

Título: Estabelecimento dos Ensaios de Controle de Qualidade da Plataforma brasileira de Testes NAT *multiplex* HIV/HCV

Aluna: Joyce Brito de Carvalho

1. HIV. 2. HCV. 3. Testes NAT. 4. Controle de Qualidade. 5. PCR em Tempo

Real

RESUMO

A infecção pelos vírus da imunodeficiência humana e da hepatite C representam uma importante questão de saúde pública. Segundo a UNAIDS, somente em 2009, 2,6 milhões de pessoas foram infectadas pelo HIV, perfazendo o total de aproximadamente 33,3 milhões de infectados ao redor do mundo. A estimativa atual para o número de infectados pelo HCV é de aproximadamente 170 milhões no mundo inteiro, com 3,4 milhões de novos casos ao ano. Os exames sorológicos são a base do diagnóstico laboratorial das infecções pelo HIV e HCV. Entretanto, este tipo de diagnóstico é incapaz de diagnosticar indivíduos recém-infectados, devido à ausência de níveis detectáveis de anticorpos circulantes, ocasionando um risco potencial de transmissão viral em doações de sangue e hemoderivados. Nas últimas décadas, o desenvolvimento de técnicas baseadas na detecção de ácidos nucleicos (NAT) proporcionou ganhos no diagnóstico de infecções virais, pois possibilitou a detecção de RNA viral em indivíduos recém-infectados, diminuindo os riscos transfusionais. O kit NAT HIV/HCV para triagem em bancos de sangue foi desenvolvido por Bio-Manguinhos em parceria com a Universidade Federal do Rio de Janeiro e o Instituto de Biologia Molecular do Paraná, com o intuito de atender a uma demanda do Ministério da Saúde. A metodologia se baseia na detecção de RNA viral através da técnica de RT-PCR em tempo real em um sistema *multiplex* capaz de detectar HIV, HCV e um controle interno em uma plataforma semiautomatizada. Após a fase de desenvolvimento, foram iniciados simultaneamente o Estudo Multicêntrico e a padronização e validação do método pelo Controle de Qualidade. O objetivo deste estudo foi estabelecer ensaios de controle de qualidade do kit, através da definição de um painel molecular interno, padronização e validação do teste de desempenho como controle do produto final. Para tanto, foram processados 6 lotes de *pool* de plasmas negativos, 26 amostras HIV positivas e 28 amostras HCV positivas. As amostras foram padronizadas por carga viral e análise de perfil frente à plataforma NAT. A segunda etapa consistiu em padronizar o teste de desempenho envolvendo a utilização da plataforma robótica, definição dos ensaios e ajustes nos parâmetros de análise. Após a padronização, o teste de desempenho foi validado segundo os parâmetros de validação analítica preconizados nas Farmacopéias Européia e Brasileira. O estabelecimento do painel permitiu selecionar 19 amostras com resultados completamente satisfatórios para HIV e HCV individualmente, assim como os pools de plasmas negativos. Os ensaios de padronização permitiram definir o melhor protocolo de utilização da plataforma robótica, definir o desenho experimental do teste de desempenho, ajustar a composição do kit e os parâmetros de análise, assim como estabelecer um fluxograma de controle de qualidade do kit. A validação do método analítico atendeu aos critérios de especificidade, limite de detecção e robustez preconizado pelas normas nacionais e internacionais. O estabelecimento dos procedimentos de controle de qualidade do kit NAT HIV/HCV, juntamente com a estrutura gerada durante o desenvolvimento do projeto, poderá contribuir no fomento de futuras aplicações em produtos de diagnóstico molecular em Bio-Manguinhos.