
Avaliação da PCR em tempo real como teste confirmatório de infecção por HTLV-1 e HTLV-2 no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo

Karoline Rodrigues CAMPOS*, Adele CATERINO-DE-ARAÚJO¹

¹Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz de São Paulo

*Programa Institucional Brasileiro de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq)

Diante de problemas detectados em algoritmos de testes laboratoriais para o diagnóstico de infecção por HTLV-1/2 utilizados no Instituto Adolfo Lutz (IAL) de São Paulo (Algoritmos 2007 e 2009)^{1,2}, o presente estudo objetivou avaliar um novo algoritmo (2010) que emprega como primeiro teste confirmatório a PCR em tempo real (*pol*), seguida do ensaio de *Western Blot* (WB)³. Avaliou-se também a repetitividade e a reprodutibilidade dos ensaios de PCR. Foram utilizados DNAs padrões de HTLV-1, HTLV-2 e albumina humana (controle endógeno) diluídos na razão 10, para confirmação do limite de detecção das PCRs e construção de curvas padrão. Foram realizadas duplicatas e replicatas nos ensaios de PCR, analisadas as curvas de amplificação quanto a: aspecto, *slope* (γ), regressão linear (R^2), valores de ciclos *threshold* (C_t), média, desvio padrão e coeficiente de variação (CV) (Figura 1). Os resultados obtidos com os padrões confirmaram bom desempenho, eficiência e repetitividade intraensaio ($CV \leq 1,6$) e reprodutibilidade interensaios

($CV \leq 1,0$). Posteriormente, foram submetidas à PCR em tempo real e ao WB 84 amostras de sangue que resultaram positivas na triagem sorológica. Quando comparados os resultados obtidos na PCR com os de WB, notou-se que o teste molecular apresentou maior especificidade (detectou sete casos que resultaram inconclusivos no WB), porém menor sensibilidade (deixou de detectar 13 casos WB positivos). Os resultados negativos na PCR podem estar relacionados à baixa carga proviral, ao estado de imunossupressão e ao uso de terapia antirretroviral pelos pacientes, já que 12 das 13 amostras de sangue que resultaram PCR negativas eram provenientes de indivíduos com HIV/AIDS. O ensaio molecular confirmou redução de 44% no custo do diagnóstico confirmatório de infecção por HTLV-1/2 em laboratório que dispõe de equipamento e estrutura para realização da PCR em tempo real⁴. Concluindo, nenhum dos testes confirmatórios (PCR em tempo real e WB) sozinho pode ser aplicado em casuística atendida pelo IAL de São Paulo e confirma como melhor algoritmo o de 2010.

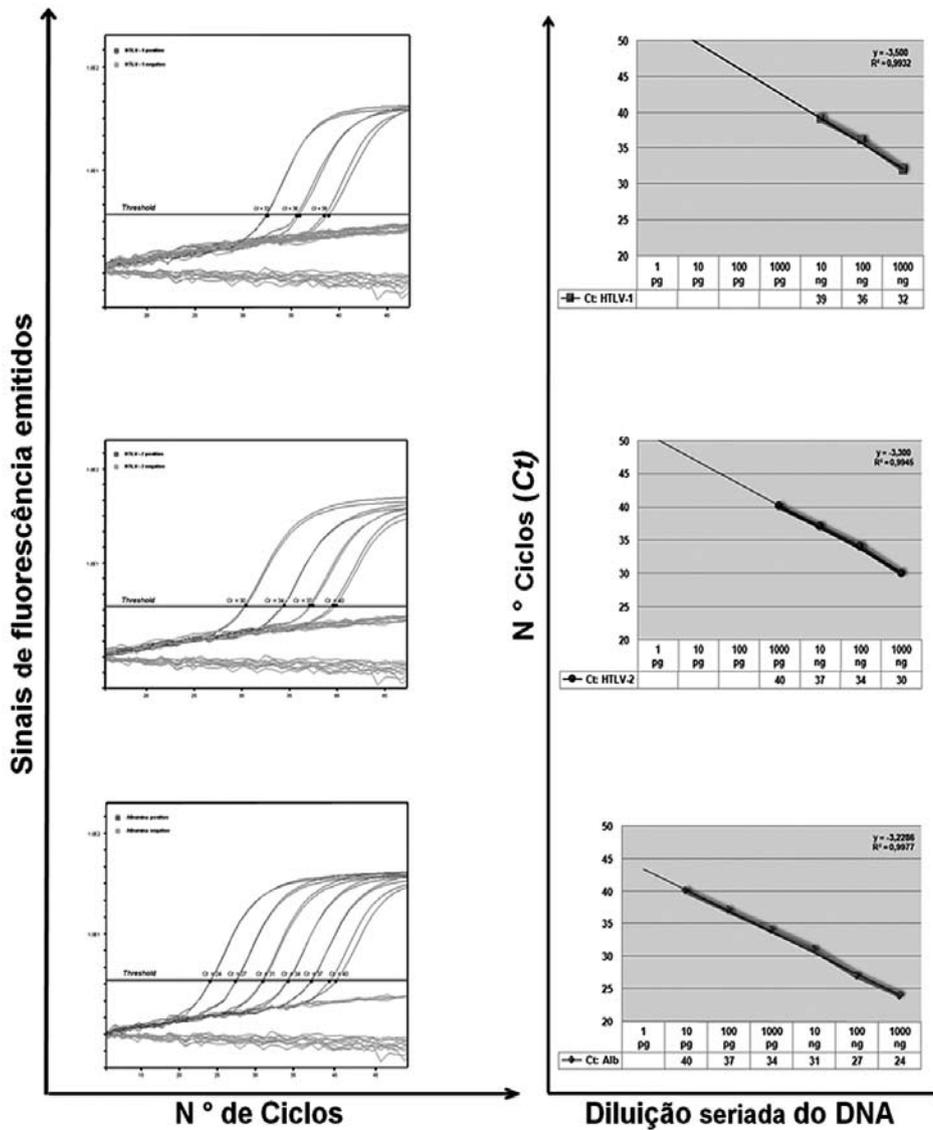


Figura 1. Curvas de amplificação na PCR em tempo real para HTLV-1, HTLV-2, albumina humana e correspondente curva de regressão linear, de acordo com a concentração de DNA alvo. À esquerda, curvas vermelhas representam positividade, enquanto as verdes são negativas.

REFERÊNCIAS

- Jacob F, Santos-Fortuna E, Caterino-de-Araujo A. Algoritmo de testes sorológicos de triagem para infecção por HTLV-1/2 usado no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo. BEPA, 2008; 5:12-8.
- Costa EAS, Jacob F, Feliciano RS, Santos-Fortuna E, Caterino-de-Araujo A. Falha na implantação de um novo algoritmo de testes laboratoriais para o diagnóstico de infecção por HTLV-1 e HTLV-2 em população de risco. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 2009; 68(2): 148-151.
- Costa EAS, Magri MC, Caterino-Araujo A. The best algorithm to confirm the diagnosis of HTLV-1 and HTLV-2 in at-risk individuals from São Paulo, Brazil. J Virol Methods. 2011; 173:280-283.
- Costa EAS, Campos KR, Caterino-de-Araujo A. Análise do custo-benefício de dois algoritmos de testes laboratoriais para o diagnóstico confirmatório de infecção por HTLV-1 e HTLV-2. BEPA, 2011; 8 (94):4-13.