
Comparação de dois ensaios imunoenzimáticos para pesquisa de anticorpos anti-HTLV-1/2 em população infectada pelo HIV

¹ Carlos Henrique BARRETO-DAMIÃO^{1*}, Karoline Rodrigues CAMPOS¹, Maria Gisele GONÇALVES¹, Nadia Aparecida COSTA^{1}, Mariana Cavalheiro MAGRI², Wong Kuen ALENCAR³, Adele CATERINO-DE-ARAÚJO¹**

**Bolsista de Iniciação Científica FAPESP*

***Bolsista de Treinamento Técnico em Pesquisa TT3 FAPESP*

¹Centro de Imunologia - Instituto Adolfo Lutz

²Laboratório de Investigação Médica-M47-Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

³Centro de Referência em DST/Aids de São Paulo-SP-Brasil

O Brasil é o país do continente americano com o maior número de pessoas infectadas pelo vírus linfotrófico de células T humanas do tipo 1 (HTLV-1) com estimativa de 800.000 infectados¹. Já o HTLV-2 é endêmico em índios da Amazônia e em usuários de drogas injetáveis². Em 1993, a sorologia para estes vírus tornou-se obrigatória em Bancos de Sangue no Brasil³. Desde novembro de 1998, o Instituto Adolfo Lutz de São Paulo realiza a sorologia para HTLV-1/2 em população de risco e tem observado problemas no diagnóstico, principalmente de HTLV-2². Foi observado que o emprego de apenas um ensaio imunoenzimático (EIA) para pesquisa de anticorpos específicos era insuficiente para detectar todos os casos verdadeiramente positivos e assim passou-se a utilizar dois EIA de princípios e composições antigênicas diferentes⁴⁻⁶. A partir de 2013, encontram-se disponíveis no mercado nacional apenas kits de 3ª geração que utilizam peptídeos sintéticos e/ou proteínas recombinantes como antígeno e conjugado. O presente estudo objetivou comparar a eficiência de dois kits EIA

de 3ª geração disponíveis no mercado nacional: um de procedência estrangeira e outro nacional na triagem de infecção por HTLV-1/2 em pacientes do CRT DST/Aids de São Paulo. Amostras de sangue de 1.608 pacientes infectados pelo HIV que aceitaram participar do estudo e assinaram o TCLE (Plataforma Brasil CAAE 11302512.0.0000.0059) foram testadas quanto à presença de anticorpos anti-HTLV-1/2 usando os kits Murex HTLV I+II, Diasorin, UK e Gold ELISA HTLV-I/II, REM, SP, seguindo as instruções dos fabricantes. Os resultados foram avaliados em relação aos obtidos nos testes confirmatórios de *Western Blot* (HTLV Blot 2.4, MP Biomedicals) e/ou PCR em tempo real “in house” (*pol*) (protocolo de Costa et al., 2011)⁷. Houve detecção de 51 amostras de sangue reagentes pelo kit Murex. Destas, uma resultou negativa no WB e na PCR. O kit Gold ELISA detectou 49 amostras reagentes: não detectou a amostra WB e PCR negativa e outra amostra com perfil indeterminado no WB (presença de rgp46-II e p24) e PCR positiva para HTLV-2. O resultado da densidade óptica/*cut off* (DO/CO) desta amostra de soro no Gold ELISA

foi 0.251/0.281 (0,9), ou seja, na zona cinza (em evidência na **Figura** abaixo).

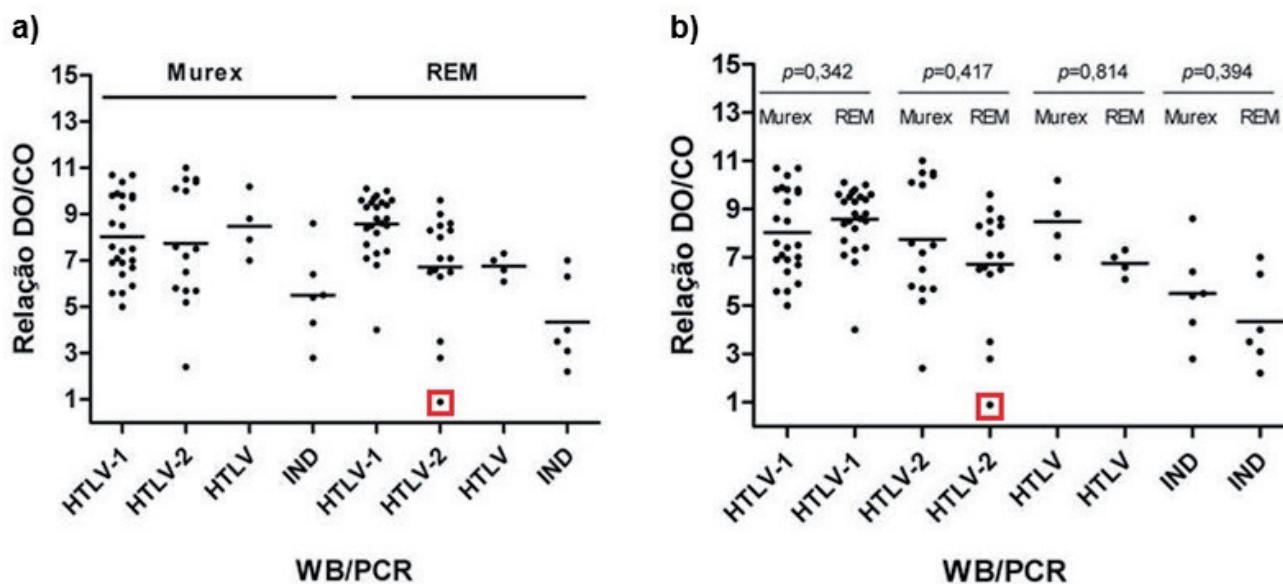


Figura. Resultados de DO/CO obtidos com os kits Murex e Gold ELISA dos casos de coinfeção HIV/HTLV em relação aos resultados de WB e PCR em tempo real pol para HTLV-1 e HTLV-2, usando GraphPad Prism e os programas estatísticos de Kruskal-Wallis ANOVA (a) ($p=0,0006$) e Mann-Whitney U-test (b)

Os resultados obtidos mostram que o kit Murex foi 100% sensível e 92% específico para detectar casos de infecção por HTLV-1/2 nesta casuística. Mostram também que o kit Gold ELISA deixaria de detectar um caso de infecção por HTLV-2 caso não fosse considerada a zona cinza. Estes resultados diferem parcialmente dos obtidos com amostras da rotina do Centro de Imunologia onde os dois kits se mostraram 100% sensíveis⁸, e confirmam a dificuldade de diagnóstico de infecção por HTLV-2 em população infectada pelo HIV. Apesar dos dois kits poderem ser utilizados isoladamente na triagem de infecção pelos HTLV-1/2, os resultados obtidos apontam para a necessidade de submeter amostras com resultados inconclusivos no EIA (zona cinza) aos testes confirmatórios de WB e/ou PCR.

Suporte

MS/SVS/DDAHV # BRAK57; DECIT/

SCTIE/MS, CNPq, FAPESP, SES-SP PPSUS # 2012/51220-8; FAPESP Bolsa IC para Carlos Henrique Barreto Damiano # 2013/19775-2; FAPESP Bolsa TT3 para Nadia Aparecida Costa # 2014/15845-9; CNPq Bolsa PD2 para Adele Caterino de Araujo # 303545/2012-7.

REFERÊNCIAS

- Gessain A, Cassar O. Epidemiological aspects and world distribution of HTLV-1 infection. *Frontiers in Microbiology*. 2012; 3, article 388.
- Caterino-de-Araujo A. Diagnóstico de infecção por vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 (HTLV-1) e -2 (HTLV-2) em população de risco: passado, presente e futuro. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2009; 68(2): 182-6.
- Brasil. Ministério da Saúde. Portaria 1.376, de nov. 1993. *Diário Oficial da União, Brasília*, 2 de dez. 1993. [Aprova alterações na Portaria n. 721/GM, de 9 de ago. 1989, que aprova normas técnicas para coleta, processamento e transfusão de sangue, componentes e derivados, e da outras providências].
- Caterino-de-Araujo A, Santos-Fortuna E, Meleiro MCZ,

-
- Suleiman J, Calabrò ML, Favero A, De Rossi A, Chieco-Bianchi L. Sensitivity of two ELISA tests in relation to western blot in detecting HTLV-I and HTLV-II infections among HIV-1-infected patients from São Paulo, Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1998; 30 (3):173-82
5. Jacob F, Santos-Fortuna E, Azevedo RS, Caterino-de-Araujo A. Performances of HTLV serological tests in diagnosing HTLV infection in high-risk population of São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*. 2007; 49(6): 361-4.
6. 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. *Bepa – Bol Epidemiol Pauli*. 2008; 5(23): 12-8
7. Costa EAS, Magri MC, Caterino-de-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; 173:280-6.
8. Vilches TB, Kashino SS, Caterino-de-Araujo A. Avaliação de ensaio imunoenzimático de procedência nacional na pesquisa de anticorpos anti-HTLV-1/2. *Bol Inst Adolfo Lutz*. 2012; 22(2):27-8.