

## Pesquisa de anticorpos contra o vírus da hepatite C em pool de 5 soros: sua utilização em inquéritos soroepidemiológicos

Detection of antibodies against hepatitis C virus in a 5 sera pool testing: its use in seroepidemiological survey

Kikumi Suzete Ozaki<sup>1</sup>, Cor Jesus Fernandes Fontes<sup>1,2</sup>,  
Hildenete Monteiro Fortes<sup>3</sup> e Francisco José Dutra Souto<sup>1</sup>

**Resumo** Para avaliar redução de custo da pesquisa de anticorpos contra hepatite C, por ELISA, em pool de cinco soros, realizou-se o teste em grupos de baixo e alto risco. Dois terços dos conjuntos de alto risco tiveram que ser repetidos. A redução do gasto de reagente foi de 80% na população de baixo risco e de 13% na amostra de alto risco. Estes dados sugerem que a pesquisa do anti-VHC em pool reduz o custo do procedimento em populações de baixo risco.

**Palavras-chaves:** Inquérito sorológico. Anti-HCV. Pool.

**Abstract** In order to evaluate the reduction in the cost of testing for antibodies against hepatitis C (EIA) by the pool method, we tested serum samples from a rural population and from patients in a hemodialysis program. Two thirds of the high risk groups were positive. Pooling reduced the reagent use by 80% in the rural population and by 13% in the hemodialysis patients. We conclude that pool testing reduces the cost of anti-HCV detection in low-risk groups.

**Key-words:** Survey. Anti-HCV. Pool.

O vírus da hepatite C (VHC) é o principal agente causador das hepatites não-A, não-B de transmissão parenteral e tem grupos de risco para infecção semelhantes aos da hepatite B<sup>1</sup>. É responsável também por infecção crônica, que pode igualmente evoluir para cirrose e carcinoma hepatocelular<sup>2</sup>. Inquéritos sorológicos mostraram alta prevalência do anti-VHC em grupos populacionais específicos, tais como hemofílicos (70%), usuários de drogas endovenosas (70%) e nefropatas em hemodiálise (20%)<sup>5</sup>. Cendoroglo Neto *et al* (1995), estudando pacientes em tratamento dialítico em São Paulo, encontraram 34,6% positivos para o anti-VHC<sup>3</sup>. Em população de baixo risco, principalmente em doadores de

sangue, a prevalência é inferior a 1% em países desenvolvidos e oscila de 1% a mais de 5% nos países em desenvolvimento<sup>4,8,12</sup>. No Brasil, já foi demonstrada baixa prevalência de anti-VHC em população rural e em séries de bancos de sangue<sup>10,11</sup>.

O diagnóstico inicial da infecção pelo VHC é feito pela pesquisa do seu anticorpo, através de ensaio imunoenzimático (ELISA) de 2ª ou 3ª geração. Posteriormente, os soros reativos deverão ser confirmados por testes como o RIBA (recombinant immunoblot assay)<sup>1</sup>. Para ambas as técnicas os reagentes são de elevado valor financeiro, tornando impraticável a pesquisa do anti-VHC em grande número de soros.

1. Departamento de Clínica Médica, da Universidade Federal de Mato Grosso; 2. Curso de Pós-graduação em Medicina Tropical da Universidade Federal de Minas Gerais; 3. Hemocentro Coordenador de Mato Grosso, Cuiabá, MT.

Endereço para correspondência: Dr. Cor Jesus F Fontes. Núcleo de Estudos de Doenças Infecciosas e Tropicais de Mato Grosso. Departamento de Clínica Médica/Universidade Federal de Mato Grosso. R. Pres. Venceslau Bras 355, Morada do Sol, 78045-790 Cuiabá, MT; Fax: 55 65 621-1406.

Recebido para publicação em 21/5/98.

Para reduzir o custo do ELISA em situação de baixa prevalência, tem sido proposta a pesquisa do anti-VHC em *pool* de 3 ou 5 soros, repetindo-se o teste individualmente nos soros componentes dos conjuntos com resultado positivo<sup>6,9</sup>. A utilização dessa estratégia já foi recomendada pela OMS para a pesquisa de anti-HIV em áreas com prevalência desta infecção menor que 2%<sup>13</sup>. Alternativas para diminuir o gasto com a pesquisa do anti-VHC por ELISA são muito importantes para algumas regiões do Brasil.

No presente estudo, avaliou-se a redução do custo do rastreamento do anti-VHC em inquérito populacional, realizando o ELISA em conjuntos (*pool*) de 5 soros. Numa avaliação preliminar 6 soros sabidamente positivos em análise individual para o anti-VHC-ELISA foram testados juntamente com 24 soros normais, em 6 conjuntos de 5 soros, na razão de um soro positivo para 4 soros normais. Para todos os testes utilizou-se o ELISA anti-VHC II (Abbott Laboratories<sup>®</sup>). Dez

microlitros de cada soro foram adicionados a 400ml do diluente. Posteriormente, a técnica foi aplicada a soros de duas populações distintas: uma, com 370 indivíduos com baixo risco de infecção pelo VHC, durante investigação de surto de doença icterica na comunidade da Gleba Nova Esperança, em Cotriguaçu, Estado de Mato Grosso, e a outra, com 135 pacientes portadores de insuficiência renal crônica em tratamento hemodialítico na cidade de Cuiabá (MT), gerando 74 e 27 conjuntos de soros, respectivamente. Obteve-se título de diluição final do *pool* de soros equivalente a 1:45. Para confirmar a positividade de um soro obtida na avaliação em *pool*, todos os soros componentes do conjunto que apresentou resultado positivo foram analisados individualmente pela mesma técnica e reagentes, de acordo com as recomendações do fabricante.

O percentual de redução de gasto em ELISA anti-VHC foi estimado pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ redução de testes gastos} = \frac{\text{total de soros a se testar} - \text{total de testes realizados}}{\text{total de soros a se testar}} \times 100$$

Todos os 6 soros positivos foram identificados na avaliação preliminar de um soro positivo para 4 negativos (sensibilidade = 100%). Dos 74 conjuntos de soros obtidos da população rural com surto de icterícia, nenhum apresentou resultado positivo para anti-VHC. Entretanto, este teste foi positivo em 18 (66,7%) dos 27 conjuntos de soros da população de nefropatas em hemodiálise, sendo necessária a confirmação, em análise isolada, dos 90 soros que compunham os conjuntos que apresentaram resultado positivo. Após análise individual, o anti-VHC foi confirmado positivo em 37 e negativo em 53 desses 90 soros retestados de nefropatas. A redução de teste gasto foi de 80% [(370-74)/370] para a amostra de baixo risco e de 13% [(135-117)/135] nessa amostra de alto risco para infecção pelo VHC (Tabela 1).

Em virtude do alto custo financeiro da pesquisa do anti-VHC, a estratégia de realizar o teste em *pool* de soros tem sido bastante discutida nos últimos anos<sup>6,7,9</sup>. Em termos de validade, altas sensibilidade e especificidade tem sido observadas, principalmente em soros de doadores voluntários de sangue<sup>6</sup>. Os resultados deste estudo demonstraram uma alta sensibilidade do ELISA em *pool* de 5 soros quando incluídos

soros verdadeiro-positivos para o anti-VHC. Além disso, no inquérito de uma população rural, tradicionalmente de baixo risco para a infecção, foi possível realizar apenas 74 testes em 370 soros. Nesta oportunidade alcançou-se a economia máxima possível, ou seja, uma redução de 80% dos testes que poderiam ser gastos, caso a pesquisa do anti-VHC fosse feita individualmente.

Por outro lado, entre nefropatas em hemodiálise, sabidamente de maior risco para VHC<sup>5</sup>, a redução de gasto de reagente não foi grande. Provavelmente, maior benefício poderia ser conseguido se o número de soros em cada conjunto fosse menor, já que o tamanho ideal do *pool* depende da prevalência do marcador que se quer estudar, assim como da sensibilidade do teste utilizado. Assim, o número máximo de soros que deve ser incluído em um *pool*, a partir do qual nenhum custo-benefício é observado, pode ser determinado matematicamente pela fórmula:  $n^2 = 1/[q^2 \ln(1/q)]$ ; onde  $n$  é o tamanho do pool e  $q = 1 - \text{prevalência do evento}$ <sup>7</sup>. Portanto, a quantidade ideal de soros em um *pool* para ELISA anti-VHC deverá ser inversamente proporcional à prevalência da infecção na população. Mesmo no grupo de nefropatas, em que prevalência de 27% foi posteriormente

Tabela 1 - Resultado da pesquisa de anti-VHC em soros de diferentes populações, com ELISA/2ª Geração (Abbott®), realizada em análise individual e em pool de 5 soros.

Amostra de soro	indivíduos testados n	conjuntos testados n	conjuntos com anti-VHC + n	soros retestados individualmente n	anti-VHC + reteste n	resultado negativo n	total realizado	% redução de testes gastos*
Com resultado previamente conhecido para anti-VHC - (1 positivo e 4 negativos)	30	6	6	30	6	24	-	-
População de baixo risco, durante surto de doença icterica aguda	370	74	0	0	-	-	74	80
População de nefropatas em tratamento hemodialítico	135	27	18	90	37	53	117	13

\* Percentagem de redução de reagente = [(Total de soros - Total de testes realizados) / Total de soros] x 100

identificada, alguma economia pode ser alcançada(13%). Assim, considerando uma prevalência estimada de VHC em nefropatas no Brasil de 25% a 35%<sup>3</sup>, poderíamos supor que maior benefício só poderia ser conseguido se utilizasse *pool* de 2 ou 3 soros.

Embora o presente estudo não tenha sido rigorosamente desenhado para estimar a validade do ELISA anti-VHC em *pool* de soros para populações expostas a diferentes riscos da

infecção, os resultados encontrados corroboram a orientação de outros autores de que esta estratégia, quando aplicada em populações de baixo risco, reduz o custo do procedimento enquanto permite razoável estimativa da prevalência na população. Esses resultados evidentemente não podem ser extrapolados para ocasiões em que é necessário diagnóstico individual da infecção pelo VHC, como em triagem de Banco de Sangue ou em situações clínicas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bader TF. Diagnosis and transmission of hepatitis C *In*: Bader TF (ed) Viral hepatitis: practical evaluation and treatment. Hogrefe & Huber Publishers, Seattle, p. 135-158, 1995.
- Caselmann WH, Alt M. Hepatitis C virus infection as a major risk factor for hepatocellular carcinoma. *Journal of Hepatology* 24 (suppl 2):61-66, 1996.
- Cendoroglo-Neto M, Manzano SI, Canziani ME, Silva AE, Cirenza LF, Sesso RC, Ajzen H, Draibe AS. Environmental transmission of hepatitis B and hepatitis C viruses within the hemodialysis unit. *Artificial Organs* 19:251-255, 1995.
- El-Sayed NM, Gomatos PJ, Rodier GR, Wierzba TF, Darwish A, Khashaba S, Arthur RR. Seroprevalence survey of egyptian tourism workers for hepatitis B virus, hepatitis C virus, human immunodeficiency virus, and *Treponema pallidum* infections: association of hepatitis C virus infections with specific regions of Egypt. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 55:179-184, 1996.
- Esteban JI, Esteban R, Viladomiu L, Lopez-Talavera JC, Gonzalez A, Hernandez JM, Rojet M, Vargas V, Genesca J, Buti M. Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Spain. *Lancet* 2:294-297, 1989.
- Fernandez E, Riestra S, Garcia S, Rodriguez S. Pool tests for detection of hepatitis C virus infection. *Journal of Hepatology* 23:236, 1995.
- Kamel MA, Ghaffar YA, Wasef MA, Wright M, Clark LC, Miller FW. High HCV prevalence in Egyptian blood donors. *Lancet* 340:427, 1992.
- Kuhn P, Seidl S, Stangel W, Beyer J, Sibrowski W, Flick J. Antibody to hepatitis C virus in German blood donors. *Lancet* 2:324, 1989.
- Neil AGS, Conradie JD. Low cost anti-HCV screening of blood donors. *Lancet* 340:1096, 1992.

10. Souto FJD, Fontes CJF, Gaspar AMC, Paraná R, Lyra LGC. Concomitant high prevalence of hepatitis C virus antibodies and hepatitis B virus markers in a small village of the Amazon Region, Mato Grosso State, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 38:221-223, 1996.
12. Souto FJD, Osaki KS, Fortes HM, Mello MK. Prevalência do anti-VHC entre doadores de sangue do Hospital Universitário de Mato Grosso. *In: Resumos do XXXIII Congresso Brasileiro de Gastroenterologia, Porto Alegre, p. 50, 1994.*
13. Strauss E. Hepatite C. *In: Figueiredo-Mendes T, Pitella AM (eds) Recentes avanços em hepatites, Fundo Editorail BYK, São Paulo, p. 79-88, 1993.*
13. World Health Organization. Recommendations for testing for HIV antibody on serum pool. *World Health Organization Weekly Epidemiological Records* 44:316-327, 1991.