

Padronização de um sistema imunodiagnóstico enzimático para a detecção do vírus da hepatite C

Cristiane R. Barth^{1,2}, Fernanda Haar^{1,2}, Aline D. Weis^{1,2}, Eduardo L. Pedrazza², Tatiana S. F. Souza², Leonardo Pedrazza², Fernando T. Kreutz^{1,2,3}, Cíntia Fochesatto^{2,3}, Ana L. Bender^{1,2},
Virgínia M. Schmitt^{1,2} (orientador)

¹*Faculdade de Farmácia, PUCRS,* ²*Laboratório de Imunodiagnóstico, PUCRS,*
³*FK-Biotecnologia*

Resumo

O vírus da hepatite C é uma das principais causas de doença hepática crônica, sendo considerado um dos maiores problemas de saúde pública no mundo. Segundo a Organização Mundial de Saúde 3% da população mundial é cronicamente infectada pelo vírus. O diagnóstico laboratorial pode ser realizado por meio de testes sorológicos ou por meio de análises baseadas em técnicas de biologia molecular. Testes para detecção de anticorpos anti-HCV tornaram-se obrigatórios na triagem sorológica dos bancos de sangue brasileiros a partir de novembro de 1993, onde o ensaio mais comumente utilizado para detecção de anti-HCV é o ELISA. O objetivo deste estudo foi a padronização de um sistema de imunodiagnóstico enzimático para hepatite C, utilizando a técnica de ELISA indireto, para futuramente ser utilizado em laboratórios clínicos vinculados ao Sistema Único de Saúde e aplicação em bancos de sangue, visando à nacionalização dos sistemas em todas as etapas produtivas desse processo. As etapas para padronização do teste realizadas incluíram curvas de: concentração dos antígenos utilizados na sensibilização, concentração da amostra, tempo de incubação da amostra, concentração do anticorpo secundário e tempo de incubação do anticorpo secundário. Após análise dos resultados da padronização do teste em desenvolvimento, foi estabelecido como 2,5µg/mL a melhor concentração de antígenos a ser utilizada. A concentração de amostra foi definida em 1:20, principalmente para facilitar a pipetagem durante a rotina laboratorial. Em relação ao tempo de incubação, não houve variação significativa entre os tempos de 45 e 60 minutos, assim, para otimização do tempo do ensaio foi definido 45 minutos como tempo padrão de incubação da amostra. A concentração do anticorpo secundário apresentou melhor resultado na diluição 1:1000 com tempo de incubação de 30 minutos. Este processo foi concluído com a execução de testes piloto realizados no laboratório de imunodiagnóstico da PUCRS, confirmando os resultados inicialmente obtidos.