

## ESTUDOS RELACIONADOS AS METODOLOGIAS UTILIZADAS NA DETECÇÃO DO VÍRUS DA HEPATITE C (HCV) EM BANCO DE SANGUE

Nilmara Suellen Lopes Castro<sup>1</sup>; Fabiola de Oliveira Estrada<sup>1</sup>; Renata Bezerra Hermes<sup>2</sup>;  
Carlos Eduardo de Melo Amaral<sup>2</sup>; Andreza Lopes Maia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduação, <sup>2</sup>Doutorado, <sup>3</sup>Mestrado  
Faculdade Metropolitana da Amazônia (FAMAZ)  
andreza\_maia@ymail.com

**Introdução:** A transfusão do sangue e de seus hemoderivados não eram testados para o vírus da hepatite C (HCV), logo a regulamentação de uma triagem clínica e laboratorial no processo de doação contribuiu significativamente para a redução da transmissão deste vírus durante a transfusão sanguínea (2). Assim é de fundamental importância a realização de exames laboratoriais para a detecção deste vírus em bolsas de sangue. Atualmente, a detecção dos anticorpos anti-HCV podem ser realizadas por meio de métodos sorológicos, como: ELISA e Quimioluminescência, e métodos moleculares que possibilitam a identificação dos ácidos nucleicos (1,2). Diante disso é de suma importância relacionar as metodologias empregadas para verificar a ocorrência de resultados falso-positivos e falso-negativos. **Objetivos:** Relacionar e analisar as metodologias utilizadas na detecção do HCV em doadores de sangue da Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Estado do Pará (HEMOPA). **Métodos:** A pesquisa foi realizada na Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Estado do Pará (HEMOPA) utilizando dados disponibilizados no Sistema de Banco de Sangue (SBS). Trata-se de uma pesquisa retrospectiva, quali-quantitativa, onde o grupo amostral foi composto por amostras de doadores de sangue que realizaram testes sorológicos, ELISA e/ou quimioluminescência e tiveram resultados reagentes, realizando posteriormente testes moleculares, PCR in house e/ou Teste de Ácido Nucleico-NAT, no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014. Para os testes sorológicos foi realizado o cálculo de um índice para determinar a resposta humoral, onde a partir do resultado dos testes sorológicos, realizou-se a relação leitura da amostra/valor do “cut off” (S/CO), sendo considerado reagente amostras com  $S/CO \geq 1,2$ . Utilizou-se estatística descritiva, determinando as frequências absolutas e percentuais das variáveis quantitativas (S/CO) e qualitativas (detectáveis e indetectáveis). **Resultados e Discussão:** No período de 2013 a 2014 foram analisadas 127 amostras ELISA reagentes e 101 amostras Quimioluminescência reagentes. Em um total de 127 amostras ELISA reagentes, 76 foram submetidas à metodologia de PCR in house e 126 ao NAT. A PCR in house detectou o HCV em 25 amostras (32%), logo 51 amostras foram indetectáveis (68%). Na metodologia NAT, 28 amostras foram detectáveis (28%) e 98 indetectáveis (78%). Observou-se uma grande quantidade de falso positivo no ELISA, todavia um resultado reagente no teste ELISA anti-HCV nem sempre significa a presença de anticorpos anti-HCV, pois pode representar resultado falso positivo em decorrência de alguns interferentes como gamaglobulinas elevadas, síndrome nefrótica, doenças do fígado, doenças autoimunes, infecções virais ou parasitárias e amostras de mulheres grávidas, assim como também podem corresponder a um contato prévio com resolução da hepatite aguda, correspondendo a uma cicatriz imunológica (clearance viral)(1,2). Das 101 amostras reagentes na Quimioluminescência, 38 foram submetidas à metodologia de PCR in house, sendo que 5 foram detectáveis para o HCV (13%) e 33 não detectaram o vírus (87%). Em relação à metodologia NAT, das 101 amostras reagentes na Quimioluminescência, todas foram submetidas à metodologia NAT sendo 6 detectáveis (6%) e 95 indetectáveis (94%). Resultados falso-positivos também podem ser encontrados no teste de triagem sorológica realizados por Quimioluminescência, tendo

como possível causa, a existência de indivíduos portadores do vírus que apresentam um alto título de anticorpos circulantes, facilmente detectáveis nos testes sorológicos e baixa carga viral não detectável no teste NAT, porém existem limitadas situações. O mais importante para os testes de triagem realizados em banco de sangue é a sensibilidade, a qual deve ser 100% para assim, poder garantir a exclusão de qualquer possibilidade de transmissão de doenças infecciosas via transfusão sanguínea(3). Esta grande quantidade de falso-positivos pode resultar em descarte desnecessário de bolsas de sangue não contaminadas, bem como consequências psicológicas para esses doadores. Diante disto, no presente estudo, foi realizada a estratificação do S/CO para verificar o intervalo onde se observa a presença do vírus pelas metodologias moleculares. Na estratificação do S/CO para a metodologia ELISA relacionada com as metodologias moleculares, constatou-se que a detecção do RNA do HCV reagente no ELISA, somente foi observada a partir dos valores de S/CO acima de 4,01. Logo as amostras ELISA reagente com S/CO abaixo de 4,0 são amostras indetectáveis para o HCV, em 100% dos casos. Assim observou-se que das 26 amostras encontradas nos intervalos de 4,01– 5,00, 6 amostras (20%) tiveram resultados indetectáveis para PCR in house e das 33 realizadas no NAT neste mesmo intervalo, 11 foram indetectáveis(34%). Outros trabalhos afirmam que é possível observar conjuntamente o aumento do cut-off e a quantidade de resultados verdadeiros positivos, sugerindo que o percentual de positividade é significativamente maior em resultados de S/CO a partir de 4,0 e 5,0(4). Em relação à estratificação do S/CO na Quimioluminescência, foi observado que o RNA do HCV foi detectado a partir de S/CO 10,01, tendo a maior ocorrência de resultados indetectáveis, sugestivos ou não de resultados falsos positivos nos intervalos abaixo de S/CO 10,00. Estudos demonstram que amostras inferiores a S/CO 5,00 tinham resultado de RNA-HCV negativos, o que também foi observado no presente estudo. No intervalo de S/CO 5,00 à 18,00 ele apresenta 20% de positividade e somente a partir de S/CO 18,00 pôde se prever a presença do RNA-HCV. Todavia no presente estudo não obtivemos amostras com valores de S/CO acima de 18,00, mas no intervalo de S/CO 5,01 a 15,00 foi observado 50% de detecção do RNA viral, onde todas as amostras que foram confirmadas com a presença do RNA encontravam-se no intervalo de S/CO 10,01 à 15,00. Logo, sugerimos que sejam realizados estudos posteriores ampliando o número amostral para que estes valores de S/CO possam ser considerados como corte entre resultados falso-positivos e verdadeiramente positivos (5). **Conclusão:** Para um diagnóstico mais convicto e exato, deve ser utilizado testes com diferentes metodologias para que haja identificação cada vez mais cedo da infecção, aumentando assim sua eficácia na detecção. Para o melhor diagnóstico do HCV, faz-se necessário à realização de testes moleculares nos hemocentros, pois estes atuam como testes que detectam o RNA viral do HCV, mostrando a real presença do vírus, auxiliando na diminuição da janela imunológica. Por se tratar de metodologia de alto custo para ser empregada na triagem de hemocentros, faz-se necessário uma melhor apreciação da classificação de resultados reagentes nos testes sorológicos para que haja uma diminuição dos resultados falso-positivos.

#### Referências:

1. Pereira FM, Zarife MAS, Bertollo LA. Comparação de dois testes automatizados por quimioluminescência para a detecção de anticorpos contra o vírus da hepatite C. Rev Pan-Amaz Saude, Bahia, v, 1, n, 4, p. 17-21, 2010.
2. Garcia FB, et al. Importância dos testes sorológicos de triagem e confirmatórios na detecção de doadores de sangue infectados pelo vírus da hepatite C. Rev. Brás. Hematol. Hemoter., Uberada-MG, v, 30, n, 3, p. 218-222, 2008.

3. Fereja TH, Hymete A, Gunasekaran T. A Recent Review on Chemiluminescence Reaction, Principle and Application on Pharmaceutical Analysis, p. 1-12, sept. 2013.
4. Siqueira THR. Comparação de resultados sorológicos e moleculares para o diagnóstico da Hepatite C em pacientes atendidos no hospital das clínicas da faculdade de medicina de Ribeirão Preto- São Paulo. Monografia, Ribeirão Preto, 2015.
5. Leitemperguer MR, Beck ST. Prevalência sorológica e intensidade da resposta humoral ao Vírus da Hepatite C entre os indivíduos atendidos em um hospital público, v, 35, n, 2, p. 3, 2014.