



XIII Salão de  
Iniciação Científica  
PUCRS

## DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE IMUNODIAGNÓSTICO ENZIMÁTICO PARA A DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-HCV

Gian Carla M. Weirich<sup>1,2</sup>, Priscila Aparecida Dal Pozo Gomes<sup>3</sup>, Daniele de Aguiar Soares<sup>2,3</sup>, Thaís Diniz Lopes<sup>1,2</sup>, Fabio Eduardo Galle<sup>1,2</sup>, Ana Paula Duarte de Souza<sup>1,2</sup>, Fernando T. Kreutz<sup>1,2,3</sup>, Ana Lígia Bender<sup>1,2</sup>, Virgínia Minghelli Schmitt<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Farmácia, PUCRS, <sup>2</sup>Laboratório de Pesquisa em Imunodiagnóstico, <sup>3</sup>FK Biotecnologia

### Resumo

A hepatite C é considerada um dos maiores problemas de saúde pública no mundo, com estimativa de aproximadamente 3% da população mundial infectada (WHO, 2012). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o Brasil é considerado um país de endemicidade intermediária para hepatite C, com prevalência da infecção situada entre 2,5% e 10% (PALTANIN, L. F.; REICHE, E. M.2002).

Dentre os principais fatores de transmissão do HCV estão a via parenteral, transfusão de sangue, transplantes de órgãos, terapias injetáveis com equipamentos contaminados, hemodiálise, exposição ocupacional ao sangue e, em menor proporção, transmissão perinatal e sexual (WHO, 2012).

O diagnóstico laboratorial da doença visa a detectar anticorpos ou a combinação de antígenos e anticorpos do HCV, realiza-se através de testes sorológicos em que o anti-HCV é o principal marcador (SCHEUER, P. J. 1991). Testes para detecção de anticorpos contra o HCV são obrigatórios na triagem sorológica dos bancos de sangue brasileiros, sendo ELISA o ensaio mais utilizado.

O Laboratório de Pesquisa em Imunodiagnóstico (LID), com o propósito de desenvolver sistemas de diagnóstico nacionais para uso em bancos de sangue e laboratórios clínicos, tem desenvolvido testes para detecção de infecção por HIV, HBV e HCV. O presente trabalho tem por objetivo apresentar o desenvolvimento do teste imunoenzimático para pesquisa de anticorpos contra HCV baseado na técnica de ELISA.

Na padronização do teste, após a realização de curvas de concentração e de tempo de incubação, as condições estabelecidas foram: concentração de antígeno de 2,5 mg/mL;

diluição da amostra de 1:20; diluição do anticorpo secundário 1:1000; 30 minutos como tempo de incubação da amostra e do anticorpo secundário. Todas as amostras utilizadas nos ensaios foram obtidas do biorrepositório do LID (protocolo de aprovação CEP-PUCRS 10/05215).

A validação do imunoteste foi realizada com 250 amostras negativas e 209 positivas. A sensibilidade do teste foi de 99,5% e especificidade de 98,4%. Está sendo realizado o teste com painéis de soroconversão adquiridos comercialmente para determinar a sensibilidade clínica do imunoteste. Possíveis interferentes foram avaliados com 100 amostras reagentes para anti-HIV, 100 para anti-HBs, 100 para anti-HBc e 63 para HBsAg. Nenhuma interferência foi observada nos resultados. Foram realizados testes de estabilidade acelerada da placa sensibilizada, mostrando uma estabilidade equivalente a 2 anos.

O teste para pesquisa de anticorpos contra o HCV desenvolvido no LID mostrou sensibilidade, especificidade e estabilidade equivalentes aos dos testes atualmente utilizados na rotina dos laboratórios, com a vantagem de utilizar tecnologia nacional.