

A IMPLEMENTAÇÃO DO TESTE ÁCIDO NUCLEICO NO BRASIL E A SUA IMPORTÂNCIA CIENTÍFICA PARA A SEGURANÇA TRANSFUSIONAL

Eduardo Sousa de Oliveira¹
Aracele Maria de Souza²

RESUMO: A segurança transfusional é um tema importante para a sociedade, com o intuito de assegurá-la, um dos testes desenvolvidos foi o teste Ácido nucleico. No qual foi criado para uma triagem sorológica mais segura e eficaz. Este artigo tem como objetivo abordar o uso desse teste e seus benefícios para o mundo, porém com maior ênfase no Brasil. Foi utilizado a metodologia de pesquisa bibliográfica, a fim de reunir mais informações com base na comunidade científica. A pesquisa feita aponta como o NAT se mostra superior aos testes convencionais que utilizam o princípio antígeno-anticorpo, tendo uma janela imunológica bem menor, garantindo maior assertividade na triagem de bolsas de sangue dos doadores.

Palavras-chave: Banco de sangue. Testes sorológicos. Teste Ácido nucleico. Janela Imunológica.

ABSTRACT: Transfusion safety is an important topic for society, in order to ensure it, one of the tests developed was the Nucleic Acid test. Which was created for safer and more effective serological screening. This article aims to address the use of this test and its benefits for the world, but with greater emphasis on Brazil. The bibliographic research methodology was used in order to gather more information based on the scientific community. The research carried out shows how NAT is superior to conventional tests that use the antigen-antibody principle, having a much smaller immunological window, ensuring greater assertiveness in the screening of donor blood bags.

Keywords: Blood bank. Serological tests. Nucleic Acid Test. Immune Window.

1 INTRODUÇÃO

O teste Ácido nucleico é um importante aliado nas rotinas laboratoriais em hemocentros, bancos de sangue e laboratórios clínicos. Conhecido pela abreviação “NAT” ou no termo inglês “Nucleic Acid Technologies”, este teste tem grande relevância no meio científico, pois consegue assegurar maior confiabilidade e segurança nas testagens

¹ Pós-graduado em Banco de Sangue e Hematologia Clínica pela Faculdade Famart. E-mail: eduardo_oliveira49@hotmail.com

² Professora orientadora do estudo e do artigo. Professora dos cursos de Graduação e Pós-Graduação lato sensu da Faculdade Famart, Itáúna–MG. Mestre e Doutora em Ciências.

sorológicas.

Em comparação ao teste de Elisa, por exemplo, o teste Ácido nucleico consegue identificar um indivíduo doente com menos tempo de infecção, tendo uma janela imunológica bem menor. Isso auxilia muito no tratamento precoce do paciente e no controle populacional de doenças como as IST.

Por se tratar de uma metodologia estrangeira, tendo os custos da importação, mesmo sendo comprovado e liberado sua utilização, no Brasil, precisou-se de alguns anos para uma aplicação mais significativa do teste nos bancos de sangue (CÂMARA segundo CALEGARIO, 2013).

Este artigo visa corroborar com mais informações sobre o tema, como é fundamental a adoção de metodologias mais eficazes que consigam promover saúde e segurança para os pacientes. Mostrar os benefícios no emprego da tecnologia NAT, além de elucidar como ela funciona e qual a diferença do método para outros testes sorológicos convencionais.

Para a realização deste trabalho foi escolhida a metodologia de pesquisa bibliográfica, reunindo informações de artigos, publicações e sites para assim garantir uma base sólida e confiável de estudo ao assunto abordado.

Até o final do artigo espera-se destacar como o tema é importante para sociedade e, sobretudo, a comunidade científica que tem como um dos ideais sempre buscar o avanço da ciência e informação, promovendo uma melhor saúde para as pessoas.

2 DESENVOLVIMENTO

Para entendermos melhor a metodologia de testes sorológicos e evidenciar a relevância da tecnologia NAT, é fundamental esclarecer termos importantíssimos como: anticorpo, antígeno, sensibilidade, especificidade, *cut-off* e janela imunológica que são empregados nos testes.

2.1 Anticorpo

Os anticorpos fazem parte do nosso sistema imunológico, são constituídos de proteína e atuam na defesa de agentes invasores no nosso corpo.

No exame de sangue aparecem representados como “leucócitos”, onde é feita a

contagem total e diferencial.

Uma pessoa com os leucócitos debilitados fica facilmente suscetível a infecções e doenças oportunistas, em quadros mais graves de infecção podendo levar até a morte (FORATO, 2022).

2.2 Antígeno

São tidos como antígenos qualquer invasor ao corpo, podendo ser vírus, fungos, bactérias etc. Com o antígeno dentro do nosso organismo, o sistema de defesa é ativado para gerar uma resposta imunitária e assim combater aquele invasor. Em alguns casos o sistema imunológico pode até entender que algumas células do corpo são antígenos e acabam atacando-as como se fossem invasores, esse é exemplo comum em pessoas que possuem doenças autoimunes. (FORATO *segundo* NIH, 2022).

2.3 Sensibilidade X Especificidade

Muitas pessoas confundem ainda os termos em questão, achando por diversas vezes que são a mesma coisa. Portanto, é importante deixar claro a diferença entre eles.

É chamada de Sensibilidade a capacidade do teste de detectar o agente infeccioso em pacientes que realmente estão infectados (SILVA). Dando assim, uma porcentagem de resultados positivos verdadeiros.

Já a especificidade é definida pela capacidade do teste proporcionar o resultado negativo em pacientes realmente sem o agente infeccioso. Gerando a porcentagem de negativos verdadeiros (Unesp). É considerado um teste de alta especificidade aquele que consegue gerar pouquíssimos resultados falso-positivos.

2.4 Cut off - Ponto de corte

Este termo está diretamente relacionado com a sensibilidade e especificidade dos testes. O *Cut-off* se trata de um determinado valor numérico onde o teste pode confirmar a positividade do resultado (SOPELETE, 2005). Sendo que, daquele número para cima é esperado o resultado positivo e, abaixo do número é esperado o resultado negativo.

A imagem abaixo exemplifica de forma simples o termo, por exemplo, no caso do HIV a partir de 50 UI/mL no organismo o NAT já consegue atestar o resultado positivo para a infecção. Agora, caso o indivíduo esteja com uma infecção mais recente, dentro do período de “janela”, no qual esteja com valores menores que 50 UI/mL, o resultado será um falso-negativo.

Sensibilidade		NAT
HIV	=>	50 UI/mL
HCV	=>	11 UI/mL
HBV	=>	4 UI/mL

Alta sensibilidade na detecção de janela imunológica

Fonte: SILVA, [201-?].

Quanto menor for o *cut-off* de um teste, mais sensível ele será, pois isso indica que é necessária uma quantidade baixa do Ag/Ac (Antígeno/Anticorpo) para o teste conseguir gerar o resultado positivo verdadeiro.

Nas rotinas laboratoriais, ambos os termos abordados são de extrema importância. A portaria 1353/2011 - Ministério da Saúde, impõe que laboratórios que realizam sorologias, usem testes que proporcionem comprovadamente uma alta especificidade e sensibilidade.

Dessa forma espera-se garantir segurança para os pacientes na questão da veracidade dos resultados de exames, principalmente os de sorologias muito utilizados em bancos de sangue.

2.5 Janela Imunológica

Hoje em dia o termo “janela imunológica” é mais conhecido, principalmente na medicina transfusional. Este termo compreende o período em que o organismo leva para produzir uma quantidade de anticorpos (ou no caso do NAT a quantidade mínima de antígeno), após a infecção, suficientes para serem detectados pelo teste sorológico. Ou seja, dentro desse período a pessoa tem a doença, mas o teste não é capaz de apontar o resultado

positivo (PINHEIRO, 2022).

Isso pode ocasionar um resultado falso-negativo, por isso, em bancos de sangue, por exemplo, é feita uma entrevista com o doador para entender se houve relação íntima sem proteção ou outro tipo de exposição e, a quanto tempo ocorreu. Pois, se ainda estiver no período de janela imunológica da doença, não poderá ser constatada a presença do patógeno nos exames sorológicos.

Também devemos destacar que os vírus possuem períodos de janela imunológicas diferentes, alguns levando mais tempo para detecção e outros, menos tempo.

2.6 NAT

Frente a limitação dos testes sorológicos da época e, um número crescente de infectados por Hepatite C após recebimento de derivados do sangue, no fim dos anos 90 foi iniciado o uso do NAT.

Seu uso se tornou complementar aos testes de Elisa e outros, que se baseiam na pesquisa de anticorpos produzidos após a infecção. (KAMEDA et al. segundo BUSCH; DODD, 2000; CHANDRASHEKAR, 2014; HOURFAR et al., 2008). Por isso, desde o seu ano de implementação, países como Estados Unidos, Japão, entre outros, adotaram o uso dos testes NAT.

Diferentemente do Elisa, o teste de ácido nucleico identifica não os anticorpos produzidos pelo organismo com a doença, mas sim a presença do antígeno no sangue (SILVA).

O NAT utiliza do método de biologia molecular no qual utiliza as quantidades baixas de DNA ou RNA viral presente no sangue e replica várias vezes, fazendo assim sua amplificação. Isso ocorre através do uso da Reação em Cadeia de Polimerase – conhecido como PCR em tempo real. Tal método auxilia na identificação precoce do patógeno em comparação ao Elisa, diminuindo significativamente o período de janela imunológica (VAZQUEZ-PERTEJO, 2022).

É por conta dessa metodologia diferente, da pesquisa do antígeno no organismo ao invés do anticorpo, que faz com que o NAT seja mais sensível e, conseqüentemente, tenha uma janela imunológica bem menor quando comparado aos testes convencionais que se baseiam nos anticorpos gerados após a infecção do indivíduo (SILVA).

Na figura abaixo podemos observar o tempo médio de janela imunológica dos vírus: HIV, Hepatite B e Hepatite C. Em comparação ao tempo que a tecnologia NAT leva para detectar o antígeno presente no organismo.

Agente Infeccioso	Sorologia/dias	NAT/dias
HIV	22	8
HCV	70	10
HBV	60	10

Fonte: SILVA, [201-?].

2.7 NAT no Brasil

A tentativa de implementação obrigatória do NAT no Brasil, vem sendo promovida desde 2002 pelo Ministério da Saúde. No ano em questão houve a primeira portaria que abordava o uso obrigatório no país (Portaria 262/GM de 05 de fevereiro de 2002). Contudo, com o alto custo de importação dos insumos, baixa infraestrutura e falta de capacitação profissional, não houve muito sucesso (BRASIL,2002)

Com a dificuldade na inserção, foi lançada uma nova portaria (GM/112 29 de janeiro de 2004) que determinava que a implantação deveria ocorrer de forma gradativa e sem um prazo definido para conclusão do uso nacional. Essa portaria também evidenciou juntamente com estudos feitos em 2003 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) que se faria necessário a aplicação mais ativa de recursos públicos para a promoção da metodologia em questão na saúde pública brasileira (BRASIL, 2004).

Levando em consideração os custos para a aplicação da nova tecnologia no país, foi iniciado o desenvolvimento do NAT brasileiro com as ações em conjunto da Bio-Manguinhos/FIOCRUZ, o Departamento de Virologia da UFRJ e também o IBMP (Instituto de Biotecnologia do Paraná).

Foi então que através da equipe contendo virologistas e biólogos moleculares que foi desenvolvido o kit de diagnóstico (CGSH, 2009).

O kit NAT da Bio-Manguinhos/FIOCRUZ teve seu registro aprovado em dezembro de 2010 pela ANVISA, podendo assim ser utilizado nos serviços de hemoterapia públicos do

Brasil (PETRY segundo CGSH, 2013).

Foi então que através da portaria 1353/2011 do Ministério da Saúde, foi assinado em novembro de 2013 que o uso do kit NAT passa a ser obrigatório na rede de bancos de sangue do Brasil. Medida muito importante para a adoção expressiva dessa metodologia, mirando assim na segurança transfusional no país (BRASIL, 2013).

3 CONCLUSÃO

Com este artigo podemos destacar a grande relevância do teste Ácido nucleico, visto que, o mesmo consegue de fato garantir uma maior segurança para a triagem sorológica nos bancos de sangue.

Isso fica mais evidente quando é comparado, em termos de janela imunológica, o período de detecção do NAT e de outros testes como Elisa. É visto como principal diferença entre os métodos o princípio de ação de cada um. Onde, o Elisa se baseia na produção dos anticorpos após a doença e o NAT funciona na identificação do próprio agente infeccioso no indivíduo.

Podemos também concluir o quão importante é a busca por novas técnicas analíticas e o avanço exponencial da ciência, visando sempre a promoção da prevenção, segurança e o tratamento precoce de doenças no mundo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL, Ministério da Saúde. **Portaria nº 262/2002**. Brasil, 2015. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2002/prt0262_05_02_2002.html. Acesso em: 19 mar. 2024.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Portaria nº 112/2004**. Brasil, 2004. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2004/prt0112_29_01_2004.html#:~:text=Disp%C3%B5e%20sobre%20a%20implanta%C3%A7%C3%A3o%2C%20no,\)%2C%20para%20HIV%20e%20HCV](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2004/prt0112_29_01_2004.html#:~:text=Disp%C3%B5e%20sobre%20a%20implanta%C3%A7%C3%A3o%2C%20no,)%2C%20para%20HIV%20e%20HCV). Acesso em: 19 mar. 2024.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Portaria nº 2.712**. Brasil, 2013. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/aceso-a-informacao/acoes-e-programas/doacao-de-sangue/doacao-de-sangue#:~:text=A%20Portaria%20N%C2%BA%202.712%2C%20de,HCV%20em%20doadores%20de%20sangue>. Acesso em: 19 mar. 2024.

CÂMARA, B. *apud* CALEGARIO, T. A. O uso do NAT (Nucleic Acid Technologies) no Banco de Sangue. *In*: Biomedicina Padrão. **Biomedicina Padrão: o blog da biomedicina**.

[S. I.]. 09 out. 2013. Disponível em:
<https://www.biomedicinapadrao.com.br/2011/10/nucleic-acid-technologies-nat.html>. Acesso em: 09 fev. 2024.

CGSH, Ministério da Saúde. **Projeto Piloto – Avaliação preliminar da plataforma brasileira de testes NAT multiplex HIV/HCV e seus processos na rotina de um laboratório da Hemorrede Oficial**. Brasília, 2009. Disponível em:
<https://www.cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/202004/27105123-relatorio-gestao-2009-cgsh.pdf>. Acesso em: 19 mar. 2024.

FORATO, F. **Qual é a diferença entre antígeno e anticorpo?**. In: Canaltech. [S. I.], 5 abr. 2022. Disponível em:
<https://canaltech.com.br/saude/qual-e-a-diferenca-entre-antigeno-e-anticorpo-213191/>. Acesso em: 22 mar. 2024.

KAMEDA, K.; CORRÊA, M. C. D. V.; CASSIER, M. *apud* BUSCH; DODD, 2000; CHANDRASHEKAR, 2014; HOURFAR et al., 2008. A incorporação do teste diagnóstico baseado na amplificação de ácidos nucleicos (NAT) para triagem de sangue no SUS: arranjos tecnológicos para a nacionalização do “NAT brasileiro”. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 28, n. 1, p. e280108, jan. 2018. Disponível:
<https://www.scielo.br/j/physis/a/HycPcQFZLQtCWBjrWDZYtjg/?lang=pt#ModalHowcite>. Acesso em: 19 mar. 2024.

PETRY, A *apud* CGSH, 2013. **Implantação dos Testes de Amplificação de Ácidos nucleicos HIV/HCV Bio-Manguinhos® na triagem de doadores de sangue: questões epidemiológicas e logísticas**. 2013. Tese (Doutorado em Saúde Coletiva) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013. Disponível em:
<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/122773/325326.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 19 mar. 2024.

PINHEIRO, P. EXAME HIV: JANELA IMUNOLÓGICA, TESTE RÁPIDO, ELISA. In: **MD.Saúde**. [S. I.], 11 dez. 2022. Disponível em:
<https://www.mdsaude.com/doencas-infecciosas/dst/sorologia-hiv/>. Acesso em: 21 fev. 2024.

Silva, S. G. C. **NAT - Testes de Ácidos nucleicos**. [201-?]. Disponível em:
https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/Suely_Silva_Testes_Acido_nucleico.pdf. Acesso em: 07 fev. 2024.

SOPELETE, M.C. **Métodos de análise em estudos sobre diagnóstico**. In: MINEO, J.R., SILVA, D.A.O., SOPELETE, M.C., LEAL, G.S., VIDIGAL, L.H.G., TÁPIA, L.E.R., and BACCHIN, M.I. Pesquisa na área biomédica: do planejamento à publicação [online]. Uberlândia: EDUFU, 2005, pp. 203-223. ISBN: 978-85-7078-523-7.
<<https://doi.org/10.7476/9788570785237.0009>>. Acesso em: 15 mar. 2024.

UNESP. [201-?]. Disponível em:
https://www1.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/MicrobiologiaeImunologia/metodos_sorologicos.pdf. Acesso em: 07 fev. 2024.

VAZQUEZ-PERTEJO, M. T. Métodos de identificação baseados em ácidos nucleicos. *In:* **Manual MSD**. [202-]. Disponível em:
<https://www.msdmanuals.com/pt-br/profissional/doen%C3%A7as-infecciosas/diagn%C3%B3stico-laboratorial-das-doen%C3%A7as-infecciosas/m%C3%A9todos-de-identifica%C3%A7%C3%A3o-baseados-em-%C3%A1cidos-nucleicos>. Acesso em: 19 mar. 2024.