

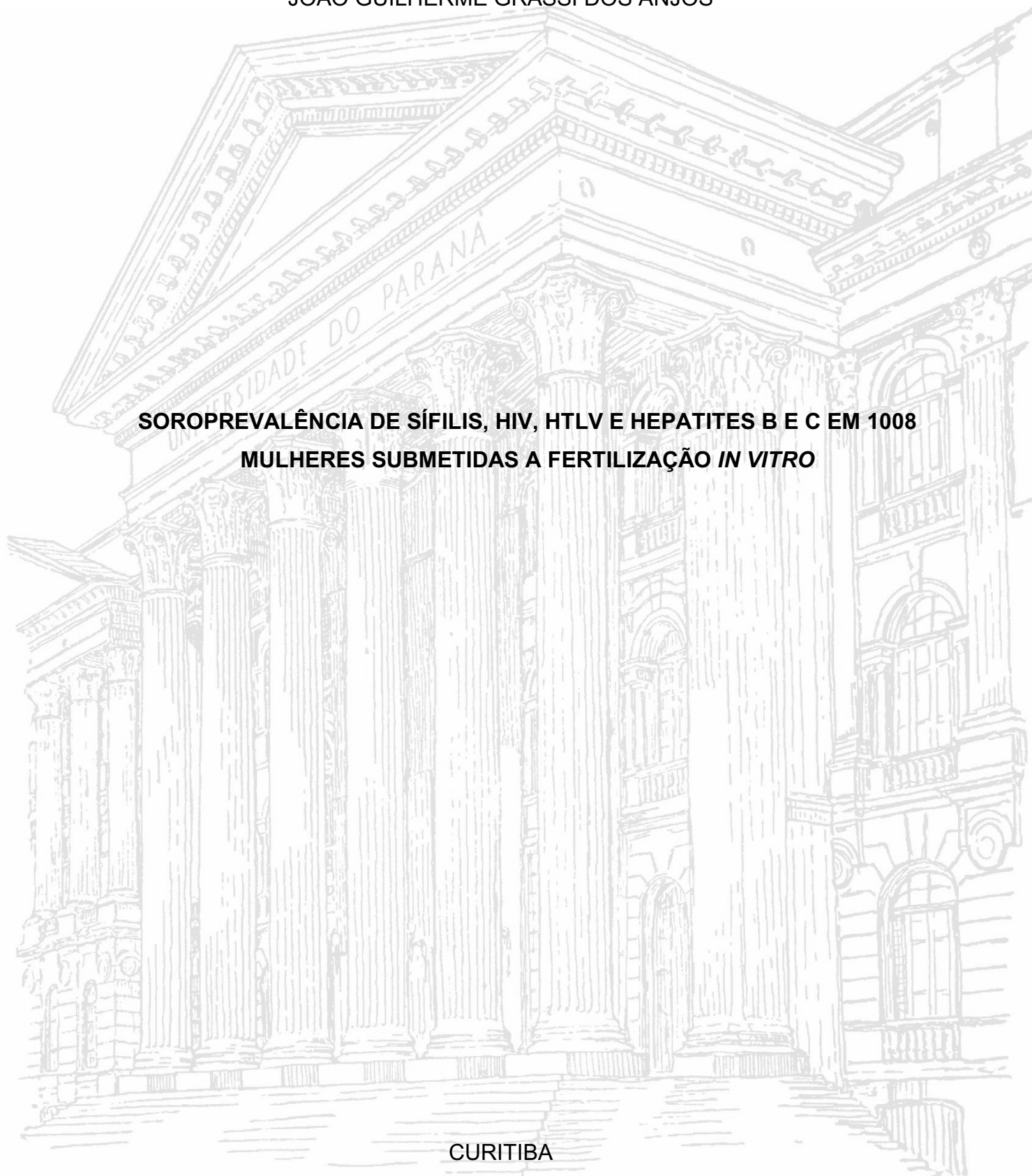
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JOÃO GUILHERME GRASSI DOS ANJOS

**SOROPREVALÊNCIA DE SÍFILIS, HIV, HTLV E HEPATITES B E C EM 1008
MULHERES SUBMETIDAS A FERTILIZAÇÃO *IN VITRO***

CURITIBA

2017



JOÃO GUILHERME GRASSI DOS ANJOS

**SOROPREVALÊNCIA DE SÍFILIS, HIV, HTLV E HEPATITES B E C EM 1008
MULHERES SUBMETIDAS A FERTILIZAÇÃO *IN VITRO***

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Tocoginecologia pelo Programa de Pós-graduação em Tocoginecologia.

Orientador: Prof. Dr. Jaime Kulak Junior
Co-Orientador: Prof. Dr. Newton Sérgio de Carvalho

CURITIBA

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR -
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE, BIBLIOTECÁRIA: RAQUEL PINHEIRO COSTA JORDÃO
CRB9/990 COM OS DADOS FORNECIDOS PELO(A) AUTOR(A)

A599 Anjos, João Guilherme Grassi dos
Soroprevalência de sífilis, HIV, HTLV e Hepatites B e C em 1008
mulheres submetidas a fertilização in vitro / João Guilherme Grassi dos.
– Curitiba, 2017.
91f. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Jaime Kulak Junior
Coorientador: Prof. Dr. Newton Sérgio de Carvalho
Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em
Tocoginecologia. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal
do Paraná.

1. Vírus 1 linfotrópico T humano. 2. Infecções por HTLV – 1.
3. Gestantes. 4. HIV. 5. Hepatite B. 6. Hepatite C. 7. Sífilis. I. Kulak
Junior, Jaime. II. Carvalho, Newton Sérgio de. III. Programa de
Pós-Graduação em Tocoginecologia. Setor de Ciências da Saúde.
Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

NLMC: QW 160

TERMO DE APROVAÇÃO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Setor CIÊNCIAS DA SAÚDE
Programa de Pós Graduação em TOCOGINECOLOGIA
Código CAPES: 40001016084P2

TERMO DE APROVAÇÃO

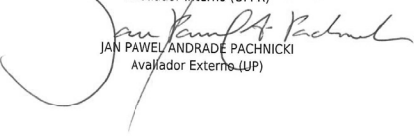
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em TOCOGINECOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **JOÃO GUILHERME GRASSI DOS ANJOS**, intitulada: "**SOROPREVALÊNCIA DE SÍFILIS, HIV, HTLV E HEPATITES B E C EM MULHERES SUBMETIDAS À FERTILIZAÇÃO IN VITRO**", após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 30 de Agosto de 2017.


JAIME KULAK JUNIOR
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)


NEWTON SERGIO DE CARVALHO
Avaliador Interno (UFPR)


JAN PAWEŁ ANDRADE PACHNICKI
Avaliador Externo (UP)

Programa de Pós Graduação em TOCOGINECOLOGIA | UFPR
RUA GENERAL CARNEIRO, 181 - CURITIBA - Paraná - Brasil"
CEP 80060-900 - Tel: (41) 3360-1865 - Fax: - E-mail: pgtoco@ufpr.br

Curitiba, 15 de novembro de 2017

À minha noiva Luiza,
pela sua presença ativa e apoio irrestrito durante todas as fases desta pesquisa.

À minha querida mãe, Silvia,
pelo exemplo de dedicação, perseverança e amor ao trabalho,
dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço

a todas as colaboradoras do Centro de Fertilidade Saab, que investiram tempo e atenção às tarefas de separação dos prontuários,

aos acadêmicos da Universidade Federal do Paraná, Reynaldo Vianna Rodrigues e Cassio Henrique Taques Martins pela colaboração na coleta de dados e análise estatística,

aos professores da Universidade Positivo, meus primeiros exemplos de dedicação à vida acadêmica,

ao Departamento de Tocoginecologia do Hospital de Clínicas, por ter me acolhido nesta jornada e guiado meus primeiros passos rumo à vida acadêmica,

a todos os colaboradores, professores e médicos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, por tudo que aprendi nos três valorosos anos de residência médica,

ao Prof. Dr. Jaime Kulak Junior pela confiança e paciência na orientação de todas as fases desta pesquisa,

ao Prof. Dr. Newton Sérgio de Carvalho, por sua valorosa co-orientação e importantes contribuições à confecção deste trabalho,

e ao Dr. Karam Abou Saab, amigo e conselheiro, por esta e todas as oportunidades que tem me apresentado em minha vida profissional.

Age de tal forma que uses a humanidade, tanto na tua pessoa, como na pessoa de qualquer outro, sempre e ao mesmo tempo como fim e nunca simplesmente como meio.

(Immanuel Kant, 1785, p.28)

RESUMO

Introdução: a procura por métodos de reprodução assistida no Brasil tem aumentado nos últimos anos. Por tratar de procedimentos que envolvem de coleta de material biológico, manuseio por terceiros e reintrodução no organismo há preocupação com a possibilidade de contaminação cruzada de doenças virais e bacterianas. Desde maio de 2011 há a obrigatoriedade de triagem através de exames para Sífilis, HIV, HTLV e hepatites B e C nesta população. Não existem estudos no Brasil avaliando a soroprevalência destes marcadores em mulheres submetidas à FIV

Objetivo: avaliar a soroprevalência de marcadores positivos para sífilis, HIV I e II, HTLV I e II, e Hepatites B e C em mulheres submetidas a FIV. **Métodos:** Análise retrospectiva de todos os casos de pacientes submetidas a fertilização *in vitro* entre janeiro de 2013 e fevereiro de 2016 em uma clínica especializada em reprodução assistida em Curitiba. Foram incluídas todas as pacientes com registros completos de exames de triagem. **Resultados:** foram analisados casos de 1008 pacientes submetidas à FIV no período de janeiro de 2013 a fevereiro de 2016, totalizando 2445 ciclos. Duas pacientes (0,2%) tiveram resultado positivo para triagem de HIV I e II e nenhuma para HTLV I e II. Três pacientes (0,3%) tiveram exames de triagem positivos para sífilis e duas (0,2%) exame anti-HCV positivo. Observou-se exame HbsAg positivo em 4 pacientes (0,4%), enquanto 47 (4,7%) apresentaram anti-HbC IgG positivo e apenas 1 (0,1%) anti-HbC IgM positivo. O exame Anti-HbS, foi verificado negativo em 659 pacientes (65,3%). **Conclusão:** Encontramos taxas de infecção menores que as nacionais para as doenças pesquisadas em pacientes submetidas à FIV. Encontramos um baixo percentual de pacientes imunizadas contra a Hepatite B.

Palavras-chave: fertilização *in vitro*; HIV; Sífilis; Hepatite B; Hepatite C; Vírus 1 Linfotrópico T Humano.

ABSTRACT

Introduction: the search for assisted reproduction methods has increased in Brazil. Dealing with procedures that involve collection of biological material, handling by third parties and reintroduction into the body there is a concern about the possibility of cross-contamination of viral and bacterial diseases. Since May 2011, screening for syphilis, HIV, HTLV and hepatitis B and C in this population has been mandatory. There are no studies in Brazil evaluating the seroprevalence of these markers in women submitted to IVF. **Objective:** To evaluate the seroprevalence of positive markers for syphilis, HIV I and II, HTLV I and II, and Hepatitis B and C in women submitted to IVF. **Methods:** Retrospective analysis of cases in all patients submitted to in vitro fertilization between January 2013 and February 2016 in a clinic specialized in assisted reproduction in Curitiba. All patients with complete screening records were included. **Results:** We analyzed cases of 1008 patients submitted to IVF from January 2013 to February 2016, totaling 2445 cycles. Two patients (0.2%) tested positive for HIV I and II and none for HTLV I and II. Three patients (0.3%) had positive screening for syphilis and two (0.2%) positive anti-HCV test. A positive HbsAg test was observed in 4 patients (0.4%), while 47 (4.7%) presented anti-HbC IgG positive and only 1 (0.1%) anti-HbC IgM positive. The anti-HbS test was negative in 659 patients (65.3%). **Conclusion:** We found lower infection rates than the national ones for the diseases studied in patients submitted to IVF. Few patients were immunized against Hepatitis B.

Key-words: Fertilization in Vitro; HIV; Syphilis; Hepatitis B; Hepatitis C; Human T-lymphotropic virus 1

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - FLUXOGRAMA DE DIAGNÓSTICO DA HEPATITE B	20
FIGURA 2 - CAUSAS DE INFERTILIDADE ASSOCIADAS DIVIDIDAS EM FREQUÊNCIAS.....	32
FIGURA 3 - CAUSAS DE INFERTILIDADE ISOLADAS OU EM ASSOCIAÇÃO (ISOLADAS + 2 CAUSAS ASSOCIADAS + 3 CAUSAS ASSOCIADAS) DIVIDIDAS EM FREQUÊNCIAS	33
FIGURA 4 - RESULTADOS POSITIVOS E NEGATIVOS PARA ANTI-HBS EM TODAS AS PACIENTES SUBMETIDAS A FIV	37
FIGURA 5 - RESULTADOS POSITIVOS E NEGATIVOS PARA ANTI-HBS ASSOCIADO A DIVISÃO EM ANTI-HBC IGC POSITIVOS E NEGATIVOS (POSSÍVEL PAPEL DA VACINAÇÃO) DAS PACIENTES COM ANTI-HBS POSITIVO	39
FIGURA 6 - AUMENTO PERCENTUAL DAS SOROLOGIAS ANTI-HBS NEGATIVAS AO LONGO DAS FAIXAS ETÁRIAS	41
FIGURA 7 - AUMENTO PERCENTUAL DE SOROLOGIAS ANTI-HBC IGC POSITIVAS AO LONGO DAS FAIXAS ETÁRIAS	41

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - DIVISÃO DE TODAS AS PACIENTES EM FAIXAS ETÁRIAS.....	32
TABELA 2 - RESULTADO DA TRIAGEM SOROLÓGICA DAS 1008 PACIENTES SUBMETIDAS À FIV	34
TABELA 3 - INTERVALO DE CONFIANÇA DA PREVALENCIA DAS SOROLOGIAS ESTUDADAS.....	35
TABELA 4 - INTERVALO DE CONFIANÇA DA PREVALÊNCIA DAS SOROLOGIAS DE ANTI-HBS.....	39
TABELA 5 - POSITIVIDADE DE ANTI-HBS X IDADE.....	40
TABELA 6 - POSITIVIDADE DE ANTI-HBS VS IDADE (ESTRATIFICADO EM GRUPOS ETÁRIOS)	40
TABELA 7 - POSITIVIDADE DE ANTI-HBC IGC VS IDADE (ESTRATIFICADO EM GRUPOS ETÁRIOS)	41
TABELA 8 - OS ESTUDOS SOBRE SOROPREVALÊNCIA EM FIV DISPONÍVEIS NA LITERATURA	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	- Síndrome da imunodeficiência humana adquirida
Anti-HbC IgG	- Anticorpos tipo IgG contra o antígeno <i>core</i> do vírus da hepatite B
Anti-HbC IgM	- Anticorpos tipo IgM contra o antígeno <i>core</i> do vírus da hepatite B
Anti-Hbs	- Anticorpos contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B
Anti-HCV	- Anticorpos contra o vírus da hepatite C
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASRM	- <i>American Society for Reproductive Medicine</i>
ATLL	- Leucemia/Linfoma de células T do adulto
DNA	- Ácido desoxirribonucleico
ELISA	- Ensaio imunossorvente ligado à enzima
FIV	- Fertilização <i>in vitro</i>
FTA-Abs	- Teste de anticorpos treponêmicos fluorescentes com absorção
HbsAg	- Antígeno de superfície do vírus da hepatite B
HBV	- Vírus da hepatite B
HCV	- Vírus da hepatite C
HIV	- Vírus da imunodeficiência humana
HTLV	- Vírus linfotrópico da célula humana
IC	- Intervalo de confiança
ICSI	- injeção intracitoplasmática de espermatozoides
OMS	- Organização Mundial da Saúde
OR	- <i>Odds ratio</i>
PCR	- Reação em cadeia de polimerase
RDC 23	- Resolução da Diretoria Colegiada número 23
RNA	- Ácido ribonucleico
RPR	- <i>Rapid Plasma Reagin</i>
VDRL	- <i>Venereal disease research laboratory</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	OBJETIVOS.....	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	<i>SÍFILIS</i>	16
2.1.1	Epidemiologia.....	16
2.1.2	Transmissão.....	16
2.1.3	Sífilis congênita.....	16
2.1.4	Diagnóstico.....	17
2.1.5	Sífilis em FIV.....	18
2.2	HEPATITE B.....	18
2.2.1	Epidemiologia.....	19
2.2.2	Transmissão.....	19
2.2.3	Diagnóstico.....	19
2.2.4	Hepatite B e FIV.....	20
2.2.5	Vacina contra a Hepatite B.....	21
2.3	HEPATITE C.....	22
2.3.1	Epidemiologia.....	22
2.3.2	Transmissão.....	22
2.3.3	Diagnóstico.....	23
2.3.4	Hepatite C e FIV.....	23
2.4	VÍRUS LINFOTRÓPICO DA CÉLULA HUMANA (HTLV).....	24
2.4.1	Epidemiologia.....	24
2.4.2	Transmissão.....	25
2.4.3	Diagnóstico.....	25
2.4.4	HTLV em FIV.....	26
2.5	VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV).....	26
2.5.1	Epidemiologia.....	27
2.5.2	Transmissão.....	27
2.5.3	Diagnóstico.....	27
2.5.4	HIV e FIV.....	28
3	MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1	ASPECTOS ÉTICOS.....	29

3.2	DEFINIÇÃO DA AMOSTRA.....	30
3.3	COLETA DOS DADOS	30
3.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	31
4	APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS.....	31
4.1	ANO DA REALIZAÇÃO DOS EXAMES	31
4.2	IDADE DAS PACIENTES	32
4.3	ORIGEM DAS PACIENTES.....	32
4.4	CAUSAS DA INFERTILIDADE	32
4.5	SOROPREVALÊNCIAS	34
4.6	AS PACIENTES COM SOROLOGIAS POSITIVAS	35
4.6.1	Sífilis	35
4.6.2	HIV.....	35
4.6.3	Hepatite C.....	36
4.6.4	Hepatite B.....	36
4.7	OS PARCEIROS DE PACIENTES COM SOROLOGIAS POSITIVAS.....	37
4.8	IMUNIDADE ATRAVÉS DO ANTI-HBS	37
4.9	ASSOCIAÇÃO ENTRE AS SOROLOGIAS POSITIVAS E A PROCEDÊNCIA DAS PACIENTES	42
4.10	ASSOCIAÇÃO ENTRE AS CAUSAS DE INFERTILIDADE E OS MARCADORES PESQUISADOS	42
4.11	DISCUSSÃO.....	43
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	50
	REFERÊNCIAS.....	51
	ANEXO A – PARECER DO CEP	59
	ANEXO B – ARTIGO	62
	ANEXO C – RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA NÚMERO 23	73

1 INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos tem aumentado a necessidade e a busca por técnicas de reprodução assistida, conforme há envelhecimento populacional e também priorização de estabilidade profissional, financeira e conjugal, em detrimento da maternidade (BRASIL, 2017). Com o avanço da idade da mulher há também maior exposição cumulativa a doenças que geram comprometimento de estruturas anatômicas do aparelho reprodutivo, como a endometriose (RENNER et al., 2012).

Define-se infertilidade o período de um ano de relações sexuais desprotegidas sem concepção, afetando entre 10 a 15% dos casais em idade reprodutiva. Para mulheres com 35 anos ou mais este prazo usualmente decai para 6 meses (MOSHER; PRATT, 1991). Entre as causas mais frequentes de infertilidade estão: fatores masculinos (35%); tubo-peritoneais (35%); disfunção ovulatória (15%); infertilidade sem causa aparente (10%) entre outras causas menos frequentes (5%) (SPEROFF, 2011).

Muitos casais, após investigação, necessitam de tratamento específico para engravidar. Entre os tratamentos possíveis destacam-se os considerados de “baixa complexidade” como o intercurso sexual programado, com ou sem indução da ovulação e a inseminação intrauterina, normalmente acompanhada de estimulação da ovulação com medicações específicas para este fim. Significativa parcela dos pacientes considerados inférteis pode se beneficiar destes tratamentos, principalmente aqueles com infertilidade por causa ovulatória (majoritariamente síndrome dos ovários policísticos) e causas masculinas menos severas. Muitos casais, dependendo das causas de sua disfunção reprodutiva necessitarão de tratamento considerado de “alta complexidade” como a fertilização *in vitro* (FIV) com ou sem injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) e suas variantes (ASRM, 2012).

Desde 27 de maio de 2011 toda paciente submetida à FIV no Brasil deve realizar exames sorológicos de triagem para doenças contagiosas, obrigatoriedade regulamentada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da sua Resolução da Diretoria Colegiada número 23 (RDC 23). Antes do procedimento de FIV todas as pacientes devem realizar triagem de sífilis, hepatites B e C, HTLV I e II e HIV I e II. A normativa não regulamenta que tipo de teste deve ser utilizado para a triagem. Desde meados de 2016 adiciona-se a pesquisa contra o Zika vírus à rotina

pré-concepcional para todos os pacientes submetidos a procedimentos de reprodução assistida. (BRASIL, 2011, 2016b). Nos Estados Unidos os exames sorológicos obrigatórios realizados antes da FIV são sífilis, hepatites B e C e HIV I e II (SART, 2017). Na Inglaterra há apenas testes para HIV I e II e hepatites B e C, e a triagem para HTLV apenas em casos onde um dos parceiros é proveniente de área endêmica (HFEA, 2017).

Além da clara importância no diagnóstico destas infecções para a saúde dos pacientes e de sua prole, também é relevante como medida de biossegurança, pois os gametas são manipulados em laboratório comum a muitos outros casais e possivelmente estocados em containers de nitrogênio líquido. A triagem minimiza ainda mais o risco de contaminação de amostras, infecções cruzadas entre os casais e riscos de contaminação dos responsáveis pela manipulação das mesmas, sem contar com o claro benefício do diagnóstico de doenças contagiosas em momento de planejamento gestacional, o que auxilia na prevenção da transmissão vertical destas doenças.

A obrigatoriedade da solicitação destes exames tornou possível o levantamento de dados sobre as respectivas soroprevalências nesta população específica no Brasil. Apesar da oportunidade de pesquisa, são extremamente escassos os dados brasileiros na literatura descrevendo a prevalência de sífilis, HIV, HTLV e hepatites virais B e C em população com indicação de fertilização *in vitro* (CAVALCANTE, 2014). A escassez de dados publicados faz deste estudo, associado ao número de pacientes pesquisadas, inédito em seu campo no território brasileiro.

1.1 OBJETIVOS

Avaliar a soroprevalência para os marcadores definidos como obrigatórios pela RDC 23 em mulheres submetidas a fertilização *in vitro*:

- Sífilis;
- HIV I e II;
- HTLV I e II;
- Hepatites B:
 - HbsAg;
 - Anti-Hbs;
 - Anti-HbC IgM;

- Anti-HbC IgG.
- Hepatite C:
 - Anti-HCV

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 SÍFILIS

A sífilis é uma doença bacteriana crônica causada pela espiroqueta *Treponema pallidum*.

2.1.1 Epidemiologia

A sífilis é doença de notificação obrigatória no Brasil desde 2010. No período de 2010 a junho de 2016 foram notificados 227.663 casos de sífilis adquirida, dos quais 62,1% foram casos residentes na região Sudeste, 20,5% no Sul, 9,3% no Nordeste, 4,7% no Centro-Oeste e 3,4% no Norte. Dos 227.663 casos notificados, 136.835 (60,1%) foram em homens. Em 2015 a taxa de detecção no Brasil foi de 42,7 casos de sífilis adquirida/100 mil habitantes, taxa superada pelas regiões Sul (75,3 casos/100 mil habitantes) e Sudeste (55,7 casos/100 mil habitantes). Quanto aos estados, a taxa de detecção mais elevada, em 2015, foi observada no Rio Grande do Sul (111,5 casos/100 mil habitantes) e a mais baixa em Alagoas (3,8 casos/100 mil habitantes) (BRASIL, 2016c).

2.1.2 Transmissão

A transmissão da sífilis se dá majoritariamente pelo contato direto com a lesão, podendo em pequena parcela ser transmitida por meio de transfusão de hemoderivados. Pelos efeitos potencialmente devastadores a transmissão vertical também é bastante importante (HOOK, 2016)..

2.1.3 Sífilis congênita

A concomitância de sífilis e gravidez está associada a abortamentos e perdas fetais (mais frequentemente após o primeiro trimestre), partos prematuros e ampla gama de alterações fetais, desde imperceptíveis ao nascimento até casos graves com malformações típicas de sífilis congênita. Dois terços dos nascidos vivos

contaminados por sífilis não possuem nenhuma alteração perceptível ao nascimento. Os sinais de comprometimento congênito podem ser divididos em precoces (até dois anos de vida) e tardios (a partir de dois anos). Qualquer órgão pode ser acometido pela infecção. Entre os sinais precoces estão hepatomegalia, colestase e icterícia, esplenomegalia, adenopatia generalizada não supurativa, erupções cutâneas, descamação cutânea, trombocitopenia com petéquias e alterações ósseas como periostite. Já os sinais de sífilis tardia podem acometer 40% dos sobreviventes, cursando com destruição da cartilagem nasal, fronte olímpica (resultado da periostite crônica), deformações esternoclaviculares, arqueamento das tíbias (tíbia em sabre), alterações dentárias, alterações oculares como ceratite intersticial e glaucoma secundário, surdez neuro-sensorial, entre outras alterações (WOODS, 2005).

2.1.4 Diagnóstico

A detecção da sífilis é realizada por exames imunológicos e exames diretos. Também pode ser realizada pesquisa direta com material corado, porém com sensibilidade e especificidade inferiores. Os testes imunológicos podem ser classificados em treponêmicos e não-treponêmicos. Entre os não-treponêmicos estão principalmente o VDRL e o RPR. Entre os testes treponêmicos estão principalmente o teste de anticorpos treponêmicos fluorescentes com absorção (FTA-Abs) e as variações do ensaio imunossorvente ligado à enzima (ELISA) (BRASIL., 2016).

O diagnóstico da sífilis usualmente se dá pela associação de testes não treponêmicos com treponêmicos. Existem três fluxos possíveis de diagnóstico: 1) teste não treponêmico positivo confirmado por teste treponêmico; 2) teste treponêmico automatizado confirmado por teste não treponêmico. Neste fluxo, caso o teste não treponêmico seja negativo é necessária confirmação com teste treponêmico em outra metodologia; 3) teste rápido treponêmico confirmado por teste não treponêmico. Neste fluxo caso o teste não treponêmico seja negativo é necessária confirmação com teste treponêmico em outra metodologia (BRASIL., 2016).

2.1.5 Sífilis em FIV

São escassos os estudos avaliando a prevalência de sífilis em população submetida a FIV. Estudo realizado em Dublin entre 2009 e 2011 avaliou a prevalência de sífilis e outras doenças em 225 receptoras de óvulos doados, sem nenhum caso positivo para sífilis (WALSH et al., 2011). Estudo realizado na China entre 2008 e 2014 avaliou 320 casais inférteis com indicação de FIV, dos quais 160 tinham pelo menos um parceiro infectado por sífilis, outros 160 eram saudáveis. Todos os pacientes infectados foram tratados adequadamente antes dos procedimentos da FIV. Foi demonstrada menor taxa de gravidez nos casais previamente infectados por sífilis (43.8% vs. 55.6%; $P = 0,03$). Também foi observado menor peso ao nascer de recém-nascidos de casais previamente infectados (2.7 ± 0.4 vs. 3.1 ± 0.5 kg; $P = 0,007$). É sugerida possível influência imunológica nestes casos (WANG et al., 2015).

O manejo da sífilis é extremamente acessível, sendo realizado com penicilina benzatina. Todos os pacientes diagnosticados com sífilis devem obrigatoriamente ser tratados adequadamente antes de realizar os procedimentos de reprodução assistida.

2.2 HEPATITE B

Há pelo menos oito décadas é sabido que o sangue humano e seus derivados podem, em determinadas situações, conter vírus causadores de hepatite transitória, que inicialmente fora chamada de hepatite pós-transfusional. O agente então desconhecido foi nomeado como Vírus da Hepatite B (HBV), com intuito de diferenciá-lo de outro vírus causador de hepatite transmitido por via fecal-oral, o vírus da hepatite A. Naquela época a hepatite pós-transfusão era comum, afetando 30 a 40% dos transfundidos. Nos anos 1960, Blumberg e colegas descobriram que um antígeno sérico previamente descoberto no seu laboratório era um componente do agente infeccioso, então chamado de antígeno Austrália (HBsAg). O antígeno recebeu este nome por ter sido identificado em população de aborígenes naquele país. Após o início de triagem do HBsAg nos doadores de sangue houve redução de duas a três vezes na incidência de hepatite pós-transfusional (SEEGER; MASON S., 2015).

O HBV é um vírus não citopático, tem como alvo o fígado e se replica nos hepatócitos. Possui material genético parcialmente distribuído em dupla banda de

DNA em formato circular. Sua replicação ocorre através de transcrição reversa de seu material de DNA, que forma um “minicromossomo”, que serve de base para a produção RNA (HAO et al., 2015; SEEGER; MASON S., 2015).

2.2.1 Epidemiologia

Dois bilhões de pessoas já tiveram contato com o vírus da hepatite B ao redor do mundo, estima-se que existam cerca de 350.000.000 de portadores crônicos, segundo dados da OMS. A Ásia é a região de maior prevalência de portadores crônicos de hepatite B, estimada entre 8 e 10% (NIE et al., 2011).

No Brasil, dados do Inquérito Nacional de Hepatites Virais, realizado através de pesquisa domiciliar de 2005 a 2009 em todos os estados brasileiros, apontam a prevalência de 0,6% de sorologia positiva para HBsAg entre 20 e 69 anos, sendo 0,55% no Sul do Brasil (BRASIL, 2010).

2.2.2 Transmissão

A transmissão da hepatite B ocorre por via parenteral. Pode ocorrer por solução de continuidade de pele ou mucosas ou mesmo pelo compartilhamento de agulhas, seringas, material de manicure, lâminas de depilação, realização de tatuagens, *piercings*, procedimentos odontológicos ou cirúrgicos, bem como por relações sexuais desprotegidas. Pode também ocorrer transmissão vertical, frequentemente mais grave e com maior chance de cronificação da doença (BRASIL, 2016d).

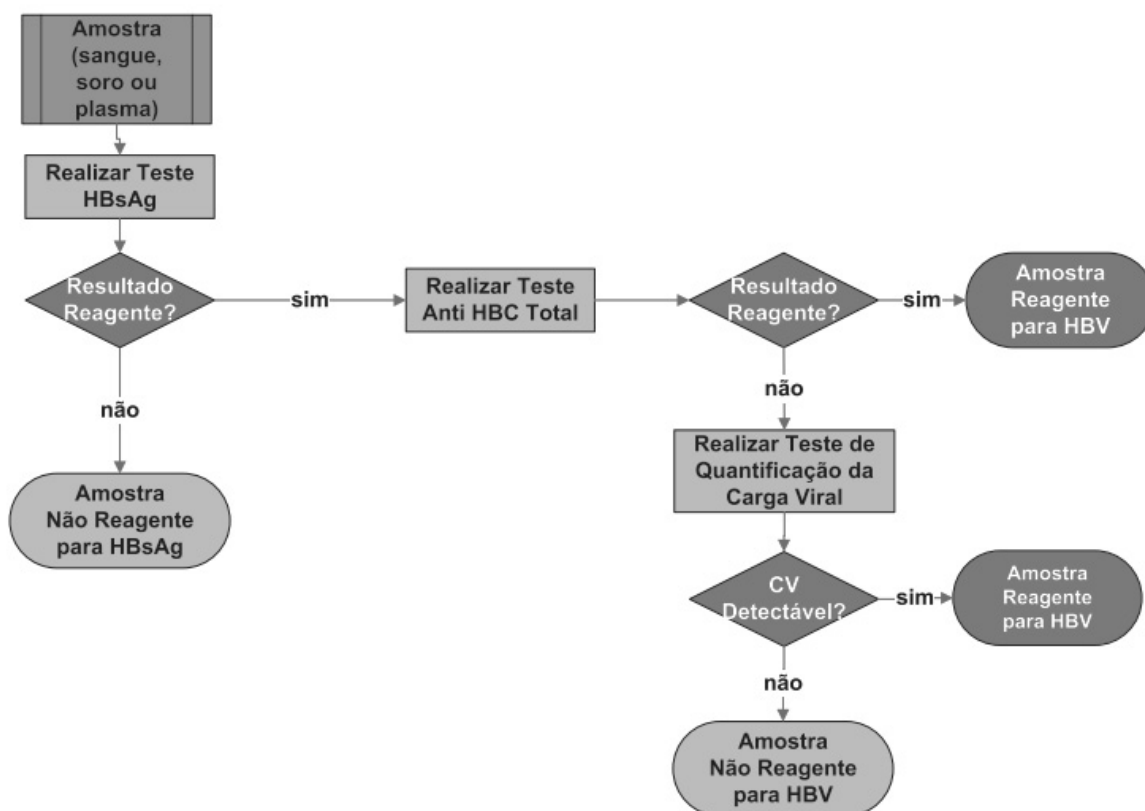
Após contato primário cerca de 1 a 10% dos indivíduos contaminados desenvolvem hepatite B crônica, no caso da transmissão vertical esta proporção pode chegar a 90% (BRASIL, 2016d).

2.2.3 Diagnóstico

O diagnóstico de hepatite B dá-se pelo encontro de marcadores sorológicos no plasma ou sangue, que podem ser detectados por meio de imunoenaios que apresentam especificidade acima de 99% e sensibilidade acima de 98%. O

fluxograma para diagnóstico da hepatite B é demonstrado na FIGURA 1, onde CV e HBV significam respectivamente carga viral e vírus da hepatite B. A pesquisa inicial é realizada pela dosagem de HBsAg. Em caso positivo, deve-se prosseguir para imunoenensaio para Anti-HBC total que, se positivo, define a amostra como reagente para o vírus da hepatite B. Caso o Anti-HBC total seja não reagente, prossegue-se para dosagem de carga viral por PCR. Em caso positivo, a amostra é considerada reagente. Durante a infecção o HBsAg pode ser detectado no sangue da maioria dos indivíduos cerca de 30 dias após a infecção (BRASIL, 2015a).

FIGURA 1 - FLUXOGRAMA DE DIAGNÓSTICO DA HEPATITE B



FONTE: BRASIL (2015)

2.2.4 Hepatite B e FIV

A forma mais eficaz e segura de prevenção contra a hepatite B é a vacina, disponível desde 1982. Em casais sorodiscordantes o parceiro soronegativo deve ser vacinado adequadamente. O tratamento para inseminação intrauterina ou FIV pode

ser iniciado assim que houver documentação de imunização efetiva (quando a paciente é soronegativa e o parceiro soropositivo). Nos casos onde não há imunização da mulher após protocolos de vacinação é possível realizar procedimento de “lavagem seminal” chamado de *sperm wash*, com a intenção de reduzir a carga viral no líquido seminal (ASRM, 2013).

2.2.5 Vacina contra a Hepatite B

A vacina contra a Hepatite B foi disponibilizada pela primeira vez em 1982, produzida através de HbsAg extraído de plasma de pacientes contaminados cronicamente com o HBV, porém o alto risco de transmissão de doenças como HIV, a necessidade de ampla disponibilidade de matéria-prima e a invenção de tecnologia de DNA recombinante levaram a ampla produção de vacinas com HbsAg recombinante. Inicialmente a vacina foi administrada apenas em populações adultas, com risco ocupacional, porém esta abordagem não foi efetiva em reduzir a transmissão. Foi após a demonstração que a inclusão da vacina da hepatite B em calendário vacinal infantil foi efetiva para reduzir as taxas de transmissão do vírus que, em 1991, a OMS adicionou a vacina ao calendário vacinal, com meta de instaurar até 1997 a vacinação mundialmente (MCMAHON et al., 1987; ROELS, 2015).

A vacina contra a hepatite B é efetiva e segura. Aproximadamente 90% dos indivíduos vacinados se tornam imunes (RENDI-WAGNER; KUNDI; STEMBERGER, 2001). Como alternativa para indivíduos que não se tornam imunizados após três doses de vacina intramuscular pode optar-se, entre outros esquemas, pelo aumento da dosagem ou pela administração intradérmica (FILIPPELLI et al., 2014).

2.3 HEPATITE C

O vírus da hepatite C (HCV) é o principal agente etiológico da hepatite crônica. Seu genoma é codificado em fita única de RNA que interage com glicoproteína *core* formando um “nucleocapsídeo” que é circundado por membrana lipídica, chamada de “envelope viral” no qual outras glicoproteínas se ancoram. (BRASIL, 2015a; DUBUISSON; COSSET, 2014).

Durante a infecção primária as partículas de HCV são transportadas pela corrente sanguínea e entram em contato com os hepatócitos após ultrapassar o endotélio fenestrado dos sinusóides hepáticos. No espaço de Disse (espaço entre os sinusóides e os hepatócitos) os vírions têm contato direto com a membrana basolateral dos hepatócitos, havendo interação de fatores de ligação e receptores celulares. O mecanismo de endocitose e replicação viral é complexo, dependendo de múltiplas interações entre apolipoproteínas, receptores celulares e fatores de ligação. Este processo é apenas parcialmente compreendido (DUBUISSON; COSSET, 2014).

2.3.1 Epidemiologia

A prevalência global de positividade para anti-HCV foi estimada como superior a 185 milhões de pessoas (aproximadamente 2,8%), em 2005, sendo as áreas de maior prevalência Ásia Central e Leste, região Norte-africana e Oriente Médio, todos com prevalência estimada acima de 3,5%. A prevalência total estimada na Europa foi de aproximadamente 2,4%, já nos Estados Unidos 1,1% (MOHD HANAFIAH et al., 2013). No Brasil, dados do Inquérito Nacional de Hepatites Virais apontam prevalência de 1,56% de soropositividade para anticorpos anti-HCV em população entre 20 e 69 anos. A prevalência foi de 1,7% na região Sul (BRASIL, 2010).

2.3.2 Transmissão

A transmissão do HCV se dá preponderantemente por via parenteral. O vírus também pode ser encontrado em saliva, urina, sêmen, secreções vaginais e leite materno. A via sexual e vertical também são vias possíveis de transmissão. Os principais fatores de risco para infecção por HCV foram avaliados em estudo caso-

controle realizado em doadores de sangue nos Estados Unidos, avaliando 2.316 pacientes soropositivos (casos) e 2.316 soronegativos (controles). Os principais fatores de risco encontrados foram: uso de drogas endovenosas (OR = 49,6; IC - 95%: 20,3-121,1); transfusão sanguínea em pacientes não usuários de drogas endovenosas (OR = 10,9; IC - 95%: 6,5-18,2); relações sexuais com usuários de drogas endovenosas (OR = 6,3; IC - 95%: 3,3-12,0); reclusão carcerária por mais de 3 dias (OR = 2,9; IC - 95%: 1,3-6,6); escarificação religiosa (OR = 2,8; IC - 95%: 1,2-7,0); acidentes com objetos sujos de sangue (OR = 2,1; IC - 95%: 1,1-4,1); uso de *piercing* (OR = 2,0; IC - 95%: 1,1-3,7) e injeção prévia de imunoglobulina (OR = 1,6; IC - 95%: 1,0-2,6) (MURPHY et al., 2000). Dentre os fatores de risco, o mais fortemente associado à transmissão do HCV é o uso de drogas endovenosas (CAMPBELL et al., 2017).

2.3.3 Diagnóstico

O diagnóstico de infecção pelo HCV é realizado inicialmente através de imunoenaios com detecção de anticorpos positiva em amostras de sangue ou hemoderivados (triagem) e confirmado após a verificação direta do vírus (confirmatório). A triagem pode ser realizada através de imunoenaios laboratoriais para a detecção de anticorpos anti-HCV ou testes rápidos. Após triagem positiva é realizado teste molecular confirmatório (PCR) com quantificação de carga viral. Em caso de teste molecular negativo orienta-se repetição dentro de 3 meses (BRASIL, 2015a).

2.3.4 Hepatite C e FIV

Pouco se sabe a respeito da prevalência de HCV em população submetida a FIV. Estudo realizado em Londres em 2001 avaliando 815 pacientes submetidas à FIV demonstrou prevalência de 0,5% (HART et al., 2001). Em casos de necessidade de terapia de reprodução assistida em casais portadores de hepatite C, medidas básicas de biossegurança são necessárias no manuseio das amostras para evitar contaminação cruzada. Em casos de casais onde apenas o homem é infectado a lavagem espermática (*sperm wash*) é eficaz na redução da carga viral seminal e deve

ser realizada para a redução do risco de contaminação da parceira. Nos casos onde ambos os parceiros estão cronicamente infectados pelo HCV (RNA viral presente) o tratamento com ribavirina e interferon peguilado-alfa deve ser considerado, com a intenção de redução sustentada da carga viral de ambos. A recomendação do curso inicial das medicações é de 48 semanas. Deve-se evitar gravidez por pelo menos 6 meses após a conclusão da terapia anti-retroviral (ASRM, 2013).

2.4 VÍRUS LINFOTRÓPICO DA CÉLULA HUMANA (HTLV)

O vírus T-linfotrópico humano tipo 1 (HTLV-1) é um retrovírus. Cerca de 20 milhões de pessoas ao redor do mundo estão infectadas pelo HTLV (MALM et al., 2012). Infecção por HTLV-1 está relacionada com duas doenças potencialmente fatais: a linfoproliferação maligna de células T, de péssimo prognóstico denominada Leucemia/Linfoma de células T do adulto (ATLL) e a neuromielopatia crônica, também conhecida como paraparesia espástica tropical/mielopatia associada ao HTLV. As duas doenças raramente ocorrem em conjunto, podendo estar relacionadas ao modo de transmissão do vírus: ATLL associada à transmissão por aleitamento materno e a mielopatia mais frequentemente associada à transmissão por transfusão sanguínea. Apesar de sua associação com estas doenças, a maioria das pessoas infectadas mantém-se portadores assintomáticos do vírus por toda vida: apenas 5% dos infectados desenvolve alguma doença relacionada ao vírus. De maneira oposta à infecção pelo HTLV-2, não está associada a gênese de doenças hematológicas malignas. Outras doenças podem correlacionar-se com a infecção por HTLV-1, como dermatite infecciosa, polimiosite, artropatia crônica, panbronquiolite e uveíte (GESSAIN et al., 1985; MAHIEUX; GESSAIN, 2009; YOSHIDA; MIYOSHI; HINUMA, 1982).

2.4.1 Epidemiologia

A distribuição geográfica do vírus apresenta a característica distinta de ocorrer em bolsões: áreas de grande prevalência do HTLV circundadas por outras de prevalência muito baixa. A primeira área endêmica estudada foi o Japão, possuindo áreas de altíssima prevalência, como o sudoeste da ilha de Shikoku com prevalência

de 37%, também 45% em um grupamento ao norte da região de Hokkaido. Estas áreas são circundadas por áreas com prevalência abaixo de 1% (BRASIL, 2013a).

Estudo realizado no Brasil avaliou a soropositividade em algumas capitais: Manaus 0,08%; Recife 0,33%; Salvador 1,35%; Rio de Janeiro 0,33%; Florianópolis 0,08%. A prevalência média foi de 0,41% (BRASIL, 2013a). Em Maringá, no Paraná, 126.386 doadores de sangue foram avaliados, com incidência geral de 1,2 casos positivos por 10.000 doações no período de 2001 a 2010, mantendo-se estável neste período (SEMEÃO et al., 2015).

2.4.2 Transmissão

Predominantemente sexual, sanguínea e por aleitamento materno (KAKUDA et al., 2002).

2.4.3 Diagnóstico

O diagnóstico de infecção pelo HTLV-1/2 é feito pela detecção de anticorpos contra o vírus no hospedeiro, por testes sorológicos como ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), devendo ser confirmado teste de Western Blot ou PCR (COSTA; MAGRI; CATERINO-DE-ARAUJO, 2011).

Aos pacientes infectados deve-se orientar que não há correlação com o vírus da AIDS, porém que não há cura. O uso de preservativos em relações sexuais deve ser incentivado. O paciente deve ser orientado sobre as características das doenças correlacionadas ao HTLV. Não é indicado terapia anti-retroviral para assintomáticos. Quando há desejo de gestação em casais sorodiscordantes (um parceiro é portador do vírus e outro não) deve-se orientar que há risco de transmissão, mesmo que em única relação sexual. O casal deve ser orientado sobre o importante risco de transmissão vertical através do aleitamento materno (U.S.P.H.S., 1993).

2.4.4 HTLV em FIV

Há escassez de dados na literatura sobre possíveis efeitos da infecção por HTLV nos resultados de FIV. Em estudo realizado no Irã entre 2007 e 2011, avaliou-se o resultado de ICSI em 32 ciclos de mulheres infectadas pelo HTLV-1 em comparação com pacientes controladas para a idade. Neste estudo as taxas de fertilização, parâmetros de qualidade embrionária, taxas de implantação, taxas de gravidez e de abortamento foram semelhantes entre os dois grupos estudados. Também não houve diferença no número de embriões transferidos, criopreservados e gravidezes múltiplas (TORSHIZI et al., 2014).

Como o HTLV possui muitas características em comum com o HIV, os protocolos para a redução do risco de sua transmissão durante ciclos de reprodução assistida em casais sorodiscordantes são bastante comuns entre as duas doenças e baseiam-se na separação de leucócitos infectados e vírus livres dos espermatozoides (*sperm wash*) (ASRM, 2013).

2.5 VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV)

Os primeiros casos descritos de síndrome da imunodeficiência adquirida humana (AIDS) ocorreram em 1981 nos Estados Unidos, com descrições de pneumonia por *Pneumocystis carinii* e sarcoma de Kaposi em homens adultos jovens, sabidamente homossexuais. Inicialmente a causa e a maneira de transmissão eram obscuras, sendo o HIV identificado como causador da AIDS somente três anos depois. O HIV é um lentivírus, composto por carga genética de RNA. Sua transmissão habitualmente se dá por intercurso sexual, exposição a sangue contaminado ou verticalmente. Atualmente são conhecidas duas cepas, o HIV-1 (pandêmico) e o HIV-2 (encontrado na África) (ADLER, 2001).

É estimado que entre 40 e 90% dos pacientes com infecção aguda pelo HIV-1 apresente algum sintoma de síndrome aguda retroviral como febre, linfadenopatia, faringite, rash cutâneo, mialgia, artralgia ou outros sintomas. Devido à baixa especificidade destes sintomas frequentemente não é realizado diagnóstico neste momento (DHHS, 2016). A infecção aguda é período altamente infectante, podendo

haver pico de 10.000.000 cópias do vírus por mililitro de sangue do paciente contaminado bem como homogeneidade das variantes virais (MA et al., 2009).

2.5.1 Epidemiologia

O diagnóstico de HIV e AIDS tem notificação compulsória no Brasil. De acordo com o SINAN (Sistema de Informação de Agravos de Notificação) de 2007 até junho de 2016, foram notificados 136.945 casos de infecção pelo HIV no Brasil, sendo 71.396 no Sudeste (52,1%), 28.879 no Sul (21,1%), 18.840 no Nordeste (13,8%), 9.152 no Centro- Oeste (6,7%) e 6.868 na Região Norte (6,3%). No ano de 2015, foram notificados 32.321 casos de infecção pelo HIV, sendo 2.988 casos na região Norte (9,2%), 6.435 casos na região Nordeste (19,9%), 13.059 na região Sudeste (40,4%), 7.265 na região Sul (22,5%) e 2.574 na região Centro-Oeste (8,0%). A taxa de detecção de AIDS no Brasil apresenta média de 20,7 casos/100 mil habitantes. Na região Centro-Oeste a média é de 18,5 casos/100 mil habitantes. As regiões Sudeste, Norte e Nordeste apresentam médias de 18,0, 24,0 e 15,3 casos/100 mil habitantes respectivamente. A região Sul apresenta média de diagnósticos de AIDS de 27,9 casos/100 mil habitantes (BRASIL, 2016e). De acordo com a UNAIDS Brasil (Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS), em 2015 aproximadamente 830 mil pessoas viviam com HIV no Brasil, equivalente a aproximadamente 0,39% da população Brasileira (UNAIDS, 2015).

2.5.2 Transmissão

Sua transmissão habitualmente se dá por intercuro sexual, exposição a sangue contaminado ou verticalmente (ADLER, 2001).

2.5.3 Diagnóstico

Após a contaminação pelo HIV pode haver período em que a infecção não é diagnosticável através dos testes de triagem, denominado janela imunológica, que pode variar entre 15 dias (no caso de testes que detectam anticorpos e o antígeno

p24) e 25 dias (no caso de testes que detectam apenas anticorpos) (PETERS et al., 2016).

Conforme o Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV, do Ministério da Saúde, "...o diagnóstico sorológico da infecção é realizado com pelo menos dois testes, um para triagem e um segundo, mais específico, para confirmar o resultado da triagem..." "O resultado não reagente é liberado com base em um único teste - entretanto, caso persista a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta da primeira amostra. O resultado reagente sempre é confirmado com um segundo teste diferente. Com base na especificidade dos testes de triagem, dois resultados reagentes são utilizados para o diagnóstico da infecção" (BRASIL, 2013b).

2.5.4 HIV e FIV

Casais HIV sorodiscordantes podem dispor de medicações para planejamento de relações pontuais "desprotegidas" ou mesmo de técnicas laboratoriais profiláticas antes da inseminação intrauterina ou fertilização *in vitro*. No caso de casais que não possuam causas específicas de infertilidade, mas um dos parceiros é soropositivo e com carga viral indetectável, é possível programar relação sexual no momento mais fértil do ciclo, determinado através de ultrassonografia transvaginal seriada. Oriente-se, então, relação sexual "desprotegida" apenas no momento mais fértil, juntamente com a administração de medicação anti-retroviral profilática para o cônjuge exposto. Neste caso é necessário que o paciente portador do vírus esteja em uso de terapia antiretroviral e com contagem viral indetectável. A terapia antiretroviral *per se* é capaz de reduzir a transmissão entre casais sorodiscordantes em até 92% (DONNELL et al., 2010). No caso de pacientes com supressão total (carga viral indetectável), revisão sistemática de 3 estudos com 991 casais heterossexuais sorodiscordantes demonstrou taxa de transmissão de 0 por 100 pessoas-ano (IC 95% = 0-0,01) (LOUTFY et al., 2013).

Nem sempre o casal, ou o médico responsável, aceita o risco teórico de transmissão para o cônjuge (mesmo que baixo), e em alguns casos pode existir associação de infertilidade conjugal. Nos casos onde existe documentação da saúde tubária (através de histerossalpingografia normal ou videolaparoscopia) e cônjuge

apresentando contagem de espermatozoides suficiente é possível a realização de inseminação intrauterina após preparo seminal. Caso seja a mulher a portadora do HIV não são necessários procedimentos específicos para o HIV, apenas inseminação intrauterina convencional. Caso seja o homem soropositivo, ou ambos, é realizado preparo seminal pela técnica de *sperm wash* com gradiente de densidade e análise do material com tecnologia de biologia molecular por reação em cadeia de polimerase (PCR) para a detecção de RNA viral no plasma seminal. Sendo a carga viral no plasma seminal indetectável procede-se à inseminação intrauterina após a ovulação (em ciclo espontâneo ou induzido por medicações) (ASRM, 2013; MARINA et al., 1998).

Em alguns casos é indicada FIV convencional ou por ICSI, principalmente quando há fator tubário severo com distorção da anatomia tubária ou obstrução total, ou mesmo em casos masculinos severos. Quando apenas a mulher está infectada pelo HIV procede-se à FIV sem a necessidade de identificação viral no material biológico. Nos casos onde ambos os cônjuges são soropositivos procede-se também ao preparo seminal por *sperm wash* com gradiente de densidade. Da mesma forma que na inseminação é feita análise por PCR do plasma seminal. Após resultado com carga viral indetectável no plasma seminal procede-se ao procedimento de FIV, cultivo embrionário e transferência de embriões no momento adequado (ASRM, 2013).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo tratou-se de análise retrospectiva de casos de pacientes submetidas a fertilização *in vitro* em um centro especializado em reprodução assistida em Curitiba.

3.1 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo foi submetido e aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas, CAAE: 57818816.7.0000.0096.

Por tratar-se de estudo retrospectivo onde não houve novo contato do pesquisador com as pacientes e também por já haver obrigatoriedade na realização destes exames (pela RDC 23) foi dispensada a aplicação de termo de consentimento livre e esclarecido.

3.2 DEFINIÇÃO DA AMOSTRA

Foram incluídas todas as pacientes mulheres submetidas a FIV de janeiro de 2013 a fevereiro de 2016 e que tiveram a rotina completa de exames encontrada em seus prontuários. Foi determinado como critério de exclusão a ausência de algum dos exames da rotina laboratorial. Todas as pacientes coletaram a rotina laboratorial no momento da indicação de FIV. Por terem repetido a FIV com intervalo maior que 6 meses muitas pacientes apresentaram mais do que uma rotina de exames laboratoriais, nestes casos sempre foi considerada a primeira rotina para a aquisição dos dados.

3.3 COLETA DOS DADOS

Os dados recuperados dos prontuários, registrados diretamente em planilha de Excel foram:

- Local de procedência;
- Data de nascimento;
- Data da realização dos exames;
- Fatores causadores de infertilidade;
- Sorologia para sífilis (CMIA ou VDRL);
- Sorologia para HIV I e II;
- Sorologia para HTLV I e II;
- Sorologias para Hepatite B:
 - HbsAg;
 - Anti-HbC IgM;
 - Anti-HbC IgG;
 - Anti-Hbs.
- Sorologia para Hepatite C (Anti-HCV).

A idade das pacientes foi calculada subtraindo-se a data de nascimento da data de coleta dos exames. Consideramos diagnóstico novo quando sorologia positiva e confirmada em paciente que desconhecia a positividade antes do momento da

testagem. As sorologias dos parceiros de mulheres com sorologias positivas também foram avaliadas.

Durante a análise de dados verificou-se também a conduta tomada com as pacientes com sorologias positivas. Todos os exames foram realizados em laboratórios especializados em análises clínicas, certificados conforme as normas de funcionamento da ANVISA.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Intervalos de confiança para prevalências foram construídos usando o método exato proposto por Clopper-Pearson. Para avaliar a associação entre idade e número de sorologias positivas para anti-HbSAg foi utilizado o teste t de Student para amostras independentes. O poder calculado foi de 99%. A condição de normalidade das variáveis foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística. A análise foi realizada usando-se o programa computacional IBM SPSS Statistics v.20.

4 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

Foram revisados prontuários de 1008 pacientes submetidas à FIV no período de janeiro de 2013 a fevereiro de 2016, compreendendo 2445 ciclos de FIV neste período. Todas tinham a rotina de exames completa.

4.1 ANO DA REALIZAÇÃO DOS EXAMES

Como muitas pacientes foram submetidas a mais de um procedimento de FIV na clínica durante suas vidas, foram comuns rotinas de exames com datas anteriores a 2013. Das 1008 pacientes, 3 (0,3%) realizaram os primeiros exames no ano de 2009, 6 (0,6%) em 2010, 21 (2,1%) em 2011, 93 (9,2%) em 2012, 294 (29,2%) em 2013, 253 (25,1%) em 2014, 232 (23,0%) em 2015 e 106 (10,5%) em 2016.

4.2 IDADE DAS PACIENTES

A média de idade das pacientes foi de 35,8 ($\pm 4,9$), variando entre 19 anos e 10 meses e 56 anos e 9 meses. A divisão das pacientes em faixas etárias se deu como demonstrado na TABELA 1.

TABELA 1 - DIVISÃO DE TODAS AS PACIENTES EM FAIXAS ETÁRIAS

Idade (anos)	n	%
≤ 25	17	1,7
26 a 30	144	14,3
31 a 35	375	37,2
36 a 40	290	28,8
> 40	182	18,1
Total	1008	100,0

FONTE: o autor (2017).

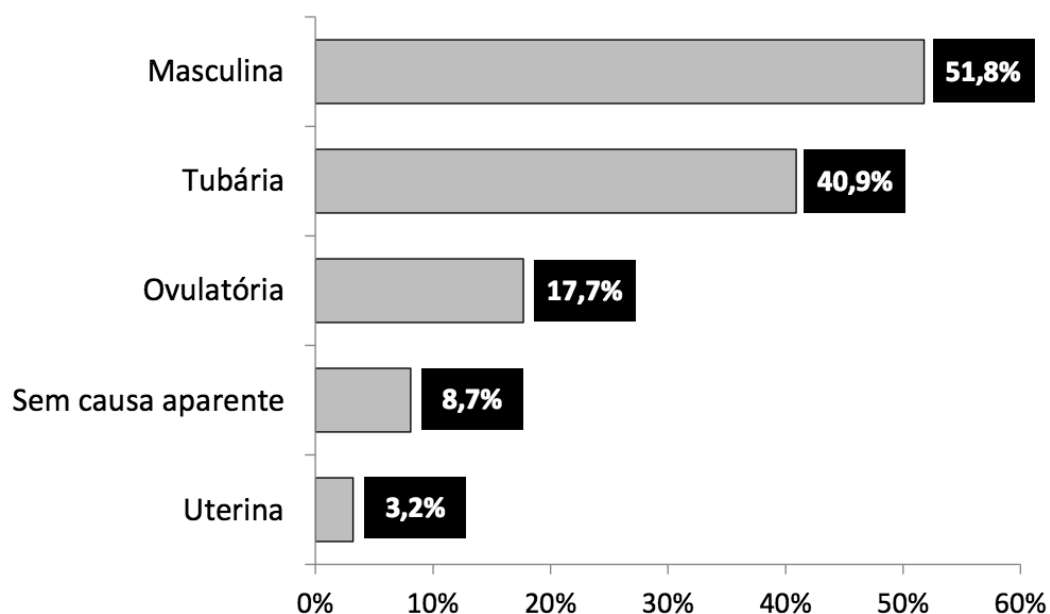
4.3 ORIGEM DAS PACIENTES

Das 1008 pacientes 355 (35,2%) eram provenientes de Curitiba, 72 (7,1%) da região metropolitana de Curitiba, 252 (25%) do interior do Paraná, 319 (31,6%) de outros estados e 10 (0,1%) de outros países. Das pacientes provenientes de outros países, 7 eram do Paraguai, 2 de Angola e 1 dos Estados Unidos.

4.4 CAUSAS DA INFERTILIDADE

Quanto às causas da infertilidade, conforme apresentado na FIGURA 2, 522 (51,8%) apresentaram-se com fator masculino associado ou não a outras causas, 412 (40,9%) apresentaram-se com fator tubo-peritoneal associado ou não a outras causas, 178 (17,7%) fator ovulatório associado ou não a outras causas e 32 (3,2%) fator uterino associado ou não a outras causas.

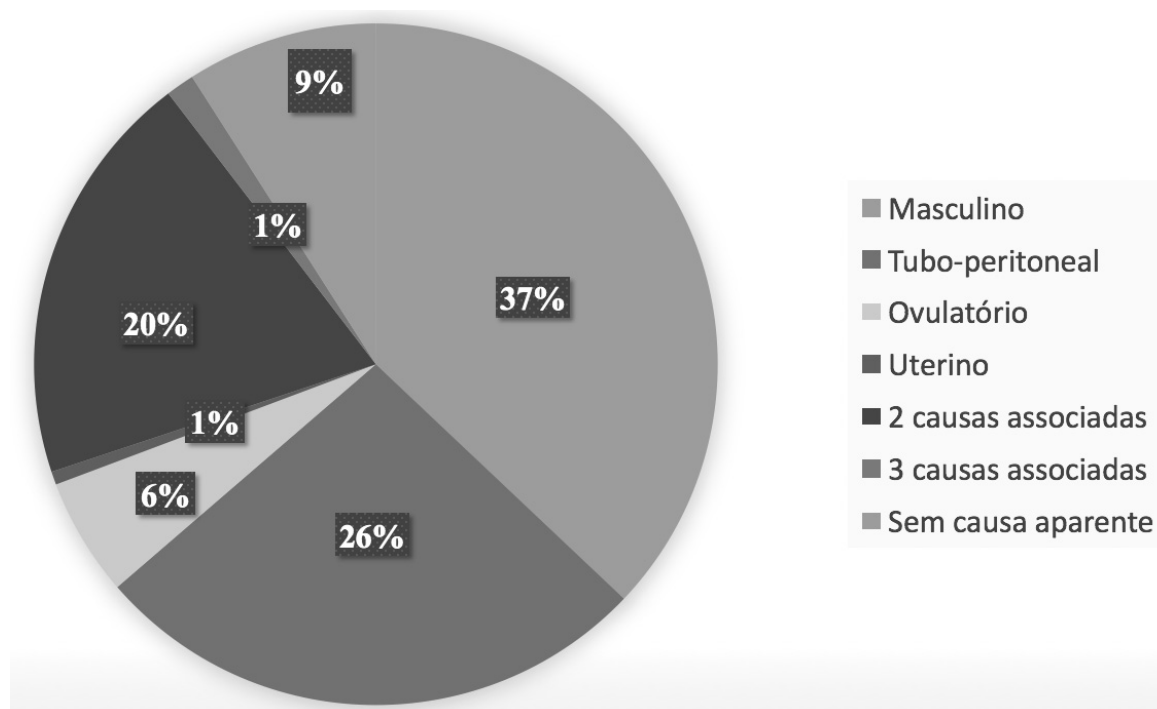
FIGURA 2 - CAUSAS DE INFERTILIDADE ASSOCIADAS DIVIDIDAS EM FREQUÊNCIAS



FONTE: o autor (2017).

Como causas isoladas e em associação de duas ou três, conforme apresentado na FIGURA 3, observou-se que 360 (35,7%) apresentavam-se por fator masculino, 258 (25,6%) fator tubo-peritoneal, 85 (8,4%) fator ovulatório e apenas 6 (0,6%) fator uterino. A associação de dois ou mais fatores representou 211 casos (20,3%) e foi observada da seguinte forma: tubo-peritoneal e masculino em 99 (9,8%) das pacientes; ovulatório e masculino em 46 (4,6%); tubo-peritoneal e ovulatório em 34 (3,4%); tubo-peritoneal e uterino em 9 (0,9%); uterino e masculino em 7 (0,7%); tubo-peritoneal, ovulatório e uterino em 6 (0,6%); tubo-peritoneal, uterino e masculino em 3 (0,3%); e ovulatório, uterino e masculino em apenas 1 paciente (0,1%). Infertilidade sem causa aparente foi observada em 88 (8,7%) das pacientes.

FIGURA 3 - CAUSAS DE INFERTILIDADE ISOLADAS OU EM ASSOCIAÇÃO (ISOLADAS + 2 CAUSAS ASSOCIADAS + 3 CAUSAS ASSOCIADAS), DIVIDIDAS EM FREQUÊNCIAS



FONTE: o autor (2017).

4.5 SOROPREVALÊNCIAS

Três pacientes (0,03%) tiveram exame de triagem para sífilis positivo. Duas pacientes (0,2%) tiveram resultado positivo para triagem de HIV. Nenhuma paciente apresentou exame positivo para HTLV. Foi encontrada sorologia anti-HCV positiva em 2 pacientes (0,2%). Observou-se exame HbsAg positivo em 4 pacientes (0,4%). Anti-HbC IgM foi verificado positivo em 1 paciente (0,1%), já o exame Anti-HbC IgG foi verificado positivo em 47 pacientes (4,7%). As sorologias positivas encontradas foram descritas na TABELA 2.

TABELA 2 - RESULTADO DA TRIAGEM SOROLÓGICA DAS 1008 PACIENTES SUBMETIDAS À FIV

Variável	Resultado
Sífilis	3 (0,3%)
HIV I e II	2 (0,2%)
HTLV I e II	0
Anti-HCV	2 (0,2%)
HbsAg	4 (0,4%)
Anti-HbC IgM	1 (0,1%)
Anti-HbC IgG	47 (4,7%)
Anti-HbS	344 (34,3%)

FONTE: o autor (2017).

Com a intenção de estimar a possível soroprevalência destes marcadores em população mais ampla (todas as mulheres submetidas a FIV no Sul do Brasil) foi calculado o intervalo de confiança para a soroprevalência dos marcadores. Os valores foram demonstrados na TABELA 3.

TABELA 3 - INTERVALO DE CONFIANÇA DA PREVALENCIA DAS SOROLOGIAS ESTUDADAS

Variável	Resultado	IC95%*
Sífilis	3 (0,30%)	0,06% - 0,87%
HIV I e II	2 (0,20%)	0,02% - 0,71%
Anti-HCV	2 (0,20%)	0,02% - 0,72%
HbsAg	4 (0,40%)	0,10% - 1,01%
Anti-HbC IgM	1 (0,10%)	0,002% - 0,55%
Anti-HbC IgG	47 (4,7%)	3,5% - 6,2%

*Intervalo de confiança de 95% calculado pelo método exato (Clopper-Pearson)

FONTE: o autor (2017).

4.6 AS PACIENTES COM SOROLOGIAS POSITIVAS

4.6.1 Sífilis

As três pacientes com sorologia positiva para sífilis tiveram CMIA positivo, tinham história de infecção prévia, todas com tratamento adequado. Duas eram provenientes de Curitiba – PR (uma com 39 e outra com 34 anos) e uma de Blumenau – SC (33 anos). A paciente de Curitiba com 34 anos, em tratamento por causa tubária, engravidou após duas tentativas, a de 39, em tratamento por fator ovulatório, não engravidou, mesmo após 4 tentativas de FIV. A paciente de Blumenau, em tratamento por fator masculino, engravidou na primeira tentativa de FIV.

4.6.2 HIV

Duas pacientes tiveram sorologia positiva para HIV, ambas já tinham diagnóstico prévio da doença e já apresentavam carga viral indetectável, com

liberação do infectologista para gravidez. Uma paciente era proveniente de Balneário Camboriú – SC (37 anos) e a outra de Joinville – SC (34 anos). A paciente de 37 anos, em tratamento por causa tubária, engravidou após duas tentativas, a de 34 anos, em tratamento por fator masculino, engravidou na primeira tentativa de FIV.

4.6.3 Hepatite C

Foi encontrada sorologia anti-HCV positiva em 2 pacientes (0,2%), sendo que uma já tinha diagnóstico prévio e liberação do infectologista para gravidez e a outra teve triagem positiva sendo confirmada por PCR e encaminhada a especialista infectologista. A paciente com diagnóstico novo era proveniente de Curitiba – PR, estava em tratamento por causa tubária e tinha 38 anos. Realizou o tratamento para FIV duas vezes, sem sucesso. A segunda paciente era proveniente de Foz do Iguaçu – PR, estava em tratamento por fator ovulatório e tinha 44 anos. Foi receptora de óvulos doados e engravidou na primeira tentativa de FIV.

4.6.4 Hepatite B

Observou-se exame HbsAg positivo em 4 pacientes (0,4%), destas 2 tinham diagnóstico prévio e liberação para engravidar, 2 tiveram novo diagnóstico confirmado por anti-HbC total reagente e foram encaminhadas ao infectologista. Entre as que tiveram novo diagnóstico havia uma paciente de Curitiba – PR em tratamento por fator ovulatório e masculino (30 anos) que engravidou na primeira tentativa e outra de Joinville – SC em tratamento por fator masculino (36 anos) que tentou apenas uma vez e não obteve gestação. Entre as duas com diagnóstico prévio havia uma de Cascavel – PR em tratamento por fator ovulatório (42 anos) que tentou apenas uma vez e não obteve gestação e outra de Xanxerê – SC em tratamento por causa tubária e fator masculino (38 anos) que engravidou após três tentativas de FIV.

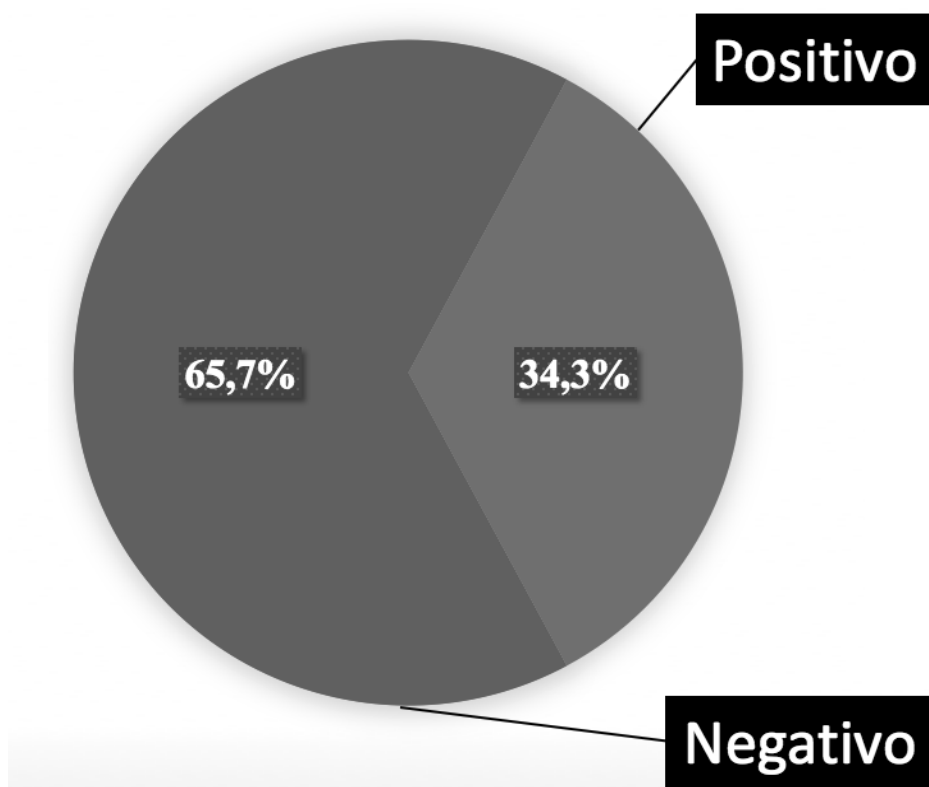
4.7 OS PARCEIROS DE PACIENTES COM SOROLOGIAS POSITIVAS

Todos os parceiros de pacientes com sorologias positivas foram avaliados quanto às suas sorologias. Não houve nenhuma sorologia positiva entre os parceiros das 3 pacientes com exames positivos para sífilis, entre os parceiros das duas com sorologias positivas para HIV, entre os parceiros das duas com sorologias para Hepatite C, entre os parceiros das quatro com sorologias para Hepatite B e entre os parceiros das 47 com sorologia positiva para Anti-HbC IgG.

4.8 IMUNIDADE ATRAVÉS DO ANTI-HBS

O exame Anti-HbS, que verifica presença de imunização contra o vírus da hepatite B, foi verificado negativo em 659 pacientes (65,3%), conforme demonstrado na FIGURA 4.

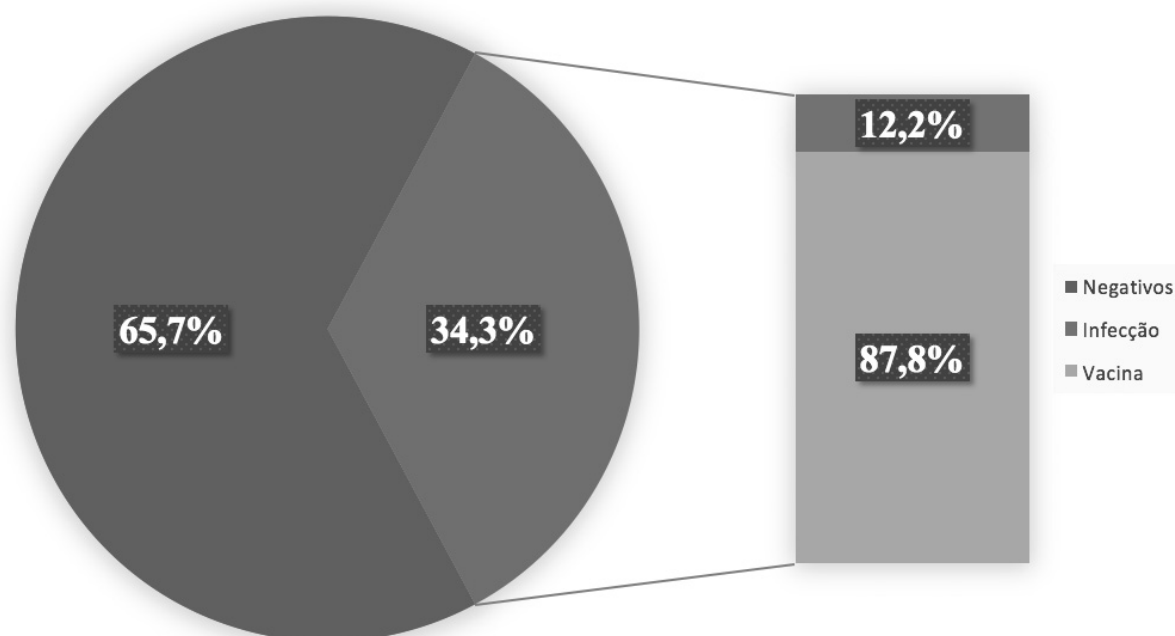
FIGURA 4 - RESULTADOS POSITIVOS E NEGATIVOS PARA ANTI-HBS EM TODAS AS PACIENTES SUBMETIDAS À FIV



FONTE: o autor (2017).

Conforme demonstrado na FIGURA 5, 302 pacientes (31,7%) apresentaram-se com Anti-HbS positivo e Anti-HbC IgG negativo, sendo esta a proporção de pacientes imunes à hepatite B através da vacinação efetiva. Das 344 pacientes imunes à hepatite B, 47 imunizaram-se provavelmente pelo contato com o vírus (Anti-HbC IgG positivo).

FIGURA 5 - RESULTADOS POSITIVOS E NEGATIVOS PARA ANTI-HBS ASSOCIADO A DIVISÃO EM ANTI-HBC IGC POSITIVOS E NEGATIVOS (POSSÍVEL PAPEL DA VACINAÇÃO) DAS PACIENTES COM ANTI-HBS POSITIVO



FONTE: o autor (2017).

Com a intenção de estimar a possível soroprevalência destes marcadores em população mais ampla (todas as mulheres submetidas a FIV no Sul do Brasil) foi calculado o intervalo de confiança para a soroprevalência de Anti-HbS em toda a amostra e em pacientes com Anti-HbS positivo associado ao Anti-HbC IgG negativo (provável vacinação) e positivo (provável doença prévia), respectivamente. Os valores são demonstrados na TABELA 4.

TABELA 4 - INTERVALO DE CONFIANÇA DA PREVALÊNCIA DAS SOROLOGIAS DE ANTI-HBS

Variável	Dados válidos	Resultado	IC95%*
Anti-HbS	1008	344 (34,3%)	31,4% - 37,3%
Anti-HbS restrito a anti-HbC IgG negativo	962	302 (31,7%)	28,7% - 34,7%
Anti-HbS restrito a anti-HbC IgG positivo	46	39 (84,8%)	71,1% - 93,7%

*Intervalo de confiança de 95% calculado pelo método exato (Clopper-Pearson).
FONTE: o autor (2017).

Testou-se a hipótese de as médias de idade de pacientes imunes vs. não imunes contra a hepatite B serem diferentes. As pacientes com anti-HbS negativo eram mais velhas que as com anti-HbS positivo ($36,3 \pm 4,8$ vs. $34,9 \pm 5,0$; $p < 0,001$). Na TABELA 5 são apresentadas estatísticas descritivas de idade de acordo com o anti-HbS.

TABELA 5 - POSITIVIDADE DE ANTI-HBS X IDADE

	n	Idade (anos)				Valor de p*	
		Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	
Negativo	659	36,3	36,1	19,8	56,7	4,8	
Positivo	344	34,9	34,7	21,3	52,6	5,0	<0,001

*Teste t de Student para amostras independentes, $p < 0,05$; Poder do teste: 99%.

FONTE: o autor (2017).

A associação entre o avanço da idade e a negatividade sorológica do anti-HbS se manteve quando estratificamos as pacientes em grupos etários, conforme demonstrado na TABELA 6 e FIGURA 6.

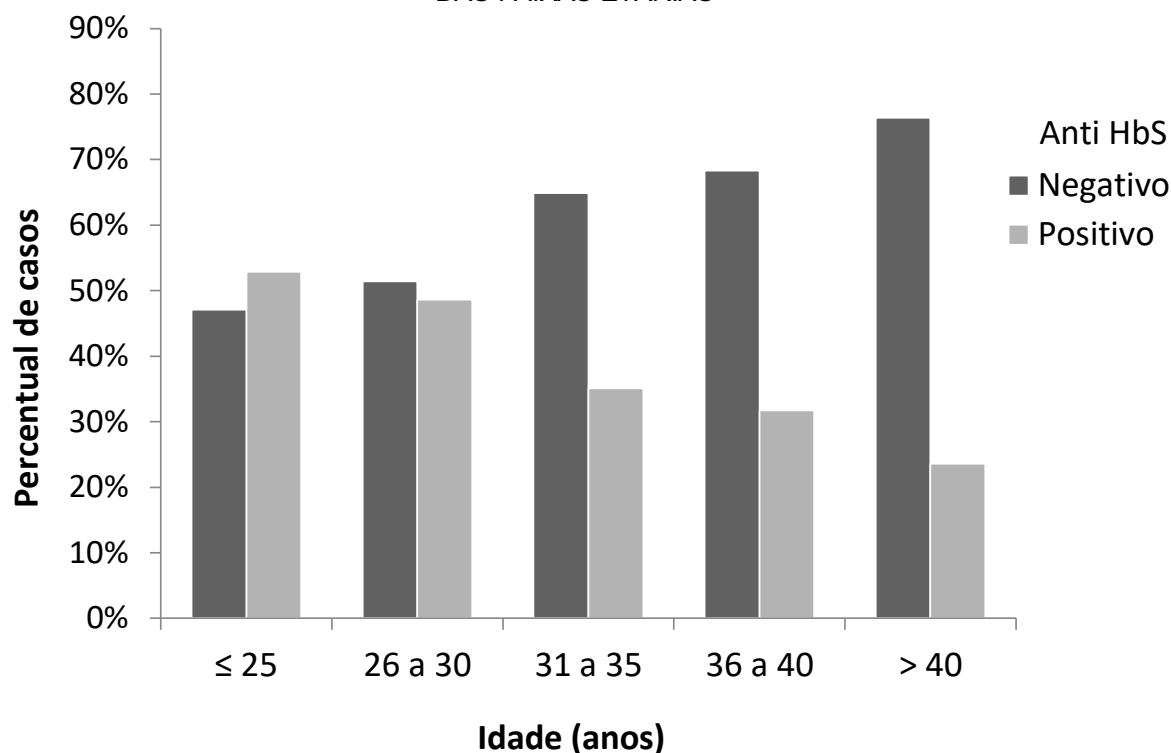
TABELA 6 - POSITIVIDADE DE ANTI-HBS VS IDADE (ESTRATIFICADO EM GRUPOS ETÁRIOS)

Anti HbS	Idade (anos)				
	≤ 25	26 a 30	31 a 35	36 a 40	> 40
Negativo	8	74	242	196	139
	47,1%	51,4%	64,9%	68,3%	76,4%
Positivo	9	70	131	91	43
	52,9%	48,6%	35,1%	31,7%	23,6%
Total	17	144	373	287	182

Valor de p: <0,001 (teste de Qui-quadrado, $p < 0,05$); Poder do teste: 99,7%.

FONTE: o autor (2017).

FIGURA 6 - AUMENTO PERCENTUAL DAS SOROLOGIAS ANTI-HBS NEGATIVAS AO LONGO DAS FAIXAS ETÁRIAS



FONTE: o autor (2017).

Testamos a possível associação entre soropositividade para anti-HbC IgG (contato prévio com o vírus da hepatite B) e o avanço da idade. Verificou-se tendência de associação, com $p: 0,075$, conforme demonstrado na TABELA 7 e FIGURA 7.

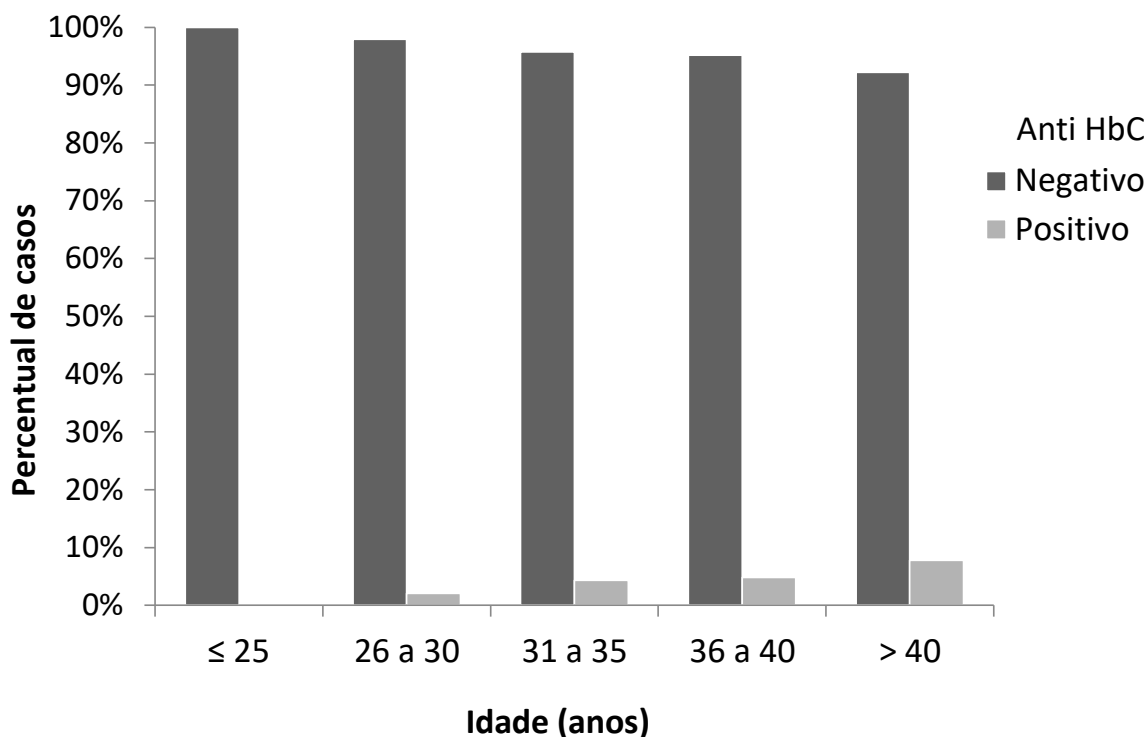
TABELA 7 - POSITIVIDADE DE ANTI-HBC IGC VS IDADE (ESTRATIFICADO EM GRUPOS ETÁRIOS)

Anti HbC IgG	Idade (anos)				
	≤ 25	26 a 30	31 a 35	36 a 40	> 40
Negativo	17	141	359	275	166
	100,0%	97,9%	95,7%	95,2%	92,2%
Positivo	0	3	16	14	14
	0,0%	2,1%	4,3%	4,8%	7,8%
Total	17	144	375	289	180

Valor de $p: 0,075$ (para o teste foram agrupados os intervalos de idade ≤ 25 e 26 a 30; teste de Qui-quadrado, $p < 0,05$).

FONTE: o autor (2017).

FIGURA 7 - AUMENTO PERCENTUAL DE SOROLOGIAS ANTI-HBC IGC POSITIVAS AO LONGO DAS FAIXAS ETÁRIAS



FONTE: o autor (2017).

4.9 ASSOCIAÇÃO ENTRE AS SOROLOGIAS POSITIVAS E A PROCEDÊNCIA DAS PACIENTES

Foi testada a hipótese de associação entre a procedência das pacientes e a soropositividade dos marcadores pesquisados. O teste não foi aplicável para sífilis, HbsAg, anti-HbC IgG e IgM, HIV I e II, anti-HCV pela baixa soroprevalência, sendo somente aplicável para anti-Hbs, não havendo diferença estatisticamente significativa ($p: 0,110$).

4.10 ASSOCIAÇÃO ENTRE AS CAUSAS DE INFERTILIDADE E OS MARCADORES PESQUISADOS

Foi testada a hipótese de associação entre as causas de infertilidade e a positividade para os marcadores de sífilis, HbsAg, anti-HbC IgM e IgG, anti-HCV e HIV I e II, não havendo associação estatisticamente significativa entre as causas de infertilidade e os marcadores.

4.11 DISCUSSÃO

Até a realização deste estudo não existia em literatura nacional nenhum trabalho avaliando em conjunto soroprevalência de HIV I e II, HTLV I e II, sífilis e hepatites B e C em pacientes submetidas à FIV. O único estudo encontrado avaliou apenas a prevalência para sífilis em casais submetidos à reprodução assistida (CAVALCANTE, 2014). A ineditividade do presente estudo é reforçada pela sua importante validade externa, reiterada pelo número de 1008 pacientes pesquisadas, casuística massiva para um procedimento realizado em população tão restrita. A origem geográfica das pacientes avaliadas reitera a representatividade desta população em relação à população de mulheres submetidas à FIV no Sul do Brasil.

Houve ampla distribuição das pacientes pelo território estadual e nacional. Apesar de 42,3% das pacientes serem provenientes de Curitiba e sua região metropolitana, 25% eram provenientes do interior do Paraná, e 31,6% de outros estados, principalmente São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. O padrão da distribuição é compreensível pela localização geográfica da clínica estudada, e reitera a validade externa dos dados obtidos.

O número de ciclos de FIV realizados nesta população no período estudado foi de 2445, o que compreendeu 39,6% dos 6170 ciclos realizados no Paraná no mesmo período (BRASIL, 2014, 2015b, 2016f).

A divisão das pacientes por faixas etárias seguiu padrão de normalidade, porém com desvio à direita da curva, fato também compreendido pela média de 35,8 ($\pm 4,9$) anos e mediana de 35,6 anos, variando entre 19 anos e 10 meses e 56 anos e 9 meses. Isto se deve às características da população feminina estudada, juntamente ao aumento do acometimento pelos fatores causadores de infertilidade ao longo do tempo (ASRM, 2012).

As causas de infertilidade encontradas são condizentes com a apresentada na literatura. O número menor de causas ovulatórias deve-se ao fato de a maioria destas ser tratada com técnicas mais simples, não necessitando de FIV (SPEROFF, 2011).

Todas as soroprevalências encontradas foram inferiores às aquelas nacionais. Quanto ao HBV a prevalência encontrada (0,4% - IC 95% 0,10%-1,01%) mostrara-se inferior àquela da população geral brasileira: entre 20 e 69 anos, 0,6% geral e 0,55% no Sul, porém o intervalo de confiança de 95% calculado mostra que a real soroprevalência nesta população está entre 0,10% e 1,01%, o que pode demonstrar

não haver diferença entre a população estudada e a população geral entre 20 e 69 anos. A soroprevalência de anti-HbC IgG de 4,7% (IC 95% 3,5%-6,2%) foi expressivamente inferior à da população brasileira entre 20 e 69 anos (11,8%) e do Sul do Brasil entre 20 e 69 anos (11,3%), demonstrando menor exposição ao vírus na população estudada. A soroprevalência HCV (0,2% - IC 95% 0,02-0,72%) mostrou-se menor que a da população brasileira entre 20 e 69 anos: 1,56% geral e 1,7% no Sul (BRASIL, 2010). A prevalência de pacientes infectadas por HIV (0,2% - IC 95% 0,02% - 0,71%) também foi menor que a estimativa brasileira, de 0,39% (estimado com base em UNAIDS Brasil 2015), porém o intervalo de confiança calculado neste estudo foi de 0,02% a 0,71%, podendo não haver diferença entre esta população e a brasileira (UNAIDS, 2015). Alguns fatores são sugestivos do motivo das soroprevalências encontradas serem menores que as brasileiras, o principal é o perfil socioeconômico das pacientes submetidas à FIV, pois infelizmente os custos deste tratamento ainda são altos e bastante limitantes. Outro fator, levando-se em consideração os fatores de risco para aquisição destas doenças, é o comportamental: em sua ampla maioria são mulheres casadas com planos reprodutivos iminentes, o que possivelmente leva a maior conscientização sobre a exposição a estes fatores.

Na TABELA 8 comparamos o atual estudo com os estudos semelhantes disponíveis na literatura. Estudo realizado em centro especializado em reprodução assistida em Gana avaliando HIV e hepatites B e C, publicado em 2016, demonstrou prevalência de infecção por HIV de 1,7%, hepatite B de 7,9%, e hepatite C 0,4%. As prevalências descritas em população de FIV foram semelhantes às prevalências gerais em Gana. Este estudo apresenta a particularidade de ter sido realizado em país africano, com índices de soropositividade para doenças como HIV e hepatite B bastante acima das médias mundiais (YAKASS et al., 2016). Em contraste, em estudo realizado em Londres de 1999 a 2001 foi encontrado prevalência de HIV de 0,13%, hepatite B de 1,7% e hepatite C de 0,5%. Os dados também foram comparáveis à população geral daquele país (HART et al., 2001). A grande diferença encontrada entre estes dois estudos provavelmente se deve às diferenças socioeconômicas e culturais entre os dois países. Apesar da heterogeneidade da população brasileira, a prevalência destas doenças entre pacientes submetidas à FIV foi menor que os índices de pacientes ingleses para hepatites B e C e bastante próximo ao de HIV.

Avaliando apenas a soroprevalência de HbsAg Lao, colaboradores avaliaram 831 casais inférteis submetidos à FIV em Hong Kong. Verificaram positividade em

6,3% das mulheres e 7,3% dos homens. A presença de HbsAg positivo esteve mais frequentemente associada a infertilidade por causa tubária. Também é um estudo que deve ser avaliado com cautela, pois como citado anteriormente, a China tem prevalência de infecção crônica pelo HBV próxima de 10% (LAO et al., 2017).

A triagem de pacientes submetidas à FIV tem papel importante na prática diária da reprodução assistida. A presença de novos diagnósticos em nossa população (1 caso de hepatite C e 2 casos de hepatite B) reforçam esta importância. Contudo, do ponto de vista de biossegurança, apesar de células germinativas femininas poderem carregar consigo vírus com potencial infectante, existem evidências importantes de que este material tem baixo potencial infectante. Estudo realizado por Cobo *et al.* demonstrou não haver presença de carga genética viral em meios de cultivo, meios de congelamento e mesmo em tanques de nitrogênio líquido onde foram armazenados oócitos e embriões de pacientes soropositivas para HIV e hepatites B e C (COBO et al., 2012; NIE et al., 2011).

A soroprevalência de sífilis em pacientes submetidas a técnicas de reprodução assistida fora estudada anteriormente por Cavalcante *et al.* em Goiânia, abrangendo pacientes de alta e baixa complexidade em hospital público e centro privado. Neste estudo não foi encontrado nenhum caso positivo entre 253 mulheres submetidas ao exame de VDRL no hospital público. Das 896 mulheres pesquisadas no centro privado, apenas uma (0,11%) apresentou diagnóstico para sífilis, com VDRL positivo seguido de FTA-ABS positivo (CAVALCANTE, 2014). Nossos dados demonstraram prevalência sensivelmente maior (0,3% - IC 95% 0,06 – 0,87%) de exames positivos para sífilis em nossa população, porém não registramos nenhum caso de doença ativa, visto que as três pacientes descritas já possuíam diagnóstico e tratamento prévios. Nosso estudo encontrou taxa de diagnóstico de sífilis inferior aos dados gerais brasileiros de 2015, que demonstraram taxa de diagnóstico de 42,7 casos/100 mil habitantes (0,042%) (BRASIL, 2016c).

TABELA 8 - OS ESTUDOS SOBRE SOROPREVALÊNCIA EM FIV DISPONÍVEIS NA LITERATURA

Autor	População	Metodologia	Conclusão
HART et al., 2001	Inglaterra, Londres. 815 pessoas (408 casais) submetidos à FIV.	Pesquisa de HIV I e II, HbsAg e Anti-HCV	<ul style="list-style-type: none"> • HIV 0,13% • HBV 1,7% • HVC 0,5%
WALSH et al., 2011	Irlanda, Dublin 225 receptoras de oócitos doados	Pesquisa de HIV I e II, HbsAg, Anti-HCV, Sífilis, Gonorréia e Clamídia	<ul style="list-style-type: none"> • Nenhum exame foi positivo.
MALM et al., 2012	Suécia 35.000 mulheres submetidas à FIV	Pesquisa para HTLV I e II e Anti-HCV	<ul style="list-style-type: none"> • HTLV 2,3/10.000 • HCV 0,009%
CAVALCANTE et al., 2014	Brasil, Goiânia – GO 1942 casais em clínica privada e 320 mulheres em hospital público, submetidos a técnicas de reprodução assistida	Pesquisa de Sífilis	<ul style="list-style-type: none"> • 0,11% geral. • 0% em amostra feminina pública. • 0,11% em amostra feminina privada. • 0,14% em amostra masculina privada.
YAKASS et al., 2016	Gana. 229 casais submetidos à FIV.	Pesquisa de HIV I e II, HbsAg e Anti-HCV. Comparou taxas de gravidez em sorologias positivas Vs. negativas	<ul style="list-style-type: none"> • HIV 1,7% • HBV 7,9% • HCV 0,4% • Sem diferença na taxa de gravidez
LAO et al., 2017	Hong Kong 831 casais submetidos à FIV	Pesquisa de HbsAg	<ul style="list-style-type: none"> • Mulheres 6,3% • Homens 7,3% • Positividade mais associada a causa tubária.
ANJOS et al., 2017 (O presente estudo)	Brasil, Curitiba – PR 1008 mulheres submetidas à FIV	Pesquisa de sífilis, HIV I e II, HTLV, HbsAg, Anti- HbC IgG e IgM, Anti-Hbs, Anti-HCV	<ul style="list-style-type: none"> • Sífilis 0,3% • HIV 0,2% • HBV 0,4% • Anti-HbC IgG 4,7% • Anti-HbC IgM 0,1% • Anti-Hbs 34,3% • HCV 0,2%

FONTE: autor (2017)

Um ponto relevante a ser considerado é o possível impacto das sorologias e, conseqüentemente, das doenças pesquisadas no resultado reprodutivo dos casais submetidos à FIV. Wang *et al.* em estudo de caso controle avaliou 320 casais inférteis com indicação de FIV. Entre eles, 160 casais com diagnóstico prévio de sífilis e já tratados de forma padrão e outros 160 com exames negativos para sífilis. A taxa de gravidez clínica encontrada foi menor no grupo de pacientes tratados para sífilis versus os controles (43.8% versus 55.6%, $P = 0,03$) (WANG et al., 2015). Em estudo retrospectivo Lin *et al.* analisou dados de 482 pacientes visando avaliar a segurança do status soropositivo para sífilis, concluindo que o status de positividade para sífilis não influenciou os resultados (LIN et al., 2014).

Ainda é pouco claro se a infecção pelo vírus da hepatite B pode comprometer de alguma forma a fertilidade natural ou os resultados do tratamento de fertilização *in vitro*. Estudo realizado na China em 2010 avaliou 1676 casais submetidos à FIV pela primeira vez. Destes, em 131 (7,8%) casos apenas a mulher tinha sorologia HBsAg positiva, em 161 (9,6%) o parceiro e em 13 (0,8%) ambos. A taxa de gravidez em evolução e a taxa de nascidos vivos não foi significativamente diferente para nenhum dos grupos, apesar de a porcentagem de espermatozoides com morfologia normal ser reduzida nos homens com sorologia HBsAg positiva (5,0% vs. 10,0%; $p = 0.009$) (LEE et al., 2010).

Estudo citado anteriormente, realizado em Gana também comparou os resultados de FIV para pacientes contaminados pelo vírus do HIV, HBV ou HCV com pacientes não contaminadas. Não houve diferença nas taxas de gravidez entre os grupos (YAKASS et al., 2016).

O presente estudo não obteve sorologias positivas suficientes para avaliar possível associação entre positividade e resultados reprodutivos. Avaliamos possível associação entre a causa da infertilidade e as sorologias positivas, não havendo associação. Para tais associações seria necessário desenho de estudo específico, com maior número de sorologias positivas e comparação com grupo controle quanto aos resultados reprodutivos (número de oócitos obtidos, número e embriões, qualidade dos embriões, taxa de gravidez por punção e por transferência, taxa de implantação e taxa de “bebês em casa”).

Estudo realizado por Monich *et al.* avaliou as taxas de descarte de amostras de sangue entre 2003 e 2012 por sorologias positivas em um banco de sangue em Curitiba. Foi verificado que de 399.280 doações, houve descarte de 2,7% por anti-HbC, 0,9% por HIV, 0,8% por hepatite C, 0,5% por sífilis, 0,3% por hepatite B (HbsAg) e 0,2% por HTLV (MONICH et al., 2017). Comparativamente, as soroprevalências da nossa população estiveram acima da população estudada por Monich *et al.* apenas para HbsAg e anti-HbC IgG, demonstrando maior exposição ao HBV.

Quando avaliamos a presença de marcadores de imunização contra a hepatite B (anti-HbsAg) encontramos importante parcela das pacientes (65,3%) não imunes ao vírus. Se consideradas apenas as pacientes imunizadas através da vacinação (pacientes com anti-Hbs positivo e anti-Hbc IgG negativo), a parcela de pacientes imunizadas fica em 31,5% (IC 95%: 28,7% - 34,7%). Mesmo levando-se em consideração que 5 a 10% dos adultos submetidos ao esquema vacinal de três doses

não apresentam soroconversão, a taxa encontrada de pacientes não imunes é alta, considerando a vacina fazer parte do calendário nacional de vacinação do adulto, de 19 a 49 anos (DAVID et al., 2015). Dados do inquérito nacional de hepatites virais demonstram que no Sul do país a cobertura vacinal para HBV é de aproximadamente 40,82% entre 20 e 69 anos. O mesmo relatório evidencia cobertura vacinal bem maior para pacientes entre 5 e 19 anos, de 74,1%, o que reflete o resultado de políticas vacinais nacionais (BRASIL, 2010).

O fato de a ausência de imunização ser correlacionada ao avanço da idade das pacientes, demonstrado nas tabelas 5 e 6, reflete também a inexistência de vacina contra a hepatite B antes de 1982, quando fora inventada, além da política de imunização contra a hepatite B no Brasil, iniciada em 1989, tornando-se parte do calendário vacinal em alguns estados a partir de 1992 (BUENO, 2009). Quando comparados os dados de pacientes vacinadas com aquelas que entraram em contato com o HBV em algum momento de suas vidas (anti-HbC IgG positivo) observa-se relação inversa. Quanto maior a idade das pacientes, menor a frequência de vacinação e maior a frequência de infecção prévia pelo vírus, conforme demonstrado na tabela 7.

A idade também foi relacionada com menor prevalência de vacinação em estudo envolvendo profissionais de saúde na Bahia, publicado em 2015. Neste estudo a prevalência de vacinação completa contra hepatite B em enfermeiros, técnicos de enfermagem e médicos foi de 91,8% (SOUZA et al., 2015). Aplicando questionários em cirurgiões-dentistas, Martins *et al.* encontrou 74,9% de profissionais com esquema vacinal completo para hepatite B (DE BARROS LIMA MARTINS; BARRETO, 2003). Em população menos específica (adolescentes de Campinas), Francisco *et al.* através de aplicação de questionários encontrou prevalência de esquema vacinal completo de 72,2% (FRANCISCO et al., 2015). Avaliação sorológica da imunização foi realizada por Antunes *et al.* em 311 adolescentes, demonstrando marcadores de imunidade em 85,8% das amostras avaliadas (ANTUNES; MACEDO; ESTRADA, 2004). Em comparação com estas populações a frequência de imunização contra a Hepatite B na população submetida à FIV é baixa. Torna-se então o momento do início do tratamento para FIV extremamente oportuno para orientação sobre vacinação, tendo o especialista em reprodução assistida papel essencial na imunização desta população.

Considerando-se o aumento na incidência de sífilis e HIV nos últimos anos no

Brasil, cresce a importância da triagem para estas doenças, bem como é bem compreendida a importância epidemiológica da triagem para HBV e HCV (BRASIL, 2016c, 2016e). Apesar da importância destes marcadores, é extremamente questionável a inclusão de pesquisa para HTLV I e II entre eles, visto a baixa prevalência no território nacional e o alto custo do exame. Os dados do presente estudo demonstram que foram executados ao menos 1008 exames de triagem (100% da amostra) para HTLV I e II sem que nenhum tivesse resultado positivo, o que gerou gasto de aproximadamente R\$10.000,00 sem se reverter a nenhum benefício de triagem. Este fato é corroborado pela ausência de obrigatoriedade de triagem de HTLV I e II para pacientes submetidas à FIV em países como Estados Unidos e Inglaterra (HFEA, 2017; SART, 2017).

Mais estudos epidemiológicos como este são necessários para melhor guiar as práticas e regulamentações públicas no sentido de otimizar os resultados e recursos disponíveis, visto que vivemos em um país que ainda sofre com escassez de recursos financeiros. Neste contexto é imperativa a perspectiva de as agências reguladoras basearem-se em estudos epidemiológicos como este para a definição de quais exames devem ser obrigatórios.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todas as soroprevalências encontradas foram menores que as médias nacionais, inclusive para imunização contra o HBV, conforme demonstrado a seguir:

- Sífilis: 0,3%
- HIV I e II: 0,2%
- HTLV I e II: 0%
- Hepatites B:
 - HbsAg: 0,4%
 - Anti-Hbs 34,3%
 - Anti-HbC IgM: 0,1%
 - Anti-HbC IgG: 4,7%
- Hepatite C:
 - Anti-HCV: 0,2%

REFERÊNCIAS

ADLER, M. W. ABC of Aids: Development of the epidemic. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 322, n. 7296, p. 1226–9, 19 maio 2001.

ANTUNES, H.; MACEDO, M.; ESTRADA, A. Taxa de cobertura vacinal com imunização para o vírus da hepatite B. **Acta Medica Portuguesa**, v. 17, n. 4, p. 303–308, 2004.

ASRM. Diagnostic evaluation of the infertile female: A committee opinion. **Fertility and Sterility**, v. 98, n. 2, p. 302–307, 2012.

ASRM. Recommendations for reducing the risk of viral transmission during fertility treatment with the use of autologous gametes: A committee opinion. **Fertility and Sterility**, v. 99, n. 2, p. 340–346, 2013.

BRASIL. Estudo de prevalência de base populacional das infecções pelos vírus das hepatites A, B e C nas capitais do Brasil. **Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais**, p. 295, 2010.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada Número 23, de 27 de maio de 2011. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA**, p. 1–19, 2011.

BRASIL. Guia de manejo clínico da infecção pelo HTLV. **Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais**, 2013a.

BRASIL. Manual Técnico Para O Diagnóstico Da Infecção Pelo Hiv. **Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais.**, p. 56, 2013b.

BRASIL. SisEmbrio - 7º Relatório do Sistema Nacional de Produção de Embriões. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA**, p. 1–23, 2014.

BRASIL. Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais. **Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais**, p. 68, 2015a.

BRASIL. SisEmbrio - 8º Relatório do Sistema Nacional de Produção de Embriões. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA**, p. 1–27, 2015b.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada Número 77, de 30 de março de 2016. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA**, p. 1–2, 2016a.

BRASIL. Nota Técnica n.º 008/2016/GSTCO/GGMED/DIARE/ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA**, 2016b.

BRASIL. Boletim Epidemiológico: Sífilis 2016. **Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais**, v. 47, 2016c.

BRASIL. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite B e Coinfecções. **Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais.**, 2016d.

BRASIL. Boletim Epidemiológico: HIV/AIDS. **Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais**, 2016e.

BRASIL. SisEmbrio - 9º Relatório do Sistema Nacional de Produção de Embriões. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA**, p. 1–23, 2016f.

BRASIL. SisEmbrio 10º Relatório do Sistema Nacional de Produção de Embriões. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA**, p. 1–23, 2017.

BRASIL. Manual Técnico para Diagnóstico da Sífilis. **Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis, Aids e Hepatites Virais.**, p. 52 p, 2016.

BUENO, M. M. Avaliação da Cobertura da Vacina Contra Hepatite B na População Menor de 20 anos nos Municípios da 3ª Coordenadoria Regional de Saúde, RS, no Ano de 2007. **Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pelotas ; Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia**, 2009.

CAMPBELL, C. A.; CANARY, L.; SMITH, N. State HCV Incidence and Policies Related to HCV Preventive and Treatment Services for Persons Who Inject Drugs — United States , 2015 – 2016. **Centers for Disease Control and Prevention - Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 66, n. 18, p. 465–469, 2017.

CAVALCANTE, G. M. C. Soroprevalência de sífilis em pacientes submetidos à fertilização assistida. **Reproducao e Climaterio**, v. 29, n. 1, p. 3–7, 2014.

COBO, A. et al. Viral screening of spent culture media and liquid nitrogen samples of oocytes and embryos from hepatitis B, hepatitis C, and human immunodeficiency virus chronically infected women undergoing in vitro fertilization cycles. **Fertility and Sterility**, v. 97, n. 1, p. 74–78, 2012.

COSTA, E. A. S.; MAGRI, M. C.; CATERINO-DE-ARAUJO, A. The best algorithm to confirm the diagnosis of HTLV-1 and HTLV-2 in at-risk individuals from São Paulo, Brazil. **Journal of Virological Methods**, v. 173, n. 2, p. 280–286, 2011.

DAVID, M. C. et al. A systematic review and meta-analysis of management options for adults who respond poorly to hepatitis B vaccination. **Vaccine**, v. 33, n. 48, p. 6564–6569, 2015.

DE BARROS LIMA MARTINS, A. M. E.; BARRETO, S. M. Vacinação contra a hepatite B entre cirurgiões dentistas. **Revista de Saude Publica**, v. 37, n. 3, p. 333–338, 2003.

DHHS. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. **Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents**, p. 288, 2016.

DONNELL, D. et al. Heterosexual HIV-1 transmission after initiation of antiretroviral

therapy : a prospective cohort analysis. **The Lancet**, v. 375, n. 9731, p. 2092–2098, 2010.

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

FILIPPELLI, M. et al. Hepatitis B vaccine by intradermal route in non responder patients : An update. **World J Gastroenterol** 2014, v. 20, n. 30, p. 10383–10394, 2014.

FRANCISCO, P. M. S. B. et al. Hepatitis B vaccination in adolescents living in Campinas, Sao Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 18, n. 3, p. 552–567, 2015.

GESSAIN, A. et al. Antibodies To Human T-Lymphotropic Virus Type-I in Patients With Tropical Spastic Paraparesis. **The Lancet**, v. 326, n. 8452, p. 407–410, 1985.

HAO, R. et al. Inhibition of hepatitis B virus gene expression and replication by hepatocyte nuclear factor 6. **Journal of virology**, v. 89, n. 8, p. 4345–55, 2015.

HART, R. et al. Screening for HIV, hepatitis B and C infection in a population seeking assisted reproduction in an inner London hospital. **BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology**, v. 108, n. 6, p. 654–656, 2001.

HFEA. **Quality and safety of gametes and embryos - Mandatory requirements.** Disponível em: <<http://www.hfea.gov.uk/503.html?fldSearchFor=hiv>>. Acesso em: 7 jul. 2017.

HOOK, E. W. Syphilis. **The Lancet**, v. 6736, n. 16, 2016.

KAKUDA, K. et al. Molecular epidemiology of human T lymphotropic virus type 1 transmission in Okinawa, Japan. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 66, n. 4, p. 404–8, abr. 2002.

LAO, T. T.; MAK, J. S. M.; LI, T.-C. Hepatitis B virus infection status and infertility causes in couples seeking fertility treatment-Indicator of impaired immune response? **American Journal of Reproductive Immunology**, n. September 2016, p. e12636, 2017.

LEE, V. C. Y. et al. Impact of positive hepatitis B surface antigen on the outcome of IVF treatment. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 21, n. 5, p. 712–717, 2010.

LIN, S. et al. Evaluation of syphilis serostatus on the safety of IVF treatment. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 29, n. 6, p. 756–760, 2014.

LOUTFY, M. R. et al. Systematic review of HIV transmission between heterosexual serodiscordant couples where the HIV-positive partner is fully suppressed on antiretroviral therapy. **PloS one**, v. 8, n. 2, p. e55747, 2013.

MA, Z. et al. High specific infectivity of plasma virus from the pre-ramp-up and ramp-up stages of acute simian immunodeficiency virus infection. **Journal of virology**, v. 83, n. 7, p. 3288–97, abr. 2009.

MAHIEUX, R.; GESSAIN, A. The human HTLV-3 and HTLV-4 retroviruses: New members of the HTLV family. **Pathologie Biologie**, v. 57, n. 2, p. 161–166, 2009.

MALM, K. et al. Prevalence of human T-lymphotropic virus type 1 and 2 infection in Sweden. **Scandinavian journal of infectious diseases**, v. 44, n. 11, p. 852–9, nov. 2012.

MARINA, F.; ALCOLEA, R.; VERGE, A. Human immunodeficiency virus type 1 – serodiscordant couples can bear healthy children after undergoing intrauterine. v. 70, n. 1, p. 35–39, 1998.

MCMAHON, B. J. et al. A COMPREHENSIVE PROGRAMME TO REDUCE THE INCIDENCE OF HEPATITIS B VIRUS INFECTION AND ITS SEQUELAE IN ALASKAN NATIVES BRIAN. **The Lancet**, v. 14, p. 1134–1136, 1987.

MOHD HANAFIAH, K. et al. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: New estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. **Hepatology**, v. 57, n. 4, p. 1333–1342, 2013.

MONICH, A. G. et al. Transfusion and Apheresis Science Blood discard rate in a blood center in Curitiba – Brazil . Ten years of study. **Transfusion and Apheresis Science**, v. 56, n. 2, p. 130–134, 2017.

MOSHER, W. D.; PRATT, W. F. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. **Fertility and sterility**, v. 56, n. 2, p. 192–3, ago. 1991.

MURPHY, E. L. et al. Risk factors for hepatitis C virus infection in United States blood donors. NHLBI Retrovirus Epidemiology Donor Study (REDS). **Hepatology (Baltimore, Md.)**, v. 31, n. 3, p. 756–762, 2000.

NIE, R. et al. Presence of hepatitis B virus in oocytes and embryos: A risk of hepatitis B virus transmission during in vitro fertilization. **Fertility and Sterility**, v. 95, n. 5, p. 1667–1671, 2011.

PETERS, P. J. et al. Screening Yield of HIV Antigen/Antibody Combination and Pooled HIV RNA Testing for Acute HIV Infection in a High-Prevalence Population. **JAMA**, v. 315, n. 7, p. 682–90, 16 fev. 2016.

RENDI-WAGNER, P.; KUNDI, M.; STEMBERGER, H. Antibody-response to three recombinant hepatitis B vaccines : comparative evaluation of multicenter travel-clinic based experience. **Vaccine**, v. 19, p. 2055–2060, 2001.

RENNER, S. et al. Endometriosis : a premenopausal disease ? Age pattern in 42 , 079 patients with endometriosis. p. 667–670, 2012.

ROELS, G. L. Old and new adjuvants for hepatitis B vaccines. p. 69–78, 2015.

SART. **Mandatory testing prior to IVF.** Disponível em: <<http://www.sart.org/Prerequisite/>>. Acesso em: 7 jul. 2017.

SEEGER, C.; MASON S., W. Molecular Biology of Hepatitis B Virus Infection Christoph. **Virology**, v. 33, n. 4, p. 395–401, 2015.

SEMEÃO, L. E. DA S. et al. Soroprevalência do vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV) entre doadores de sangue em hemocentros de Maringá-Paraná e Boa Vista-Roraima. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 3, p. 523–529, 2015.

SOUZA, F. DE O. et al. Vacinação contra hepatite B e Anti-HBS entre trabalhadores da saúde. **Cadernos de Saúde Coletiva**, v. 23, n. 2, p. 172–179, 2015.

SPEROFF, L. M. A. F. **Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility**. 8th. ed. [s.l.] LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, 2011.

TORSHIZI, M. M. et al. Effect of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) in seropositive infertile women on intracytoplasmic sperm injection (ICSI) outcome. **Iranian Journal of Reproductive Medicine**, v. 12, n. 1, p. 15–18, 2014.

U.S.P.H.S. Guidelines for counseling persons infected with human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) and type II (HTLV-II). Centers for Disease Control and Prevention and the U.S.P.H.S. Working Group. **Annals of internal medicine**, v. 118, n. 6, p. 448–54, 15 mar. 1993.

UNAIDS. **Estatísticas**. Disponível em: <<http://unaid.org.br/estatisticas/>>. Acesso em: 1 maio. 2017.

WALSH, A. P. et al. Recipient screening in IVF: First data from women undergoing anonymous oocyte donation in Dublin. **Reproductive health**, v. 8, n. 1, p. 8, 2011.

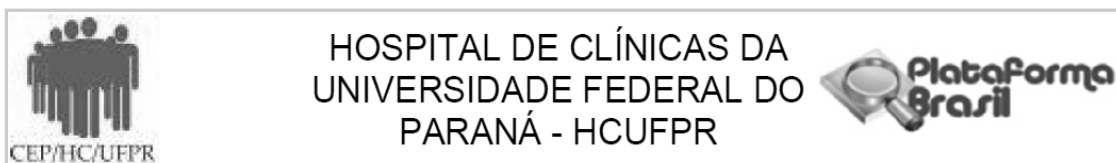
WANG, J. et al. Clinical outcomes of In Vitro fertilization among Chinese infertile couples treated for syphilis infection. **PLoS ONE**, v. 10, n. 7, p. 1–12, 2015.

WOODS, C. R. Syphilis in children: Congenital and acquired. **Seminars in Pediatric Infectious Diseases**, v. 16, n. 4, p. 245–257, 2005.

YAKASS, M. B. et al. Prevalence of blood borne viruses in IVF: An audit of a fertility centre. **Jornal Brasileiro de Reproducao Assistida**, v. 20, n. 3, p. 132–136, 2016.

YOSHIDA, M.; MIYOSHI, I.; HINUMA, Y. Isolation and characterization of retrovirus from cell lines of human adult T-cell leukemia and its implication in the disease. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 79, n. 6, p. 2031–2035, 1982.

ANEXO A – PARECER DO CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PREVALÊNCIA DE HEPATITES VIRAIS E DSTs EM MULHERES COM INDICAÇÃO DE FERTILIZAÇÃO IN VITRO EM UM GRANDE CENTRO DE CURITIBA - PR

Pesquisador: João Guilherme Grassi

Área Temática: Reprodução Humana (pesquisas que se ocupam com o funcionamento do aparelho reprodutor, procriação e fatores que afetam a saúde reprodutiva de humanos, sendo que nessas pesquisas serão considerados "participantes da pesquisa" todos os que forem afetados pelos procedimentos delas):

(Reprodução Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 1

CAAE: 57818816.7.0000.0096

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.674.663

Apresentação do Projeto:

Estudo descritivo transversal, não intervencionista, com revisão de cerca de 2.000 prontuários de pacientes com indicação de fertilização in vitro no em clínica especializada em reprodução assistida em Curitiba, com pesquisa de dados referentes ao perfil das mulheres com indicação de tratamento para infertilidade por fertilização in vitro. Os dados a serem recuperados dos prontuários serão: idade; fatores causadores de infertilidade; dosagens de FSH; prolactina; TSH; sorologias para sífilis, HIV, Hepatite B e C e naquelas doadoras de óvulos culturas cervicais para *Clamidia sp.*, *Neisseria gonorrhoeae.*, *Mycoplasma sp.* e bactérias aeróbias.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o perfil epidemiológico da prevalência de hepatites e DST entre mulheres com indicação de fertilização in vitro

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não existem riscos diretos, visto ser estudo descritivo transversal com revisão de prontuários. O risco mais pertinente é a divulgação acidental de nomes e dados de prontuários, porém todas as

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181

Bairro: Alto da Glória

CEP: 80.060-900

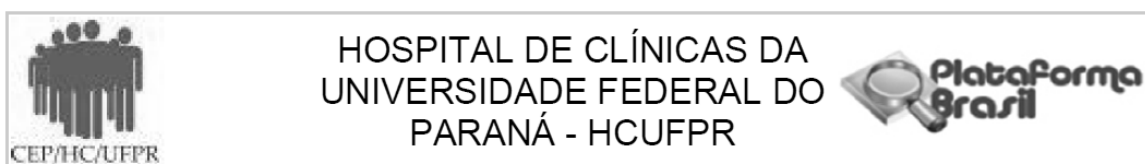
UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-1041

Fax: (41)3360-1041

E-mail: cep@hc.ufpr.br



Continuação do Parecer: 1.674.663

medidas necessárias para sua prevenção serão tomadas.

Como benefícios há o conhecimento da prevalência de hepatites virais e doenças sexualmente transmissíveis em população com indicação de terapia de reprodução assistida em Curitiba, dado até então desconhecido.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Relevância clínico-epidemiológica para a especialidade

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Embora seja um estudo retrospectivo, por se tratar de tema de uma dissertação de mestrado, sugiro que o autor tenha um termo de consentimento informado, pois mesmo que não haja no momento da coleta dos dados o contato entre o autor e a paciente, caso ocorra alguma solicitação do prontuário deve estar anexo um termo de consentimento informado, para o paciente tenha ciência que dados seus foram coletados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_756686.pdf	13/07/2016 15:19:05		Aceito
Outros	termoderesponsabilidadedjrjaimееjoao.pdf	13/07/2016 15:18:35	João Guilherme Grassi	Aceito
Outros	qualificacaodospesquisadores.docx	11/07/2016 22:28:22	João Guilherme Grassi	Aceito
Outros	termodecompromissoparautilizacaodadosdearquivos.JPG	11/07/2016 22:23:56	João Guilherme Grassi	Aceito
Outros	Termodecompromissodeutilizacaodosdados.pdf	11/07/2016 22:10:57	João Guilherme Grassi	Aceito
Outros	termodeconfidencialidade.pdf	11/07/2016 22:10:34	João Guilherme Grassi	Aceito
Outros	dispensadotermodeconsentimento.pdf	11/07/2016 22:09:17	João Guilherme Grassi	Aceito
Outros	declaracaodeusoesspecificosdosdados.pdf	11/07/2016 22:08:21	João Guilherme Grassi	Aceito
Outros	Declaracaodetornarpublicososresultados.pdf	11/07/2016 22:08:00	João Guilherme Grassi	Aceito
Outros	declaracaodeaceitedoorientador.pdf	11/07/2016 22:07:25	João Guilherme Grassi	Aceito

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181

Bairro: Alto da Glória

CEP: 80.060-900

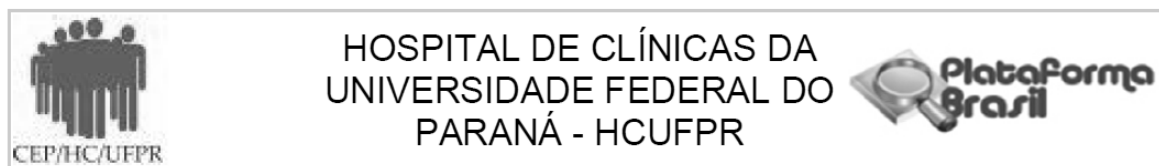
UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-1041

Fax: (41)3360-1041

E-mail: cep@hc.ufpr.br



Continuação do Parecer: 1.674.663

Outros	cartadeacordodoservicoparticipante.pdf	11/07/2016 22:05:59	João Guilherme Grassi	Aceito
Outros	Cartaaocoordenador.pdf	11/07/2016 22:05:26	João Guilherme Grassi	Aceito
Outros	Cartaaocomite.pdf	11/07/2016 22:05:01	João Guilherme Grassi	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.doc	11/07/2016 22:04:20	João Guilherme Grassi	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	11/07/2016 22:00:58	João Guilherme Grassi	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CURITIBA, 11 de Agosto de 2016

Assinado por:
maria cristina sartor
(Coordenador)

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181

Bairro: Alto da Glória

CEP: 80.060-900

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-1041

Fax: (41)3360-1041

E-mail: cep@hc.ufpr.br

ANEXO B – ARTIGO

Running title: Infectious diseases among 2445 IVF cycles

Title: Infectious diseases seroprevalence among 2445 IVF cycles

Authors: João Guilherme Grassi dos Anjos^a, Newton Sergio de Carvalho^b, Karam Abou Saab^c, Jaime Kulak Junior^d

^aPost-graduate student at Federal University of Paraná.

^bCoordinator of the post-graduation program in gynecology and obstetrics at the Federal University of Paraná

^cProfessor of human reproduction at the Federal University of Paraná

^dDeputy coordinator of the post-graduation program in gynecology and obstetrics at the Federal University of Paraná

Corresponding author: João Guilherme Grassi dos Anjos –
grassi.fertilidade@gmail.com

Present address: Rua Chichorro Júnior, 144 apto 22, Cabral, Curitiba, Brazil. CEP 80035-040

Capsule

Retrospective analysis of seroprevalences among 1008 patients submitted to in vitro fertilization in a fertility center in southern Brazil. All the seroprevalences studied were shown inferior to the national ones.

Structured Abstract

Objective: To evaluate the seroprevalence of positive markers for syphilis, HIV I and II, HTLV I and II, and Hepatitis B and C in women submitted to IVF.

Design: Retrospective analysis of cases in all patients submitted to in vitro fertilization.

Setting: an IVF clinic in Southern Brazil.

Patients: All women between submitted to IVF between January 2013 and February 2016 and with complete screening records.

Main outcome measure: positivity of laboratorial testing

Results: We analyzed cases of 1008 patients submitted to IVF from January 2013 to February 2016, totaling 2445 cycles. Two patients (0.2%) tested positive for HIV I and II and none for HTLV I and II. Three patients (0.3%) had positive screening for syphilis and two (0.2%) positive anti-HCV test. A positive HbsAg test was observed in 4 patients (0.4%), while 47 (4.7%) presented anti-HbC IgG positive and only 1 (0.1%) anti-HbC IgM positive. The anti-HbS test was negative in 659 patients (65.3%). Only 34.7% of the patients presented immunity against the Hepatitis B virus.

Conclusion: We found lower infection rates than the national ones for the diseases studied in patients submitted to IVF. Few patients were immunized against Hepatitis B.

Keywords:

Fertilization in Vitro; HIV; Syphilis; Hepatitis B; Hepatitis C; Human T-lymphotropic virus 1

Infectious diseases seroprevalence among 2445 IVF cycles in a Fertility Center of Southern Brazil

Introduction

The need for assisted reproductive techniques has increased over last years, primarily related to population aging, as well as prioritization of study, financial and marital stability (1). With the advance of the woman's age there is also a greater cumulative exposure to diseases that cause tube-peritoneal involvement, such as endometriosis, increasing the importance of assisted reproductive techniques for those women (2). As well as the rising need for assisted reproductive techniques, we've been witnessing an important rise in the prevalence of some infectious diseases, most importantly human immunodeficiency virus (HIV) and syphilis in Brazil (3,4).

Since 2011 the Brazilian National Agency of Sanitary Surveillance (ANVISA in Portuguese) regulates about obligatory laboratory routines in people undergoing assisted reproductive techniques, both for screening and prevention of cross contamination of couples, vertical transmission and prevention of staff contamination with samples. The directive (RDC number 23 of May, 27th of 2011) indicates that all couples undergoing intrauterine insemination or in vitro fertilization (IVF) must undergo laboratory testing for HIV I and II, syphilis, human t-cell lymphotropic virus (HTLV) I and II, and hepatitis B (anti-Hbs; HbsAg; anti-Hbc IgM and IgG) and hepatitis C (anti-HCV) (5).

Although the widespread testing in this specific population after this normative law is known about the prevalence of these diseases among IVF women. There are no specific studies in Brazil accounting for all these tests together in this population. The current investigation describes the prevalence of positivity of these tests among women undergoing IVF procedure in a specialized center of southern Brazil.

Material and Methods

Retrospective analysis of cases of patients submitted to in vitro fertilization in a specialized center for assisted reproduction in Curitiba between January 2013 and February 2016. The study was submitted and approved in the Ethics Committee on Research in Human Beings of Clinics Hospital of Federal University of Paraná State. As being a retrospective study, there was no need to apply a free and informed consent term and this procedure was according with ERB.

Were included all patients submitted to IVF between January 2013 and February 2016 and having complete screening routine in the records. All patients were submitted to the laboratory routine at the time of IVF indication. Some of them had to repeat the routine screening during the treatment, in these cases it was always considered the first routine for data acquisition.

The data recovered from the registers were age, number of IVF cycles performed, syphilis serologic testing, anti-HIV I and II testing, anti-HTLV testing, HbsAg, anti-Hbs, anti-Hbs IgM and IgG and anti-HCV testing. All laboratorial testing was made in standardized and certified labs.

Prevalence confidence intervals were constructed using the exact method proposed by Clopper-Pearson. To evaluate the association between age and number of positive serology for anti-HbSAg, Student's t-test for independent samples was used. The calculated power was 99%. The normality condition was evaluated by the Kolmogorov-Smirnov test. Values of $p < 0.05$ indicated statistical significance. The analysis was performed using the IBM SPSS Statistics v.20 software.

Results

Were enrolled in the investigation 1008 women who undergone IVF between January 2013 and February 2016. All patients undergone the laboratorial testing studied. The mean age (\pm SD) was 35,8 \pm 4,9 yr. The age distribution is presented in table 1. The total of IVF cycles was 2445.

Three patients (0.03%) had a positive syphilis screening test. Two patients (0.2%) had positive HIV screening. No one tested positive for HTLV. Positive anti-HCV serology was found in 2 patients (0.2%). A positive HbsAg test was observed in 4 patients (0.4%). Anti-HbC IgM was positive in 1 patient (0.1%), whereas the Anti-HbC IgG test was positive in 47 patients (4.7%). The positive serologies found were described in Table 2.

In order to estimate the possible seroprevalence of these markers in a larger population (all women submitted to IVF in Brazil), the confidence interval for the seroprevalence of the markers was calculated. The values were shown in table 3.

Among the anti-Hbs positive patients, 302 (31.7%) presented with anti-HbS positive and anti-HbC IgG negative, being this the proportion of immune patients to

hepatitis B through the effective vaccination. The remaining 39 were probably immunized by contact with the virus (positive anti-HbC IgG).

The confidence interval for the anti-HbS seroprevalence was calculated for the whole sample and for patients with Anti-HbS positive Associated with negative Anti-HbC IgG (probable vaccination) and positive (probable prior disease), respectively. The values are shown in table 4.

We tested the hypothesis that the mean of ages of immune patients are different of Immunity against hepatitis B. Patients with anti-HbS negative were older than those with anti-HbS positive (36.3 4.8 vs. 34.9 5.0, $p < 0.001$). Descriptive statistics of age according to anti-HbS are presented in the table 5.

Discussion

Until the present, there was no study in the national literature evaluating seroprevalence of HIV I and II, HTLV I and II, syphilis and hepatitis B and C in patients submitted to IVF. The unique study found only evaluated the prevalence for syphilis in couples submitted to assisted reproduction (6). The importance of the present study is reinforced by its important external validity, reiterated by the number of 1008 patients researched, a massive sample for a procedure performed in such a restricted population. The total of IVF cycles (2445), accounted to 39,6% of all IVF cases in Paraná State in the same period (7–9).

Age stratification followed normality pattern, but with a right deviation of the normality curve, this was also demonstrated by mean age of 35.8 (± 4.9) years and a median of 35.6 years, varying Between 19 years and 10 months and 56 years and 9 months. This is due to the characteristics of the female population studied, together with the increase in the involvement of factors causing infertility over time (10).

All the seroprevalences were found to be inferior to those national. The prevalence of HIV-infected patients (0.2% - 95% CI 0.02% - 0.71%) was also lower than the Brazilian estimate of 0.39% (estimated based on UNAIDS Brazil 2015). The confidence interval calculated in this study was 0.02% to 0.71%, and there could be no difference between this population and the Brazilian population (11).

The seroprevalence of HbsAg (0.4% - 95% CI 0.10% - 1.01%) had been lower than that of the Brazilian general population: between 20 and 69 years old, 0.6% overall and 0.55% In the South, but the 95% confidence interval calculated shows that the real seroprevalence in this population is between 0.10% and 1.01%, which can show no

difference between the study population and the general population between 20 and 69 years. The seroprevalence of anti-HbC IgG of 4.7% (95% CI 3.5% -6.2%) was significantly lower than that of the Brazilian population between 20 and 69 years (11.8%) and of the South of Brazil between 20 and 69 years (11.3%), showing less exposure to the virus in the study population. HCV seroprevalence (0.2% - 95% CI 0.02-0.72%) was lower than that of the Brazilian population between 20 and 69 years: 1.56% overall and 1.7% in the South (12).

Some factors could explain the reason of the seroprevalences found being lower than the Brazilian ones, the main one is the socioeconomic profile of the patients submitted to IVF. Unfortunately, the costs of this treatment are still high and quite limiting. Another factor, taking into account the risk factors for acquiring these diseases, is behavioral: the vast majority of them are married women with imminent reproductive plans, possibly leading to greater awareness of exposure to these factors of them and husbands. Another point is that in some cases those patients have been referred by another physician and in this cases, some infections were screened and treated before.

The seroprevalences found in our study were also lower than those found in two similar studies, one conducted in Ghana in Africa and another in London. In the African study, seroprevalence of HIV, Hepatitis B and C were evaluated. It showed prevalence of HIV infection of 1.7%, hepatitis B of 7.9%, and hepatitis C 0.4%. The prevalences described in the IVF population were similar to the general prevalences in Ghana. This study presents the particularity of having been carried out in an African country, with seropositivity rates for diseases such as HIV and hepatitis B, well above the world averages (13). In the London study was found prevalence of HIV of 0.13%, Hepatitis B of 1.7% and Hepatitis C of 0.5%. The data were also comparable to the general population of that country (14).

The seroprevalence of syphilis in patients submitted to assisted reproductive techniques was previously studied by Cavalcante et al. In Goiânia (Brazil), covering patients of high and low complexity in public hospital and private center. In this study, no one had syphilis diagnosis among 253 women who underwent VDRL examination in the public hospital. Of the 896 women surveyed at the private center, only one (0.11%) had a diagnosis for syphilis, with positive VDRL followed by positive FTA-ABS (6). Our data showed a significantly higher prevalence of positive exams for syphilis in our population (0.3% - CI 95% 0.06 - 0.87%), but we did not register any cases of

active disease, since the three patients described already had diagnosis and treatment. Our study found a syphilis diagnostic rate lower than the general Brazilian data for 2015, which showed a diagnostic rate of 42.7 cases / 100 thousand inhabitants (0.042%) (3).

Monich and colleagues studied the seroprevalence of HIV, syphilis, HTLV and Hepatitis B and C among blood donors in Curitiba between 2003 and 2012. Among 399.280 blood donations was a seroprevalence of HIV of 0,9%, syphilis of 0,5%, HTLV of 0,2%, hepatitis B of 0,3% and hepatitis C of 0,8% (15).

In a large epidemiological study carried out in six Brazilian capitals, the prevalence of sexually transmitted diseases was evaluated, in addition to other more specific groups, 3303 pregnant women. Among the 3303 pregnant women, 2.6% presented positive serologies for syphilis, 0.49% HIV and 0.86% HBV. In this study, the prevalence of HCV or HTLV was not evaluated. Comparatively, all seroprevalences were higher in this population of pregnant women than in women submitted to IVF (16).

When we evaluated the presence of hepatitis B immunization markers, we found a significant proportion of the patients (65.3%) not immune to the virus. If only were considered vaccinated patients (with Anti-HBs positive and Anti-Hbc IgG negative) the proportion immunization was 31.5% (95% CI: 28.7% - 34.7%). Even though 5 to 10% of the adults submitted to the three dose vaccination schedule do not present seroconversion, the rate of non-immune patients is high, considering that the vaccine is part of the national adult immunization schedule, from 19 to 49 Years (17). Data from the national viral hepatitis survey show that in the South of the country vaccination coverage for HBV is approximately 40.82% between 20 and 69 years. The same report shows a much higher vaccine coverage for patients aged 5 to 19 years, of 74.1%, which reflects the result of national vaccine policies (12).

The correlation between absence of immunization and the advancement of the patients' age, shown in table 5, also reflects the lack of a vaccine against Hepatitis B prior to 1982, when it was invented, in addition to the Hepatitis B immunization policy In Brazil, started in 1989, becoming part of the vaccine calendar in some states as of 1992 (18).

Conclusion

All the seroprevalences studied were shown inferior to the national ones. Although there are national hepatitis B vaccination programs, fewer patients have been

immunized than national averages. More attention should be directed to the guidance on vaccination of these patients. Despite the significant number of patients evaluated in this study, more epidemiological studies are needed to better guide public practices and regulations in order to optimize results and available resources, since we live in a country that still suffers from a shortage of financial resources.

References

1. Article not in English. SisEmbryo 10th Report of the National Embryo Production System. National Surveillance Agency - ANVISA. 2017;1–23.
2. Renner S, Shebl O, Binder H, Wurm P, Oppelt P. Endometriosis: a premenopausal disease? Age pattern in 42 , 079 patients with endometriosis. 2012;667–70.
3. Article not in English. Epidemiological Bulletin: Syphilis 2016. Ministry of Health Secr Health Surveillance Dep STD, AIDS and Viral Hepatitis.. 2016;47.
4. Article not in English. Epidemiological Bulletin: HIV / AIDS. Ministry of Health Secr Health Surveillance Dep STD, AIDS and Viral Hepatitis. 2016;
5. Article not in English. Resolution of the Collegiate Board of Directors Number 23, of May 27, 2011. National Health Surveillance Agency - ANVISA. Brazil: Official Federal Gazette of May 30, 2011; 2011;1–19.
6. Article not in English. Cavalcante GMC. Seroprevalence of syphilis in patients submitted to assisted fertilization. *Reprod and Clim. Brazilian Society of Human Reproduction*; 2014;29(1):3–7.
7. Article not in English. SisEmbryo - 7th Report of the National Embryo Production System. National Health Surveillance Agency - ANVISA. 2014;1–23.
8. Article not in English. SisEmbryo - 8th Report of the National Embryo Production System. National Surveillance Agency - ANVISA. 2015;1–27.
9. Article not in English. SisEmbryo - 9th Report of the National Embryo Production System. Nac Surveillance Agency - ANVISA. 2016;1–23.
10. ASRM. Diagnostic evaluation of the infertile female: A committee opinion. *Fertil Steril. Elsevier Inc.*; 2012;98(2):302–7.
11. UNAIDS. Available from: <http://unaid.org.br/estatisticas/>
12. Article not in English. A population-based prevalence study of hepatitis A, B and C virus infections in the capitals of Brazil. Ministry of Health Health Surveillance Dep STD, AIDS and Viral Hepatitis. 2010; 295.

13. Yakass MB, Woodward BJ, Otoo MA, Hiadzi EK. Prevalence of blood borne viruses in IVF: An audit of a fertility centre. *J Bras Reprod Assist.* 2016;20(3):132–6.
14. Hart R, Khalaf Y, Lawson R, Bickerstaff H, Taylor A, Braude P. Screening for HIV, hepatitis B and C infection in a population seeking assisted reproduction in an inner London hospital. *BJOG an Int J Obstet Gynaecol.* 2001;108(6):654–6.
15. Monich AG, Dantas TW, Fávero KB, Almeida PTR, Maluf EC, Capeletto CDM, et al. Transfusion and Apheresis Science Blood discard rate in a blood center in Curitiba – Brazil . Ten years of study. *Transfus Apher Sci.* Elsevier Ltd; 2017;56(2):130–4.
16. Article not in English. Prevalences and relative frequencies of Sexually Transmitted Diseases (STD) in selected populations of six Brazilian capitals, 2005. Ministry of Health Health Surveillance Dep STD, AIDS and Viral Hepatitis. 2008;1–224.
17. David MC, Ha SH, Paynter S, Lau C. A systematic review and meta-analysis of management options for adults who respond poorly to hepatitis B vaccination. *Vaccine.* Elsevier Ltd; 2015;33(48):6564–9.
18. Article not in English. Good MM. Evaluation of Hepatitis B Vaccine Coverage in the Under 20 Population in the Municipalities of the 3rd Regional Health Coordination. Diss - Federal University of Pelotas; Postgraduate Program in Epidemiology. 2009;

Tables:

Table 1: Age distribution among all women

Age (years)	N (%)
≤ 25	17 (1.7%)
26 to 30	144 (14.3%)
31 to 35	375 (37.2%)
36 to 40	290 (28.8%)
> 40	182 (18.1%)
Total	1008 (100%)

Table 2: Serologic prevalence among 1008 IVF women from a fertility clinic between 2013 to 2016

Serologic testing	Positive (%)
Syphilis	3 (0.3%)
HIV I and II	2 (0.2%)

HTLV I and II	0
Anti-HCV	2 (0.2%)
HbsAg	4 (0.4%)
Anti-HbC IgM	1 (0.1%)
Anti-HbC IgG	47 (4.7%)
Anti-HbS	344 (34.3%)

Table 3: Confidence interval of the seroprevalences

Serologic testing	Positive	95% IC*
Syphilis	3 (0.30%)	0.06% - 0.87%
HIV I and II	2 (0.20%)	0.02% - 0.71%
Anti-HCV	2 (0.20%)	0.02% - 0.72%
HbsAg	4 (0.40%)	0.10% - 1.01%
Anti-HbC IgM	1 (0.10%)	0.002% - 0.55%
Anti-HbC IgG	47 (4.7%)	3.5% - 6.2%

*Exact method (Clopper-Pearson)

Table 4: Confidence interval of the anti-Hbs seroprevalences

Serologic testing	Positive	95% IC*
Anti-HbS	344 (34.3%)	31.4% - 37.3%
Anti-HbS restricted to negative anti-HbC IgG	302 (31.7%)	28.7% - 34.7%
Anti-HbS restricted to positive anti-HbC IgG	39 (84.8%)	71.1% - 93.7%

*Exact method (Clopper-Pearson)

Table 5: Anti-Hbs positivity vs. age

	Age (years)					p Value*
	n	Mean	Minimum	Maximum	SD	
Negative	659	36,3	19,8	56,7	4,8	
Positive	344	34,9	21,3	52,6	5,0	<0,001

*T Student Test, $p < 0,05$; Power: 99%

ANEXO C – RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA NÚMERO 23

Título: Resolução RDC nº 23, 27 de maio de 2011

Ementa: Dispõe sobre o regulamento técnico para o funcionamento dos Bancos de Células e Tecidos Germinativos e dá outras providências.

Publicação: D.O.U. – Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 30 de maio de 2011

Órgão emissor: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Alcance do ato: Federal – Brasil

Área de atuação: Sangue, outros Tecidos, Células e Órgãos

Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 23, de 27 de maio de 2011

Dispõe sobre o regulamento técnico para o funcionamento dos Bancos de Células e Tecidos Germinativos e dá outras providências.

A **Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, no uso da atribuição que lhe confere o inciso IV do art. 11 do Regulamento aprovado pelo Decreto nº 3.029, de 16 de abril de 1999, e tendo em vista o disposto no inciso II e nos §§ 1º e 3º do art. 54 do Regimento Interno aprovado nos termos do Anexo I da Portaria nº 354 da ANVISA, de 11 de agosto de 2006, republicada no DOU de 21 de agosto de 2006, em reunião realizada em 26 de maio de 2011 adota a seguinte Resolução da Diretoria Colegiada e eu, Diretor-Presidente determino a sua publicação:

Art. 1º Fica aprovado o Regulamento Técnico que estabelece os requisitos mínimos para o funcionamento dos Bancos de Células e Tecidos Germinativos nos termos desta Resolução.

CAPÍTULO I DAS DISPOSIÇÕES INICIAIS

Seção I Objetivo

Art. 2º Este regulamento possui o objetivo de instituir critérios mínimos para o funcionamento dos Bancos de Células e Tecidos Germinativos (BCTG) visando a segurança e qualidade das células, tecidos germinativos e embriões utilizados.

Seção II Abrangência

Art. 3º Este regulamento se aplica a todos os estabelecimentos de natureza pública ou privada que realizem atividades com células, tecidos germinativos e embriões, para uso próprio ou doação.

Seção II Definições

Art. 4º Para efeito deste regulamento técnico são adotadas as seguintes definições:

I- amostra: material biológico (células ou tecidos germinativos) obtido a partir de cada coleta;

II- ambiente: espaço fisicamente determinado e especializado para o desenvolvimento de determinada(s) atividade(s), caracterizado por dimensões e instalações diferenciadas, podendo constituir-se de uma sala ou de uma área;

III- ante-câmara: área contígua à sala de processamento que garanta o acesso exclusivo de pessoas a esta.

IV-Banco de Células e Tecidos Germinativos - BCTG: serviço de saúde destinado a selecionar, coletar transportar, registrar, processar, armazenar, descartar e liberar células, tecidos germinativos e embriões, para uso próprio ou em doação, de natureza pública ou privada;

V- células germinativas: gameta masculino (espermatozóide) e gameta feminino (ovócito ou oócito);

VI- embrião: produto da fusão das células germinativas até 14 dias após a fertilização, in vivo ou in vitro, quando do início da formação da estrutura que dará origem ao sistema nervoso;

VII- fertilização in vitro convencional - FIV: técnica de reprodução humana assistida em que a fertilização do oócito pelo espermatozóide ocorre, de maneira espontânea, em laboratório;

VIII- FIV com injeção intracitoplasmática do espermatozóide - ICSI: técnica de reprodução humana assistida onde a fertilização é obtida por meio da injeção de um único espermatozóide, no citoplasma do oócito, utilizando-se da técnica de micromanipulação.

IX- gameta (ovócito ou oócito e espermatozóide): célula germinativa, que ao se unir a outra célula germinativa origina uma célula diplóide, que pode se desenvolver e resultar em um novo indivíduo;

X-garantia da qualidade: conjunto de atividades planejadas, sistematizadas e implementadas no sistema de qualidade, que venham a conferir um nível de confiança adequado aos produtos e serviços;

XI- micromanipulação: conjunto de técnicas de laboratório para a manipulação de espermatozoides, oócitos e pré-embriões com a utilização de microscópio óptico, micropipetas ou microagulhas e micromanipulador;

XII- processamento do sêmen: conjunto de técnicas laboratoriais com fins de preparo prévio a criopreservação ou para seleção e separação dos espermatozoides em técnicas de reprodução humana assistida;

XIII- reprodução humana assistida: inclui as técnicas utilizadas para obtenção de uma gravidez sem relação sexual;

XIV- sêmen: fluido composto por células germinativas, não-germinativas e secreções produzidas pela próstata, ducto deferente distal e vesículas seminais, adicionadas sequencialmente, e eliminado pela uretra durante a ejaculação;

XV- sala de coleta: unidade destinada ao desenvolvimento de atividades relacionadas à coleta de oócitos, coleta cirúrgica de espermatozóides e coleta de tecidos germinativos;

XVI- tecido germinativo: tecido de origem ovariana ou testicular, contendo células germinativas;

XVII- treinamento: ação presencial voltada ao desenvolvimento de habilidades predominantemente motoras e ao aprendizado de atividades operacionais, sem dispensar a parte cognitiva; e

XVIII- uso terapêutico: utilização de células ou tecidos germinativos de um doador, para propiciar a capacidade reprodutiva e/ou endócrina própria ou capacidade reprodutiva de terceiros.

CAPÍTULO II
DO FUNCIONAMENTO DE BANCO DE CÉLULAS E TECIDOS GERMINATIVOS
(BCTG)
Seção I
Disposições gerais

Art. 5º O BCTG deve apresentar licença de funcionamento, licença sanitária ou alvará sanitário atualizado, emitido pelo órgão de vigilância sanitária competente, observado o disposto no parágrafo único do artigo 10 da Lei n. 6.437, de 20 de agosto de 1977, e as disposições legais estaduais ou municipais complementares.

Parágrafo único. O serviço que incluir em suas instalações um BCTG pode solicitar a inclusão da descrição desta atividade na licença sanitária do respectivo serviço, cabendo ao órgão de vigilância sanitária competente a deliberação sobre esta solicitação.

Art. 6º O BCTG é o responsável por todos os procedimentos relacionados ao preparo das células, tecidos germinativos e embriões, incluindo a coleta, o transporte, o registro, o processamento, o armazenamento, o descarte e a liberação do material.

§1º As atividades de registro, processamento, descarte e a liberação do material são exclusivas do BCTG, sendo vedada sua terceirização.

§2º As atividades que não forem executadas diretamente pelo BCTG devem ser formalizadas por meio de contrato de terceirização com o prestador do serviço.

§3º O prestador de serviço contratado deve possuir instalações, equipamentos, conhecimento adequado, além de experiência e pessoal competente para desempenhar satisfatoriamente o serviço solicitado pelo contratante e atender aos requisitos técnicos e legais estabelecidos na legislação vigente.

§4º O contrato de terceirização deve definir as responsabilidades e atribuições específicas do contratante

E do contratado e permanecer à disposição para apresentação às autoridades sanitárias.

§5º A terceirização de atividade não exime o BCTG quanto ao cumprimento dos requisitos técnicos e legais estabelecidos na legislação vigente, respondendo solidariamente com o contratado perante as autoridades sanitárias quanto aos aspectos técnicos, operacionais e legais inerentes à atividade terceirizada.

Art. 7º Em caso de terceirização, o estabelecimento contratado pelo BCTG que passará a exercer as atividades deverá possuir a atividade executada em sua licença sanitária.

Parágrafo único. Para a atividade de armazenamento de células, tecidos germinativos e embriões, o contrato formalizado entre as partes deve prever o destino do material em caso de ausência de pagamento, conforme normas vigentes sobre o assunto.

Art. 8º Caso o BCTG encerre suas atividades, o responsável legal deverá responsabilizar-se pelo destino das células, tecidos germinativos e embriões criopreservados, bem como garantir que a documentação do casal/doador seja mantida por um período mínimo de 20 (vinte) anos.

Parágrafo único. O responsável legal pelo serviço deve convocar todos os pacientes com amostras/embriões criopreservados para assinar um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido específico, prevendo o destino do material criopreservado.

Seção II Atribuições

Art. 9º São atribuições do BCTG:

I- efetuar e garantir a qualidade do processo de seleção do paciente e/ou doador de células e tecidos germinativos;

II- obter Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme modelo padronizado pelo BCTG, de acordo com a legislação vigente;

III- orientar, viabilizar e proceder à coleta, quando necessário;

IV- avaliar, processar, armazenar e liberar as células ou tecidos recebidos ou coletados;

V- providenciar a realização dos exames laboratoriais para identificação de possíveis contra-indicações e condições especiais necessárias ao uso das amostras;

VI- fornecer todas as informações necessárias a respeito da amostra a ser utilizada, respeitando o sigilo, cabendo ao médico do paciente a responsabilidade pela sua utilização, quando couber, segundo legislação vigente;

VII- manter arquivo próprio com dados sobre coleta, processamento, armazenamento, avaliação, transporte e liberação do material;

VIII- enviar relatório anual com os dados quantitativos de produção do BCTG por meio do Sistema Nacional de Produção de Embriões (SisEmbrio) informando:

- a) o número de ciclos realizados com pelo menos um oócito captado;
- b) o número de oócitos produzidos;
- c) o número de oócitos inseminados;
- d) o número de oócitos com 2 pró-núcleos (2PN) formados;
- e) o número de embriões clivados;
- f) o número de embriões transferidos a fresco;
- g) o número de embriões transferidos após descongelamento;
- h) o número de embriões desprezados por ausência de clivagem em período superior a 48h (quarenta e oito horas).

Seção III Regimento Interno

Art.10 O BCTG deve possuir um regimento interno do qual conste:

I- finalidade;

II- organograma descrevendo a estrutura administrativa e técnico-científica, com definição do responsável legal e do responsável técnico;

III- relação nominal, acompanhada da correspondente assinatura de todo o pessoal administrativo e técnico-científico, indicando a qualificação, as funções e responsabilidades do responsável técnico e dos demais profissionais do serviço.

Parágrafo único. As funções de responsável legal e responsável técnico poderão ser exercidas pelo mesmo profissional.

Seção IV Manual Técnico Operacional

Art. 11. O BCTG deve possuir Manual Técnico Operacional, definindo com detalhes todos os procedimentos de seleção de doadores e pacientes, coleta, transporte, processamento, armazenamento, liberação, descarte, registros e outros que se fizerem necessários, sob a forma de instruções escritas.

§1º Este documento deve estar acessível, a qualquer momento, a todos os funcionários e permanecer disponível nas formas impressa ou eletrônica, nos respectivos setores do serviço.

§2º O cumprimento das disposições contidas no manual técnico operacional é obrigatório para todos os profissionais do BCTG.

§3º O Responsável Técnico deve assegurar que todos os procedimentos descritos no manual técnico operacional sejam compreendidos e implementados no BCTG.

§4º Caso o serviço utilize a forma eletrônica do manual, deve existir pelo menos uma cópia impressa no serviço.

Art. 12. O manual técnico operacional deve ainda:

I- definir as atribuições dos profissionais para cada procedimento;

II- conter as condutas frente às não-conformidades;

III- conter as normas de biossegurança, tais como:

a) condutas de segurança biológica, química, física, ocupacional e ambiental;

b) instruções de uso para os equipamentos de proteção individual – EPI e coletiva –EPC;

c) procedimentos em caso de acidentes; e

d) manuseio e transporte de amostra biológica.

Parágrafo único. O manual a que se refere o *caput* deste artigo deve ser revisado anualmente ou em prazo inferior, sempre que necessário, bem como permanecer atualizado e devidamente assinado e datado pelo Responsável Técnico.

Seção V Recursos Humanos

Art. 13 A responsabilidade técnica pelo BCTG deve ficar a cargo de profissional de nível superior com treinamento em reprodução humana assistida, legalmente habilitado e com registro no respectivo conselho de classe.

Art. 14 O BCTG deve contar, na área técnica, com recursos humanos com formação de nível superior, observada a regulamentação profissional respectiva, e treinamento comprovado para atuar na área de embriologia humana, processamento e controle da qualidade de procedimentos realizados em BCTG.

CAPÍTULO III DOS CRITÉRIOS TÉCNICOS E OPERACIONAIS PARA SELEÇÃO DE DOADORES E PACIENTES

Art. 15 A doação de células, tecidos germinativos e embriões deve respeitar os preceitos legais e éticos sobre o assunto, devendo garantir o sigilo, a gratuidade e a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido:

§1º Toda a informação relativa a doadores e receptores de células, tecidos germinativos e embriões deve ser coletada, tratada e custodiada no mais estrito sigilo.

§2º Não pode ser facilitada nem divulgada informação que permita a identificação do doador ou do receptor.

§3º Na doação anônima, o receptor não pode conhecer a identidade do doador, nem o doador a do receptor.

§4º As autoridades de vigilância sanitária podem ter acesso aos registros para fins de inspeção e investigação.

§5º Em casos especiais, por motivo médico ou jurídico, as informações sobre o doador ou receptor podem ser fornecidas exclusivamente para o médico que assiste o receptor, resguardando-se a identidade civil do doador.

§6º A doação não pode ser remunerada.

Art. 16 Os projetos de pesquisa envolvendo o uso de células, tecidos germinativos e embriões somente podem ser desenvolvidos após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição (CEP) e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Parágrafo único. Os projetos de pesquisa desenvolvidos só poderão ocorrer após o consentimento do doador, conforme legislação vigente.

Art. 17 O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deve ser obtido antes da coleta da amostra, por escrito, e assinado pelo médico e pelos pacientes ou doador.

Parágrafo único. Os procedimentos só poderão ser executados pelo BCTG após a assinatura do consentimento pelo doador e pacientes.

Art. 18 O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deve ser redigido em linguagem clara e compreensível e deve conter, quando couber:

I- autorização para realização dos procedimentos de reprodução humana assistida;

II- autorização para transferência de embriões;

III- autorização para criopreservação das amostras e embriões;

IV- autorização para doação de oócitos, para doação de sêmen e para doação de embriões com fins terapêuticos;

V- autorização para descartar as amostras que não atenderem aos critérios para armazenamento ou uso posterior pelo BCTG;

VI- autorização para a coleta de sangue para a realização dos testes obrigatórios pela legislação e outros descritos pelo BCTG;

VII- autorização da paciente receptora, no caso de recebimento de oócitos doados a fresco, contendo informações claras sobre o risco de contrair doenças infecciosas;

VIII- manifestação da vontade de doar ou não o material para projetos de pesquisa que tenham sido previamente aprovados por Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Parágrafo único. Na hipótese do inciso III deste artigo, os pacientes devem ser informados da redução da viabilidade das amostras e embriões descongelados, bem como da possibilidade de contaminação cruzada entre as unidades congeladas, com risco de contrair doenças infecciosas;

Art. 19 É candidato à doação de células e tecidos germinativos e embriões indivíduo que satisfaça pelo menos as seguintes condições:

I- maioridade civil;

II- concordar em realizar uma avaliação médico-laboratorial;

III- concordar em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;

IV- se doador de sêmen, concordar em realizar os testes para marcadores de doenças infecto-contagiosas, conforme artigos 21 e 22;

V- se doadora de oócito, concordar em realizar os testes para marcadores de doenças infecto-contagiosas, conforme artigos 21 e 22;

VI- se doador de embriões, concordar em realizar os testes para marcadores de doenças infecto-contagiosas, conforme artigos 21 e 22.

§1º Os testes a que se refere o inciso IV deste artigo devem ser repetidos num prazo nunca inferior a 6 (seis) meses, no caso de serem realizados por sorologia.

§2º Doadoras de oócito a fresco não são submetidas à quarentena nem à repetição dos testes em prazo de 6 (seis) meses, devendo os resultados dos testes laboratoriais ter prazo máximo de 30 (trinta) dias antes do procedimento da coleta oocitária.

§3º Caso haja doação de oócitos criopreservados, os testes para marcadores de doenças infecto-contagiosas, conforme art. 21, devem ser repetidos num prazo nunca inferior a 6 (seis) meses, no caso de serem realizados por sorologia.

§4º Caso haja doação de embriões criopreservados para uso terapêutico, estes testes devem ser repetidos num prazo nunca inferior a seis meses, no caso de serem realizados por sorologia.

§5º Caso sejam realizados testes de ácido nucléico (NAT), os prazos de que tratam os §§ 1º, 3º e 4º devem respeitar as instruções do fabricante quanto ao período mínimo necessário à detecção do agente.

Art. 20 Os doadores de sêmen, oócitos e embriões devem ser selecionados com base em sua idade e condição clínica.

§1º A aplicação do questionário de triagem dos doadores deve ser realizada por profissional de nível superior, treinado e qualificado.

§2º A entrevista do potencial doador deverá considerar condições físicas e mentais debilitantes, doenças graves, doenças genéticas e outras condições clínicas que contraindiquem a doação, conforme protocolos definidos pelo serviço.

§3º É critério de exclusão de doadores as seguintes condições a triagem laboratorial reagentes para as seguintes infecções transmissíveis:

I-sífilis;

II- HIV 1;

III- HIV 2;

IV- Hepatite B;

V- Hepatite C;

VI- HTLV I e II;

VII- *Chlamydia trachomatis*;

VIII- *Ureaplasma urealyticum*;

IX- *Mycoplasma hominis*;

X- *Neisseria gonorrhoeae* e

XI- bactérias aeróbias.

Art.21 Para a seleção de doadores e pacientes devem ser realizados testes laboratoriais para:

I-Sífilis;

II- Hepatite B (HBsAg e anti-HBc);

III- Hepatite C (anti-HCV);

IV- HIV 1 e HIV 2;

V- HTLV I e II.

Parágrafo único. Caso algum resultado sorológico seja reagente, o BCTG deve comunicar imediatamente ao doador, e encaminhá-lo a um serviço de assistência especializado, para que sejam tomadas as medidas cabíveis.

Art. 22 Devem ser realizados exames para a detecção de *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Neisseria gonorrhoeae* e bactérias aeróbias em doadores de sêmen, oócitos e tecidos ovariano e testicular.

Art. 23 Pacientes que realizam procedimentos com células e tecidos germinativos para uso próprio devem satisfazer as seguintes condições:

I- indicação clínica do procedimento;

II- assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelo paciente ou seus responsáveis legais;

III- realização da triagem laboratorial, como descrito no art. 21.

Art. 24 O paciente será informado dos resultados dos exames, e em caso de resultados positivos, decidirá pelo processamento e/ou criopreservação do material.

Art. 25 Caso os pacientes optem pela doação, após utilizadas amostras para uso próprio, os critérios de triagem clínica, laboratorial e microbiológica devem seguir o disposto nos arts. 19, 20, 21 e 22 deste regulamento.

Art. 26 Os testes de triagem sorológica e microbiológica podem ser feitos por laboratório próprio ou por laboratório terceirizado e que atenda às exigências legais para o seu funcionamento.

§1º Os testes de triagem laboratorial devem ser realizados por laboratórios qualificados pelo BCTG.

§2º Em caso de sêmen doado, as amostras sanguíneas para triagem laboratorial deverão ser obtidas no mesmo dia da coleta do sêmen do doador.

CAPÍTULO IV DA INFRA-ESTRUTURA E DAS CARACTERÍSTICAS DOS AMBIENTES E EQUIPAMENTOS DOS BCTG

Art. 27 O BCTG deve ser constituído por ambientes numa disposição que permita o fluxo independente dos materiais, amostras e profissionais, de acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada Anvisa nº 50, de 21 de fevereiro de 2002, que dispõe sobre o Regulamento Técnico destinado ao planejamento, programação, elaboração, avaliação e aprovação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde ou a que vier a substituí-la, bem como as exigências específicas contidas nesta resolução e demais legislações vigentes.

Art. 28 Quando o BCTG estiver instalado em um estabelecimento assistencial de saúde, ele poderá utilizar a infra-estrutura geral deste serviço, como sanitários, central de material esterilizado, depósito de material de limpeza, entre outros.

Art. 29 O BCTG deve possuir sistema de energia elétrica de emergência de acordo com a Resolução de Diretoria Colegiada ANVISA nº 50, de 2002, ou a que vier a substituí-la.

Parágrafo único. Para todos os ambientes devem ser utilizados sistemas de energia elétrica de emergência classificados como Classe > 15, Grupo 0, exceto a sala de processamento e o laboratório de fertilização in vitro, que devem ser classificados como Classe 15, Grupo 0.

Art. 30. A sala de coleta de oócitos e de tecidos ovariano e testicular deve apresentar:

I - sistema de climatização com pressão positiva em relação aos ambientes adjacentes;

II - manutenção de temperatura entre 23° C a 27° C;

III - umidade relativa 40% a 70%;

IV - vazão mínima de ar exterior de 6 (m³/h)/m²;

V - vazão mínima de ar total de 18 (m³/h)/m²; e

VI - filtragem mínima de insuflamento classe G4.

Parágrafo único. A sala a que se refere o “caput” deste artigo deve possuir ainda dimensões equipamentos, instrumental, materiais e fármacos que permitam a realização dos procedimentos de coleta com segurança, bem como o atendimento em casos de situações de agravo à saúde.

Art. 31 Caso haja uso de anestésicos durante o procedimento de coleta, a sala de coleta deve, ainda, estar equipada, no mínimo, com:

I- 1 (um) posto de utilização de oxigênio medicinal;

II- 1 (um) posto de utilização de ar medicinal, e

III- equipamentos, instrumental, materiais e fármacos que permitam a realização dos procedimentos de anestesia e coleta com segurança, bem como o atendimento em casos de situações de agravo à saúde.

§1º Os postos de utilização devem ser instalados conforme descrito na Resolução de Diretoria Colegiada ANVISA nº 50, de 2002, que estabelece Normas para Projetos Físicos de Estabelecimentos Assistenciais de Saúde, ou a que vier a substituí-la.

§2º O paciente anestesiado deve permanecer monitorizado até o momento de sua liberação.

§ 3º A coleta de oócitos pode ser realizada em centro cirúrgico ambulatorial.

Art. 32 A sala de coleta de sêmen deve garantir o conforto e a privacidade do paciente/doador e possuir um sanitário com acesso exclusivo.

Art. 33 A sala de apoio administrativo deve ser destinada a realizar serviços de documentação e informação em saúde.

Art. 34 O BCTG deve possuir vestiário de barreira no acesso às salas técnicas e à sala de coleta oocitária, dotado de lavatório e área de paramentação.

§ 1º As salas técnicas (sala de processamento e/ou laboratório de FIV) e a sala de coleta oocitária podem compartilhar o mesmo vestiário de barreira.

§ 2º Caso o BCTG possua sala de coleta oocitária, deve haver área com lavabo cirúrgico, localizada entre o vestiário de barreira e a sala de coleta.

Art. 35. Caso a sala de processamento de sêmen seja separada do laboratório de fertilização in vitro, deve possuir:

I - sistema de climatização com condições de controle da temperatura entre 21°C a 27°C;

II - umidade relativa do ar entre 40% a 70%; e

III - filtragem mínima no insuflamento com filtros G3.

Art. 36 Caso o armazenamento das células ou tecidos seja efetuado em tanques de nitrogênio líquido, ou haja um sistema de segurança com nitrogênio líquido para congelador com temperatura igual ou inferior a 135°C negativos, a sala de criopreservação/armazenamento deve possuir:

I - visualização externa do seu interior;

II- sistema exclusivo de exaustão mecânica, para diluição dos traços residuais de nitrogênio, que possibilite a exaustão forçada de todo o ar da sala de criopreservação e armazenamento, com descarga para o ambiente externo do prédio; e

III- sensor do nível de oxigênio ambiental com alarmes sonoro e visual.

§1º O sistema de exaustão mecânica deve manter uma vazão mínima de ar total de 75 (m³/h)/m².

§2º O ar de reposição deve ser proveniente dos ambientes vizinhos ou suprido por insuflação de ar exterior, com filtragem mínima com filtro classe G1.

§3º As grelhas de captação do sistema de exaustão mecânica devem ser instaladas próximas ao piso.

Art. 37 Caso o armazenamento seja efetuado em congelador acionado por energia elétrica ou que faça uso de nitrogênio, com temperatura igual ou inferior a 135°C negativos, a área de armazenamento deve contar com controle de temperatura ambiental.

Art. 38 O laboratório de fertilização in vitro deve possuir:

I-sistema de climatização que mantenha pressão positiva em relação aos ambientes adjacentes;

II-condições de controle da temperatura entre 23°C a 27°C;

III- umidade relativa do ar de 40% a 70%;

IV- vazão mínima de ar total de 45(m³/h)/m²;

V- vazão mínima de ar exterior de 15(m³/h)/m² e;

VI- filtragem mínima no insuflamento com filtros G3+carvão ativado+F8.

§ 1º O ambiente a que se refere o *caput* deste artigo não deve possuir qualquer instalação hidrossanitária, tais como pias, ralos ou lavatórios.

§ 2º O insuflamento de ar do sistema de climatização da sala a que se refere o *caput* deste artigo deve ser efetuado de forma a não interferir no fluxo do equipamento utilizado para a manipulação de amostras.

Art 39 A manipulação das amostras deve ser efetuada em uma área limpa classificada, no mínimo, como ISO Classe 5, segundo a Resolução de Diretoria Colegiada da ANVISA nº 50, de 2002, ou a que vier a substituí-la, e, para a obtenção dessas condições, o BCTG deve utilizar uma das seguintes opções:

I- cabine de segurança biológica Classe II Tipo A;

II- módulo de fluxo unidirecional ; ou

III- sala classificada, como ISO classe 5 no mínimo, segundo as orientações da Resolução de Diretoria Colegiada ANVISA nº 50, de 2002, ou a que vier a substituí-la.

Parágrafo único. No caso do inciso III deste artigo, o BCTG deve obrigatoriamente possuir uma antecâmara de acesso à sala de processamento.

Art. 40 O procedimento de transferência de embriões humanos pode ser realizado na sala de coleta oocitária, em centro cirúrgico ambulatorial ou em consultório ginecológico destinado para tal finalidade.

Parágrafo único. Caso a transferência de embriões seja realizada em pacientes sob anestesia, o procedimento deve ocorrer exclusivamente na sala de coleta oocitária ou em centro cirúrgico ambulatorial.

Art. 41 São requisitos mínimos adicionais dos ambientes e equipamentos do BCTG:

I- possuir os equipamentos e instrumentos específicos e em quantidade necessária ao atendimento de sua demanda;

II- manter instruções escritas e atualizadas, referentes ao uso dos equipamentos disponíveis aos funcionários do setor, as quais devem ser complementadas por manuais do fabricante em língua portuguesa;

III- manter e implementar um programa de manutenção preventiva e corretiva, onde conste um cronograma de intervenção;e

IV- manter os equipamentos de medição calibrados mantendo os respectivos registros;

Parágrafo único. Todas as intervenções realizadas nos equipamentos devem ser registradas sistematicamente, informando o dia, o responsável pela intervenção, a descrição da intervenção e em caso de substituição de peças, a lista das peças substituídas.

CAPÍTULO V
DA COLETA, PROCESSAMENTO, CRIOPRESERVAÇÃO, ARMAZENAMENTO,
LIBERAÇÃO E TRANSPORTE DAS CÉLULAS, TECIDOS GERMINATIVOS E
EMBRIÕES

Art. 42 Todos os procedimentos críticos realizados no BCTG, desde a coleta até a liberação das células, tecidos germinativos e embriões devem ser validados.

Parágrafo único. A validação deve ser realizada com base em estudos desenvolvidos pelo próprio serviço ou em informações publicadas de procedimentos já estabelecidos por estudos clínicos.

Art.43 Todos os materiais utilizados e que mantenham contato com as células ou tecidos germinativos, devem ser estéreis, apirogênicos, não citotóxicos e, quando couber, de uso único, devendo ser registrados a respectiva origem e o número de lote.

§ 1º Os materiais e reagentes que mantenham contato com as células, tecidos germinativos e embriões devem estar regularizados junto à Anvisa.

§2º Os materiais passíveis de processamento devem seguir o disposto em legislação específica vigente.

Art. 44 As células ou tecidos coletados e rotulados podem ser mantidos, temporariamente, até o processamento nas seguintes condições:

I – sêmen e espermatozóides: temperatura entre 25°C e 37°C, no máximo por até 2 (duas) horas ou em período superior validado pelo BCTG;

II- oócito e embriões: temperatura de 37°C ± 0,2°C, em prazo validado pelo BCTG;

III- tecido ovariano e tecido testicular: temperatura de 4°C ± 2°C, por um período de 24 horas ou período superior validado pelo BCTG.

Art. 45 Deve ser atribuída, a cada amostra coletada, uma identificação numérica ou alfanumérica.

§1º A identificação de que trata este artigo deve acompanhar toda a documentação do doador ou paciente, e o material, permitindo sua identificação e rastreabilidade, desde a coleta até a disponibilização das células, tecidos germinativos e/ou embrião.

§2º O material usado para a identificação das amostras deve ser impermeável e resistente a baixas temperaturas.

Art. 46 Todo o processamento das células e tecidos germinativos e embriões deve ocorrer exclusivamente em área classificada como ISO Classe 5 (Classe 100), conforme especificado no art. 39 e obedecer as práticas de manipulação asséptica.

Parágrafo único. A manipulação dos materiais, meios ou soluções de cultura/preservação de células, tecidos germinativos e embriões humanos também deve ser efetuada em área classificada como ISO Classe 5 (classe 100).

Art. 47 Não é permitido o processamento simultâneo de amostras de mais de um paciente/doador no mesmo ambiente.

Art.48 O BCTG deve registrar, em formulário padronizado, a execução do processamento de cada amostra, com as seguintes informações:

- I- identificação da amostra;
- II- data e hora do início do processamento;
- III- parâmetros qualitativos iniciais;
- IV- método de processamento;
- V- parâmetros qualitativos finais;
- VI- data e hora do término do processamento; e
- VII- identificação do executor do processamento.

Art. 49 A criopreservação das amostras deve ocorrer o mais precocemente possível, com descrição do procedimento em instruções escritas e validado pelo BCTG.

§1º O BCTG deve ter reservatórios ou containers específicos para o armazenamento de sêmen, tecidos germinativos, oócitos, quando couber, e embriões.

§2º O BCTG deve manter registros da avaliação da viabilidade de cada amostra descongelada para uso.

§3º As amostras criopreservadas devem ser depositadas em um local fixo e pré-determinado que permita a sua localização com facilidade, rapidez e segurança

§4º Caso o BCTG realize atividades com doadores deverá haver congeladores ou reservatórios específicos e exclusivos para amostras processadas e ainda não liberadas (em quarentena) e para amostras liberadas.

Art. 50 O BCTG deve desenvolver um sistema de gerenciamento de risco que previna contaminação cruzada das amostras não liberadas (em quarentena).

Parágrafo único. O BCTG deve possuir instruções escritas que contenham as medidas a serem adotadas com o container de quarentena caso alguma amostra seja positiva para os exames da triagem laboratorial exigidas nos artigos 21 e 22.

Art. 51 Deve ser mantido registro diário das condições dos equipamentos, refrigeradores ou congeladores, documentando a temperatura e o nível de CO₂ (para incubadora).

§1º A verificação e o registro da temperatura e do nível de CO₂, quando couber, devem ser realizados, a intervalos máximos de 12 h (doze horas) para os equipamentos que não disponham de registrador automático ou em prazos superiores, desde que devidamente validados pelo BCTG.

§2º Os registros devem ser assinados e periodicamente revisados por uma pessoa qualificada;

§3º Os alarmes devem ser testados, e deve haver um procedimento escrito, definindo a conduta a ser tomada em relação ao armazenamento das amostras, em caso de falta de energia ou de defeito nos equipamentos de estocagem;

§4º O BCTG deve dispor de um sistema de segurança, incluindo monitoramento da temperatura dos equipamentos de armazenamento, alarmes em casos de mau funcionamento, ou temperaturas excedendo os limites permitidos, e instruções de procedimentos corretivos de emergência, bem como plano de remoção do material em casos de sinistros.

Art. 52 O volume de nitrogênio líquido, nos reservatórios deve ser controlado e registrado duas vezes por semana ou em prazos superiores, desde que devidamente validados pelo BCTG.

Art. 53 O BCTG deve realizar controle microbiológico de ambientes e equipamentos (incubadora de CO₂) utilizados para o processamento das células, tecidos germinativos e embriões.

Parágrafo único. O controle microbiológico dos ambientes e da incubadora de CO₂ deverá ser realizado semestralmente ou a intervalos de tempo menores, de acordo com protocolos validados pelo BCTG.

Art. 54 A amostra somente poderá ser liberada se atendidas as seguintes condições:

I- observância dos critérios de triagem clínica, laboratorial e microbiológica;

II- compatibilidade com os parâmetros mínimos de viabilidade da amostra definidos pelo BCTG; e

III- a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do paciente ou doador.

Art. 55 O transporte das amostras deve ser validado e realizado de acordo com as especificações técnicas fornecidas pelo BCTG.

§ 1º O transporte das amostras não criopreservadas deve ser feito em recipiente térmico que mantenha a temperatura interior específica para cada tipo de amostra, segundo o art.44 desta Resolução.

§2º A amostra ou os embriões criopreservados devem ser acondicionados em reservatórios identificados e com o material refrigerante adequado para a preservação das características e funções biológicas da amostra ou do embrião.

§3º A irradiação do material é expressamente proibida.

§4º No lado externo do recipiente térmico, ou no caso de embalagem externa, deve constar o aviso “MATERIAL BIOLÓGICO HUMANO. NÃO SUBMETER À RADIAÇÃO (RAIOS X)”.

§5º As amostras ou os embriões transportados devem ser acompanhados de termo de transporte assinado pelo responsável pelo acondicionamento e embalagem, informando o tipo de amostra transportada, data e hora do acondicionamento, serviço de origem e destino e recomendações complementares.

§6º Todos os registros referentes ao transporte devem ser mantidos durante todo o período de armazenamento do material e por um período mínimo de 5 anos após a sua utilização terapêutica.

CAPÍTULO VI
DA COLETA, PROCESSAMENTO, CRIOPRESERVAÇÃO,
ARMAZENAMENTO, LIBERAÇÃO E TRANSPORTE DAS CÉLULAS E TECIDOS
GERMINATIVOS COM RESULTADO REAGENTE PARA DOENÇAS INFECCIOSAS.

Art. 56 Caso o BCTG trabalhe com amostras provenientes de pacientes com resultado positivo detectado na triagem laboratorial descrita nos artigos 21 e 22, as salas/ambientes de coleta, processamento e criopreservação das amostras e/ou dos embriões poderão ser os mesmos, desde que se cumpram normas de biossegurança adequadas à manipulação de amostras contaminadas.

Parágrafo único. O BCTG deve possuir instruções escritas específicas para a realização de atividades com amostras com resultado reagente para doenças infecciosas, bem como para os processos de limpeza e desinfecção dos materiais, equipamentos e ambientes.

Art 57. Amostras para uso próprio, com resultados reagentes para infecções transmissíveis, devem ser armazenadas em reservatórios de nitrogênio líquido exclusivo para amostras contaminadas.

§1º Devem existir reservatórios exclusivos para cada tipo de resultado reagente, considerando inclusive os resultados reagentes com coinfeções.

§2º Se as amostras criopreservadas com resultado reagente para infecções transmissíveis forem acondicionadas no mesmo reservatório das amostras com resultados não reagentes/negativos, deve ser utilizado um sistema de embalagem externa ou equipamento que garanta a proteção das demais amostras.

CAPÍTULO VII
DOS REGISTROS E ARQUIVOS

Art. 58 O BCTG deve manter disponível, por todo o período de armazenamento das amostras, e por um período mínimo de 20 (vinte) anos após a sua utilização terapêutica, arquivos de documentos e registros relativos a:

I- dados dos pacientes e do doador com identificação numérica ou alfanumérica da amostra coletada;

II- dados com a característica do doador;

III- dados da triagem clínica;

IV- dados da coleta das células ou tecidos germinativos;

V- dados de acondicionamento e transporte;

VI- processamento, criopreservação e armazenamento;

VII- resultados das triagens sorológica e microbiológica e de viabilidade;

VIII- data e motivo do descarte das amostras, quando couber;

IX- Termos de Consentimento Livre e Esclarecido;

X- relatório médico da realização ou não do procedimento de reprodução humana assistida, com identificação da receptora; e

XI- resultado da gestação.

Art. 59 Os arquivos de registros podem ser mantidos em meio eletrônico, microfilmagem ou em livros de registro manual.

Parágrafo único. No caso de uso de informática ou microfilmagem, os dados devem ser armazenados em duas cópias e o BCTG deve comprovar que o sistema não permite fraudes ou alterações de dados.

CAPÍTULO VIII DA GARANTIA DA QUALIDADE

Art.60 O BCTG deve manter um sistema de gestão da qualidade, o qual deve estar documentado, ser de conhecimento do pessoal administrativo e técnico-científico e incluir:

I - a equipe técnica e os recursos necessários para o desempenho de suas atribuições;

II - a proteção das informações confidenciais;

III - a supervisão do pessoal técnico por profissional de nível superior legalmente habilitado durante todo o período de funcionamento do serviço;

IV- treinamento periódico de pessoal;

V - os equipamentos, instrumentos e materiais, reagentes e produtos para diagnóstico de uso in vitro utilizados, bem como sua qualificação e verificação antes de entrar em uso;

VI - a utilização de técnicas conforme recomendações do fabricante dos equipamentos e produtos ou conforme validação realizada pelo serviço;

VII – a realização de procedimentos, com base em protocolos definidos, e validados quando couber;

VIII- procedimentos para detecção, registro, correção e prevenção de erros e não conformidades;

IX- a rastreabilidade de todos os seus processos e;

X- auditorias internas periódicas, para verificar conformidade com as normas técnicas.

Parágrafo único. Os resultados dos procedimentos descritos no inciso VIII deste artigo devem ser analisados e, quando estiverem fora dos critérios predefinidos, devem ser realizadas ações para corrigir o problema e evitar resultados incorretos, mantendo-se os registros das não-conformidades e das medidas adotadas.

CAPÍTULO IX DO DESCARTE DE RESÍDUOS

Art.61 O descarte de amostras de células ou tecidos germinativos e de resíduos de laboratório do BCTG deve estar descrito no Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde (PGRSS), e deverá ser feito de acordo com as normas vigentes.

CAPÍTULO X DAS DISPOSIÇÕES FINAIS

Art. 62 Os estabelecimentos abrangidos por esta Resolução terão o prazo de 120 (cento e vinte) dias contados a partir da data de sua publicação para promover as novas adequações necessárias ao Regulamento Técnico por ela aprovado.

Parágrafo único. A partir da publicação desta Resolução, os novos estabelecimentos e aqueles que pretendam reiniciar suas atividades, devem atender na íntegra as exigências nela contidas, previamente ao seu funcionamento.

Art.63 O descumprimento das disposições contidas nesta Resolução constitui infração sanitária, nos termos da Lei nº 6.437 de 20 de agosto de 1977, sem prejuízo das responsabilidades civil, administrativa e penal cabíveis.

Art. 64 Fica revogada a Resolução da Diretoria Colegiada da Anvisa- RDC nº 33, de 17 de fevereiro de 2006.

Art. 65 Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação, produzindo efeitos, em relação ao art. 64, em 120 (cento e vinte) dias contados da data da sua publicação.

DIRCEU BRÁS APARECIDO BARBANO