água destilada até o volume final de 1000 mL. Se o conteúdo do frasco apresentar cristais não dissolvidos, dissolvê-los colocando o frasco a 37°C por alguns minutos antes da diluição. A solução diluída permanece estável por 1 mês a 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 5 a 6 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. Depois da dispensação, aguardar por 30 segundos antes de aspirar a solução 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 sobre 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 das amostras, dos Controles Negativo e Positivo em duplicata e do Branco.
- Dispensar 100 µL de cada Controle nas respectivas cavidades.
- Dispensar 100 µL de Diluente de Amostras nas respectivas cavidades de amostras.
- Dispensar 10 µL de Amostras nas respectivas cavidades.
- Incubar por 30 minutos a 37*±1°C.

Anexo 8 - Questionário Cortadores de cana



PROJETO: CORTADORES DE CANA

QUESTIONÁRIO

ID: CAG | _ | _ | _ |



Data da entrevista: ____/____/____

SEÇÃO I – DADOS PESSOAIS	
1- Estado onde trabalha _____	canest () canreg ()
2- Cidade onde trabalha: _____	cancid ()
3- Nome do canavial/usina _____	cana ()
4- Nome (nome e sobrenome) _____	
5- Sexo: 1- Masculino () ; 2- Feminino ()	sex ()
6- Tel: _____ - _____ ; Tel 2: _____ - _____	fone ()
7- Data de nascimento: ____/____/____	dnasc ____/____/____
8- Aonde você nasceu (cidade e estado)? _____	natest () natreg ()
9- Você estudou até que série (especifique em anos de estudo)? _____	escol ()
10- Em relação à cor da sua pele, como você se considera? 1- Branco () ; 2-Pardo () ; 3-Preto () ; 4-Amarelo (oriental); 5-Vermelho (indígena)()	cor ()
11- Você tem Religião? 1- Sem Religião () ; 2- Católica () ; 3- Evangélica () ; 4- Espírita () ; Outra () : especifique _____	rel ()
12- Qual o seu estado civil? 1- Casado/união consensual () ; 2- Solteiro() ; 3- Separado() ; 4- Viúvo()	estciv ()
13- Quantos filhos possui: _____	nfilho ()
14- Renda mensal: R\$ _____	renda ()
15- Há quanto tempo você trabalha como cortador de cana (especifique em anos)? _____	tempocan(____)
SEÇÃO II – DADOS DA MORADIA ATUAL	
16- Onde você mora/reside atualmente? 1- cidade onde trabalha () ; 2-outra cidade (), qual? _____	mora () moracid ()
17- Tipo de moradia na cidade: 1- mora com família () ; 2- mora em alojamento do trabalho () ; 3-mora sozinho () ; 4-mora com amigos () ; 5-Outros () especifique: _____	moratipo ()
18- Número de quartos da casa? _____	nquarto ()
19- Números de pessoas que moram na casa ou alojamento? _____	npessoa ()
20- 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 ()
21- Tratamento dado à água consumida: 1- Filtra água () ; 2- Ferve a água () ; 3- Não trata () ; 4- outro (), especifique: _____	tagua ()
22- Neste domicílio existe banheiro ou sanitário? 1- Não () ; 2- Sim ()	sanit()
23- 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: _____	locsanit()
24- Qual o destino do lixo? 1- Queimado () ; 2- Enterrado () ; 3- Coleta () ; 4- Outro () , especifique: _____	lixo ()
SEÇÃO III – DADOS DE MORADIA EM OUTRAS CIDADES DE TRABALHOS ANTERIORES	
25- Excluindo a cidade que você mora, quais cidades/estados você já trabalhou? (considere qualquer tipo de trabalho) _____	oucidad1 (____) oucidad2 (____) oucidad3 (____) oucidad4 (____)
26- Relacione a cidade _____ e o tipo de moradia: 1- mora com família () ; 2- mora em alojamento do trabalho () ; 3-mora sozinho () ; 4-mora com amigos () ; 5-Outros ()	tipocidad1 (____)
27- Relacione a cidade _____ e o tipo de moradia: 1- mora com família () ; 2- mora em alojamento do trabalho () ; 3-mora sozinho () ; 4-mora com amigos () ; 5-Outros ()	tipocidad2 (____)

28- Relacione a cidade _____ e o tipo de moradia: 1- mora com família () ; 2- mora em alojamento do trabalho () ; 3-mora sozinho () ; 4-mora com amigos () ; 5-Outros ()	tipocidad3 (_____)
29- Relacione a cidade _____ e o tipo de moradia: 1- mora com família () ; 2- mora em alojamento do trabalho () ; 3-mora sozinho () ; 4-mora com amigos () ; 5-Outros ()	tipocidad4 (_____)
30- Em média você fica quanto tempo nas cidades onde trabalha? _____ (meses)	tempocid (_____)
SEÇÃO IV – CONHECIMENTO E OPINIÃO	
31- Você já ouviu falar de hepatites virais (tiraça, amarelão)? 1- Sim () ; 2- Não ()	conhep (_____)
32- Você saberia me dizer como se transmite (como pega) as hepatites? 1-parenteral (pelo sangue) () ; 2-sexo () ; 3-fecal-oral:comida ou fezes contaminadas () ; 4- Outro () , especifique: _____ 5-Não sabe ()	thep1 () thep2 ()
Modo de transmissão relatado: parenteral (pelo sangue) ()	
33- Qual hepatite você acha que se pega do modo que me falou? 1- Hepatite A () ; 2- Hepatite B () ; 3-Hepatite C () ; 4-Outra hepatite () , especifique: _____	qualhepp (_____)
Modo de transmissão relatado: sexo () ;	
34- Qual hepatite você acha que se pega do modo que me falou? 1- Hepatite A () ; 2- Hepatite B () ; 3-Hepatite C () ; 4-Outra hepatite () , especifique: _____	qualheps (_____)
Modo de transmissão relatado: fecal-oral:comida ou fezes contaminadas	
35- Qual hepatite você acha que se pega do modo que me falou? 1- Hepatite A () ; 2- Hepatite B () ; 3-Hepatite C () ; 4-Outra hepatite () , especifique: _____	qualhepfo (_____)
Modo de transmissão relatado: outro modo de transmissão ()	
36- Qual hepatite você acha que se pega do modo que me falou? 1- Hepatite A () ; 2- Hepatite B () ; 3-Hepatite C () ; 4-Outra hepatite () , especifique: _____	qualhepou (_____)
37- Algum caso de hepatite (tiraça, amarelão) na família? 1- Não () ; 2- Sim ()	casohep (_____)
38- Se sim, qual o parentesco? 1- Pai () ; 2- Mãe () ; 3- Irmão () ; 4- Conjugue () ; 5- Outro, especifique: _____	parhep (_____)
39- Para você, quais são os sinais e sintomas de Infecções Sexualmente Transmissíveis (DST, doença venérea, de rua, doença do mundo) em mulheres? Escreva os sinais ou sintomas _____	istmulher (_____)
40- Para você, quais são os sinais e sintomas de Infecções Sexualmente Transmissíveis (DST, doença venérea, de rua, doença do mundo) em homens? Escreva os sinais ou sintomas _____	isthomem (_____)
SEÇÃO V – COMPORTAMENTOS DE RISCO	
41- Habitualmente, para seus cuidados de saúde, você recorre a: 1- Unid de Saúde Pública () ; 2- Consultório particular () ; 3- Outros () , especifique: _____	saude (_____)
42- Nos últimos 12 meses quantas vezes você consultou um profissional de saúde? _____	nsaude (_____)
43- Nos últimos 12 meses, quantas vezes você foi ao dentista? _____	ndent12 (_____)
44- Em caso de homem, você já realizou o exame de próstata (PSA- de sangue)? 1- Não () ; 2- Sim () .	psas () psasres ()
45- Se sim, qual RESULTADO: 1- acima do valor normal () ; 2- dentro dos valores normais ()	
46- Em caso de homem, você já realizou o exame de próstata (toque retal)? 1-Não() ; 2-Sim() , Se sim, qual foi o resultado RESULTADO:1- Alterado () ; 2- Não alterado ()	psat () psatres ()
47- Quantas vezes você ou sua parceira esteve grávida? _____	grav (_____)
48- Tem história de aborto, se sim quantos: _____ Se sim, já sofreu aborto?	abor (_____)
49- Em caso positivo, você poderia nos informar quantos abortos você já sofreu?	
50- Você ingere bebida alcoólica? 1- Não () ; 2- Sim () . Se sim, responda as perguntas 51 a 53	alcoo (_____)
51- Qual o tipo predominante de bebida que você costuma usar? 1- Destilada (pinga, cachaça e outras) () ; 2- Cerveja ()	tipoalcoo (_____)
52- Quantas vezes por semana você costuma consumir bebida alcoólica? 1- todos os dias () ; 2- menos de três vezes por semana () ; 3- mais ou igual a três vezes por semana ()	diasalcoo (_____)
53- Caso você consuma diariamente, quantos litros ou ml você consome por dia: _____ litros /dia ou _____ /ml/dia	litalcoo (_____)
54- Você fuma tabaco? 1- Não () ; 2- Sim () .	fuma (_____)
55- Caso você fume, especifique a quantidade de maços /dia: _____	nfuma (_____)

56- Você já usou algum tipo de droga na vida? 1- Nunca (); 2- Maconha (); 3- Cocaína (); 4- Crack (); 5- Outras (), especifique: _____	droga () drog1 ()
57- Caso afirmativo, você usou alguma droga nos últimos 12 meses? 1- Não (); 2- Sim ()	droga12 ()
58- Você usou alguma droga injetável na vida? 1- Não (); 2- Sim ()	udi ()
59- Caso afirmativo, você usou alguma droga nos últimos 12 meses?	
60- Com que idade você começou a usar drogas ilícitas? _____	idadrog ()
61- Você tem alguma tatuagem/piercing no corpo? 1- Não (); 2- Sim (). Caso afirmativo: Nº de tatuagens/piercing _____	tatoo () ntatoo ()
62- Você já foi hemotransfundido (recebeu sangue na veia)? 1- Não (); 2- Sim (); não sabe	transf ()
63- Caso afirmativo, você recebeu sangue antes de 1994: 1- Não (); 2- Sim (); 3- Não lembra ()	transf94 ()
64- Você já fez hemodiálise? 1- Não (); 2- Sim (). Caso afirmativo, em que mês e ano parou? _____/_____	hemo () hemodat ()
65- Atualmente, você faz hemodiálise? 1- Não (); 2- Sim ()	hemoatual ()
66- Você já esteve internado em algum momento da vida? 1- Não (); 2- Sim (),	inter ()
67- Se sim, qual o motivo da internação: 1- cirurgia (); 2- problemas clínicos ()	intermot()
68- Já compartilhou material cortante de higiene (alicate de unha, prestobarba e outros)? 1- Não (); 2- Sim (); não lembra	hig ()
69- Já se acidentou com alguma ferramenta de trabalho na vida? 1- Não (); 2- Sim (); não lembra	aci ()
70- Caso afirmativo, o acidente ocorreu nos últimos 12 meses? 1- Não (); 2- Sim ()	aci 12()
71- Procurou assistência médica por causa do acidente? 1- Não (); 2- Sim ()	acimed ()
72- Você já foi preso? 1- Não (); 2- Sim (). Se sim, responda as questões 73 e 74.	preso ()
73- Quantas vezes já foi preso? _____	npris ()
74- Por quanto tempo você ficou preso (se mais de uma prisão o tempo total considerando todas as prisões)	anopris ()
SEÇÃO VI – COMPORTAMENTO SEXUAL	
75- Você já iniciou atividade sexual? 1- Não (); 2- Sim ()	inisex ()
76- Caso afirmativo, qual foi a idade da sua primeira relação sexual: _____	sexarca ()
77- Quantos parceiros sexuais você teve nos últimos 12 meses? _____	nsex12 ()
78- Qual(ais) tipo (s) de prática sexual você tem ou teve neste período? 1- Vaginal (); 2- Oral (); 3- Anal (); 4- Todos ()	tiposex12 ()
79- Frequência do uso do preservativo nos últimos 12 meses? 1- Nunca (); 2- As vezes (); 3- Sempre ()	fprv12 ()
80- Você conhece preservativo feminino? 1- Não (); 2- Sim ()	prvfem ()
81- Caso positivo, você já usou preservativo feminino? 1- Não (); 2- Sim ()	usaprvfem()
82- Existe algum lugar ou pessoa que te forneça preservativos (feminino e/ou masculino)? 1- Não (); 2- Sim ()	locpr ()
83- Caso positivo, em quais lugares/pessoas você obtém os preservativos? 1- ONG (); 2- Unidade de Saúde (CTA, cais/siams, outros) (); 3- Comércio (); 4- Outros () especifique: _____	tipopr1 () tipopr2 ()
84- Você já teve relação sexual com um parceiro do mesmo sexo? 1- Não (); 2- Sim ()	homosex ()
85- Você já foi abusado sexualmente? 1- Não (); 2- Sim ()	abuso ()
86- Você já teve algum tipo de Infecção Sexualmente Transmissível? 1- Não (); 2- Sim ()	ist ()
87- Você teve algum corrimento pela vagina ou pênis nos últimos 12 meses? 1- Não (); 2- Sim ()	corr12 ()
88- Você teve alguma ferida/úlceras na genitália (vagina ou pênis) nos últimos 12 meses? 1- Não (); 2- Sim (); 3- Não se lembra ()	feri12 ()
89- Caso positivo, 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? _____	tratulc 12()
SEÇÃO VII – VACINA	
90- Você possui cartão de vacina? 1- Não (); 2- Sim (). Caso afirmativo você trouxe o cartão? 1- Não (); 2- Sim ()	carvac () scarvac ()
91- Você já foi vacinado contra hepatite B? 1- Não (); 2- Sim (); 3- Não sabe informar () Caso afirmativo, quantas doses da vacina você recebeu?	vacb () nvacb()

1 dose (), data: ____/____/____;	
2 doses (), data: ____/____/____;	
3 doses (), data: ____/____/____;	
Não sabe informar ()	
92- Quais destas outras vacinas você já recebeu depois de adulto? Anti-tetânica: 1- Não (); 2- Sim (); 3- Não sabe () Anti-rubéola: 1- Não (); 2- Sim (); 3- Não sabe () Anti-febre amarela: 1- Não (); 2- Sim (); 3- Não sabe ()	vactet () vacrub () vacfa ()
Qual sua altura? _____	altura ()
Qual o seu peso? _____	peso ()
IMC: _____	imc ()
SEÇÃO VIII- ESCALA DE ÁLCOOL	
81- Soma dos escores obtidos nas questões 2 a 7, exceto questão 5	estaba ()
82- Soma dos escores obtidos nas questões 2 a 7	esalcoo ()
83- Soma dos escores obtidos nas questões 2 a 7	esmaco ()
84- Soma dos escores obtidos nas questões 2 a 7	escoca ()
85- Soma dos escores obtidos nas questões 2 a 7	esanfe ()
86- Soma dos escores obtidos nas questões 2 a 7	esina ()
87- Soma dos escores obtidos nas questões 2 a 7	eship ()
88- Soma dos escores obtidos nas questões 2 a 7	esalu ()
89- Soma dos escores obtidos nas questões 2 a 7	esopi ()
90- Soma dos escores obtidos nas questões 2 a 7	esout ()
SEÇÃO IX- RESULTADOS DOS TESTES RÁPIDOS	
91- O resultado do teste rápido para HIV-1 foi reagente? 1- Não (); 2- Sim ()	hiv1tr ()
92- O resultado do teste rápido para HIV-2 foi reagente? 1- Não (); 2- Sim ()	hiv2tr ()
93- O resultado do teste rápido para Sífilis foi reagente? 1- Não (); 2- Sim ()	siftr ()
94- O resultado do teste rápido para Hepatite B foi reagente? 1- Não (); 2- Sim ()	hbvtr ()
95- O resultado do teste rápido para Hepatite C foi reagente? 1- Não (); 2- Sim ()	hcvtr ()

Nome do Entrevistador: _____