

## **OTR5 - Otimização da técnica de RT-PCR em tempo real para detecção do vírus da hepatite E em amostras positivas para HIV**

Andreza Salvio Lemos<sup>1\*</sup>; Adilson José de Almeida<sup>2</sup>; Amanda de Oliveira Lopes<sup>1</sup>; Renata Tourinho Santos<sup>1</sup>; Noemi Rovaris Gardinali<sup>1</sup>; Marcelo Alves Pinto<sup>1</sup>; Vanessa Salete de Paula<sup>1</sup>.

1 - Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico em Virologia Instituto Oswaldo Cruz/ Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil;

2 - Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, Setor de Hematologia / Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro/Unirio, Rio de Janeiro, Brasil.

### **Introdução:**

O vírus da hepatite E (HEV) é um vírus emergente, com transmissão via feecal-oral ou por ingestão de alimentos derivados de animais infectados, sendo assim difícil a determinação da fonte ou rota da infecção, principalmente devido às dificuldades no diagnóstico de hepatite E. Dentre os genótipos de HEV, o genótipo 3 – único encontrado no Brasil até o momento – tem sido associado a infecções crônicas em pacientes imunocomprometidos, como portadores de HIV. Devido aos baixos títulos de RNA do HEV que podem ser encontrados no soro, podendo se tornar indetectáveis, é difícil o diagnóstico da doença e a confirmação de resultados falso-negativos. Desta forma, apenas o uso de testes sorológicos não é suficiente para a detecção de HEV, sendo necessária a aplicação de testes moleculares mais específicos como o RT-PCR em tempo real, com maior sensibilidade e especificidade. Assim, a otimização da detecção do HEV pelo RT-PCR em tempo real pode levar a um importante método de diagnóstico em pacientes coinfectados com HIV.

### **Objetivo:**

Para tanto, o objetivo do estudo foi otimizar e avaliar a técnica de PCR em tempo real para detecção e quantificação do RNA de HEV e sua utilização como diagnóstico molecular de HEV em portadores de HIV.

### **Metodologia:**

Para tanto, foram realizados ensaios de RTPCR em tempo real com a substituição da curva plasmidial por uma curva sintética, utilização de controle interno (IPC), testes de limite de detecção e de detecção de coinfeção. Após

a otimização do PCR em tempo real, 231 amostras de pacientes HIV positivos foram testadas para HEV.

**Resultados:**

A curva sintética apresentou parâmetros adequados para ser utilizada, com valores de  $slope = 3,20$ ,  $R^2 = 0,98$  e  $E = 99,8\%$ , e o teste apresentou sensibilidade e especificidade  $< 99\%$ . Além disso, o controle interno foi detectado em todas as amostras e o limite de detecção foi estabelecido para 50 cópias/mL. Entre as 231 amostras testadas 9 (3,8%) foram reagentes para HEV.

**Conclusão:**

A utilização da curva sintética em substituição à plasmidial e a utilização de IPC permitem a detecção de coinfeção pelo HEV em amostras HIV positivas excluindo resultados falso-negativos pelo método sensível de RT-PCR em tempo real. As amostras serão sequenciadas para confirmar a co-infecção HEV/HIV.

**Palavras-Chave:** PCR em tempo real, HEV, HIV