

R19 - DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE TESTE DE QUANTIFICAÇÃO DE CARGA VIRAL DE HCV DE BIO-MANGUINHOS

Elisabete Andrade¹; Daniele Rocha¹; Marcela Fontana¹; Marcelo Corrêa; William Pires; Antonio G. P. Ferreira¹; Patrícia Alvarez¹

¹ LATED/VDTEC/Bio-Manguinhos/Fiocruz;

² SEDES/VGEST/Bio-Manguinhos/Fiocruz;

Objetivo: Desenvolver e validar um teste molecular destinado à quantificação dos genótipos 1 a 6 do Vírus de Hepatite C (HCV). A quantificação da carga viral (QCV) do HCV circulante em plasma humano representa uma ferramenta importante para o prognóstico e acompanhamento clínico do paciente portador de HCV, auxiliando na administração, duração e monitoramento da terapia antiviral. Os ensaios comerciais destinados à quantificação de carga viral de HCV, no Brasil, são comercializados com custos abusivos e a obtenção de uma alternativa nacional possibilitará ampliar significativamente o acesso da população.

Metodologia: O teste de QCV em ensaio duplex para HCV (fluorescência FAM) e Calibrador Interno (fluorescência Dye3) tem como base a plataforma de PCR em tempo real utilizando uma curva padrão obtida com um VLP (*virus like partical*) que contem a inserção de parte do genoma do HCV (derivado de uma Patente da FIOCRUZ). Para a validação do teste foi realizada comparação com um kit comercial, COBAS Taqman HCV Test (v2.0), analisando-se precisão e exatidão entre os testes preconizados pela RDC n°27/2012 (ANVISA). Para a validação foi utilizada o coeficiente de variação (CV) não se admitindo valores superiores a 15%, exceto para o limite inferior de detecção, admitindo-se valores menores ou iguais a 20%. Foram processadas amostras HCV positivas e painéis internacionais de quantificação, além de interferentes.

Resultado: A QCV de HCV foi estabelecida utilizando-se um curva padrão de quantificação com 3 pontos com diferentes concentrações, obtida ao longo de um exaustivo processo de padronização. O cálculo da QCV é realizado, por intermédio de software desenvolvido pela equipe de TI de Bio-Manguinhos, comparando-se o CT

encontrado da amostra, com os CTs dos 3 pontos da curva padrão, gerando um resultado em UI/mL e Log. O limite de quantificação deste teste de QCV de HCV é de $2,0E+06$ a $6,0E+01$ IU/mL e o limite inferior de detecção é de $3,0E+01$ IU/mL. Na validação os valores encontrados de CV ficaram dentro da faixa estabelecida na RDC n°27. A diferença máxima de log encontrada entre o teste desenvolvido em Bio-Manguinhos e o comercial foi de 0,7 log na carga viral de $6,0E+01$ UI/mL e a média de variação foi inferior a 0,4 log.

Conclusão: Os resultados da validação mostraram que o teste de QCV de HCV desenvolvido em Bio-Manguinhos está dentro dos padrões estabelecidos na RDC n° 27/2012. A diferença de log encontrada entre o teste desenvolvido e o comercial para a carga viral de $6,0E+01$ UI/mL está diretamente relacionada à maior variação na faixa do limite de sensibilidade dos testes, não sendo relevante clinicamente. Com relação à reprodutibilidade entre replicatas de amostras, a metodologia de Bio-Manguinhos apresentou resultados mais robustos com menor nível de variação se comparado ao Kit comercial.