

## Imunoblot como teste suplementar para detecção de anticorpos contra o vírus da hepatite C em doadores de sangue

Immunoblot as a supplemental test to detect antibodies to hepatitis C virus in blood donors

Francisco José Dutra Souto<sup>1</sup>, Luciano Côrrea Ribeiro<sup>1</sup>, Gustavo Faria Perazolo<sup>1</sup>,  
Hildenete Monteiro Fortes<sup>1,2</sup> and Alzira Almeida Saldanha<sup>2</sup>

**Resumo** Testes suplementares para melhorar a especificidade do anti-VHC por ELISA nos bancos de sangue não são oficialmente recomendados no Brasil. No intuito de avaliar a taxa de falso-positivos, 70 doadores com transaminases normais e anti-VHC por ELISA foram submetidos a imunoblot de 3ª geração no Hemocentro de Mato Grosso, que não dispõe da técnica da reação de cadeia de polimerase. O teste confirmou o anti-VHC em 44 (62,9%), sendo negativo em 22 (31,4%) e indeterminado em 4 (5,7%). Confirmação pelo imunoblot ajuda a identificar os testes ELISA que são falso-positivos, tranquilizando o grande contingente de doadores nessa situação e separando os que necessitam de acompanhamento médico. Com esse objetivo, sugere-se que o imunoblot poderia ser útil nos bancos de sangue brasileiros que não contam com técnicas de Biologia Molecular.

**Palavras-chaves:** Hepatite C. Anti-VHC. Imunoblot. Falso-positivo.

**Abstract** Supplemental tests using Immunoblot are recommended to improve specificity of anti-HCV by ELISA. In Brazil immunoblot is not officially recommended. Aiming to identify EIA false-positive rate 70 positive EIA anti-HCV blood donors were submitted to 3<sup>rd</sup> generation immunoblot at Hemocentro of Mato Grosso State where polymerase chain reaction tests are not performed. There were 44 (62.9%) immunoblot-positive, 22 (31.4%) negative and 4 (5.7%) indeterminate. Anti-HCV immunoblot can distinguish blood donors with false-positive ELISA from those who need medical assessment. Our data suggest that immunoblot could be useful in Brazilian blood banks where molecular biology tests are not available.

**Key-words:** Hepatitis C. Anti-HCV. Recombinant immunoblot False-positive.

Anticorpos contra o vírus da hepatite C (anti-VHC) são pesquisados em todos os candidatos a doação de sangue através de teste imuno-enzimático (ELISA). Este teste tem alta sensibilidade, detectando praticamente todos os portadores do vírus, além de indivíduos que foram infectados e não desenvolveram a infecção espontaneamente, tendo apenas anticorpos<sup>6</sup>. No entanto, em populações de baixo risco, como doadores de sangue e população geral, o teste tem baixo valor preditivo positivo, gerando exames falso-positivos em pessoas que nunca foram expostas ao vírus da hepatite C (VHC)<sup>2</sup>.

Indivíduos com anti-VHC positivo e aminotransferases normais apresentam maior possibilidade de terem testes ELISA falso-positivos<sup>2</sup>. Neste caso, são recomendados testes suplementares para aumentar a especificidade do ELISA<sup>13</sup>. O mais utilizado é o imunoblot (RIBA) de 2ª ou

3ª geração, que detecta reação do soro do indivíduo contra proteínas de até 4 regiões diferentes do genoma do VHC<sup>7</sup>. Quando não há reação a qualquer desses antígenos o teste é considerado negativo. Quando há reação a apenas uma proteína, indeterminado. No caso de reação a duas bandas do RIBA ou mais, a positividade do ELISA anti-VHC é confirmada. Este teste não serve para detectar viremia, uma vez que indivíduos com infecção resolvida continuam a produzir anticorpos anti-VHC por tempo indeterminado. Sendo assim, a única utilidade desse teste concentra-se na diferenciação de indivíduos com testes falso-positivos daqueles que necessitarão de investigação clínica<sup>4</sup>. Nos Estados Unidos, com o uso do RIBA, estima-se que 40% dos doadores com anti-VHC positivo por ELISA têm exames falso-positivos<sup>2</sup>.

1. Núcleo de Estudos de Doenças Infecciosas e Tropicais de Mato Grosso da Universidade Federal de Mato Grosso; 2. Hemocentro Coordenador de Mato Grosso, Cuiabá; MT.

Endereço para correspondência: Dr. Francisco José Dutra Souto. Hospital Júlio Muller. Rua L, s/n, Jardim Alvorada, 78048-790 Cuiabá, MT, Brasil.

Telefax: 55-65-6157302,

e-mail: fsouto@terra.com.br

Recebido para publicação em 10/10/2000.

No Brasil, o Ministério da Saúde não indica aos bancos de sangue que realizem qualquer investigação de doadores com anti-VHC por ELISA, recomendando que sejam encaminhados para atendimento médico<sup>5</sup>. Alguns bancos de sangue públicos das regiões mais desenvolvidas do país contam com técnicas sofisticadas de biologia molecular para detecção do material genômico do VHC. Esta não é a realidade da maioria dos bancos de sangue públicos e privados do país, como por exemplo, o Hemocentro do Estado de Mato Grosso. Nesta instituição, a solução encontrada para tentar distinguir os exames falso-positivos, orientando o doador com anti-VHC positivo por ELISA, foi a introdução do RIBA ocorrida em 1997.

Com o intuito de averiguar a taxa de anti-VHC falso-positivo por ELISA em nosso meio, realizamos levantamento de todos os resultados de RIBA entre doadores com dois ELISA anti-VHC positivos, no período de janeiro de 1998 a maio de 2000 no Hemocentro de Mato Grosso.

No período do estudo ocorreram cerca de 11.000 doações. A prevalência de anti-VHC ELISA positivos

variou mensalmente entre 0,5% a 1%. A maioria desses doadores foi submetida a nova avaliação laboratorial. No total, 70 doadores com anti-VHC tiveram o ELISA positivo nesta segunda amostra. As aminotransferases foram normais na grande maioria desses indivíduos. Esta mesma amostra era então submetida a teste suplementar, para o que se utilizou RIBA comercial de 3ª geração, contendo antígenos recombinantes representativos das regiões central, NS3, NS4 e NS5 do genoma viral. Dos 70 doadores, 44 (62,9%) confirmaram positividade do anti-VHC pelo RIBA, quatro (5,7%) tiveram testes indeterminados e 22 (31,4%) foram negativos.

Analizou-se a diferença média entre a densidade óptica e o cut off das leituras de ELISA dos grupos RIBA positivo e RIBA negativo. Os valores encontrados foram significativamente mais elevados entre os positivos (2.376 vs. 1.235; t de Student = 4,8; p<0,001). No entanto, houve grande dispersão dos resultados, impedindo a valorização isolada da leitura do ELISA (Figura 1).

A utilização do RIBA permitiu que 31,4% dos doadores anti-VHC ELISA positivos fossem tranquilizados e orientados sem necessidade de

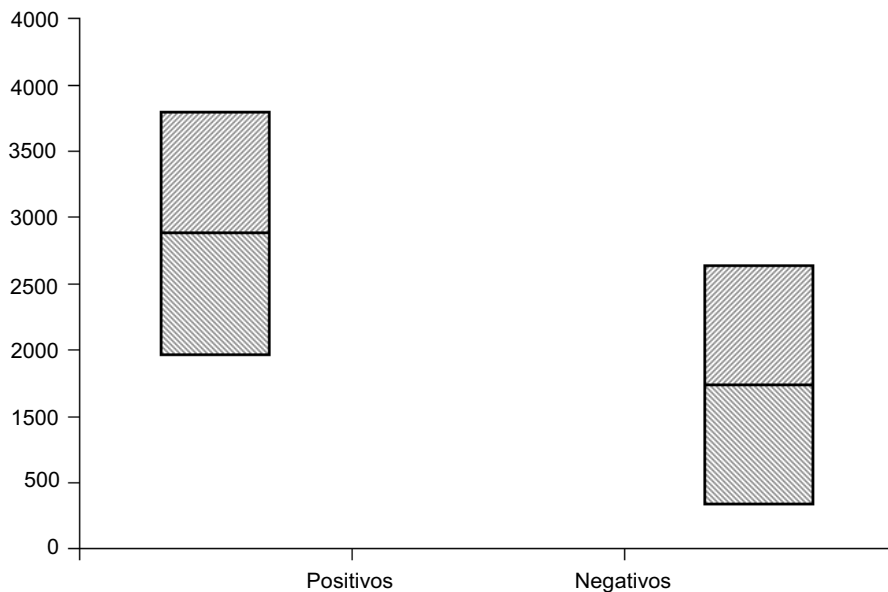


Figura 1 – Médias, desvios-padrão e valores extremos das diferenças entre absorbância e cut off das leituras de ELISA anti-VHC nos grupos com imunoblot (RIBA) positivo e negativo.

maiores investigações e incômodos. Estes números são semelhantes aos relatados nos Estados Unidos, onde o imunoblot é recomendado para aumentar especificidade do anti-VHC em grupos de baixo risco<sup>26</sup> 7. Os pacientes com RIBA positivo ou indeterminado deverão ser encaminhados para avaliação médica e pesquisa do RNA do VHC. Como a resolução espontânea da infecção pelo VHC acontece na minoria

dos indivíduos, a confirmação da presença de anticorpos é forte indicação da presença do VHC<sup>14</sup>.

Este resultado sugere que se considere, em bancos de sangue no Brasil, a realização do RIBA em indivíduos com anti-VHC por ELISA, aminotransferases normais e sem fator de risco. Tal conduta diminuiria a ansiedade gerada com o falso diagnóstico de infecção pelo VHC. Por outro lado, pode ser mais fácil implementar este

método do que testes de biologia molecular em regiões com dificuldades de recursos técnicos e econômicos.

Nossos dados sugerem que é importante confirmar o anti-VHC através do RIBA nos estudos de prevalência em comunidades de baixo risco, como a população

geral, para confirmação de anticorpos detectados por ELISA. Grande parte dos dados sobre prevalência de anti-VHC no Brasil leva em consideração apenas dados de ELISA, gerando provável superestimativa. Estudos de prevalência do VHC devem sempre considerar a confirmação dos ELISA positivos pelo RIBA.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alter HJ, Seef LB. Recovery, persistence, and sequelae in hepatitis C infection: a perspective on long-term outcome. *Seminars in Liver Disease* 20:17-35, 2000.
2. Atrah HI, Hutchinson F, Gough D, Ala FA, Ahmed MM. Hepatitis C virus seroconversion rate in established blood donors. *Journal of Medical Virology* 46:329-333, 1995.
3. Center for Disease Control. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus infection and HCV-related chronic disease. *MMWR* 47: RR-19, 1998.
4. Damen M, Zaaijer HL, Cuypers HTM, Vrieling H, van der Poel CL, Reesink HW, Lelie PN. Reliability of the third generation immunoblot assay for hepatitis C virus. *Transfusion* 35:745-749, 1995.
5. Fundação Nacional de Saúde, Centro Nacional de Epidemiologia, Ministério da Saúde. Guia de vigilância epidemiológica, 1998.
6. Gretch DR. Use and interpretation of HCV diagnosis tests in the clinical setting. *Clinics in Liver Disease* 1: 543-558, 1997.
7. Morishima C, Gretch DR. Clinical use of hepatitis C virus tests for diagnosis and monitoring during therapy. *Clinics in Liver Disease* 3: 717-740, 1999.