ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

ESTUDO COMPARATIVO DE METODOLOGIAS DE TRIAGEM PARA HIV E HCV EM DOADORES DE SANGUE

DELVÂNIA DE SOUZA LIMA

Setembro / 2011

Brasília – DF

DELVÂNIA DE SOUZA LIMA

ESTUDO COMPARATIVO DE METODOLOGIAS DE TRIAGEM PARA HIV E HCV EM DOADORES DE SANGUE

Projeto de pesquisa apresentado ao programa de pós-graduação em Hematologia "LATO SENSU" sob orientação do Prof. Dr. Paulo Cesar Naoum e co-orientação da Profª. Barbara Maciel Sidou Pimentel, doutoranda em Biologia Molecular pela Universidade de Brasília, como requisito parcial para obtenção do título de especialista.

Setembro / 2011

Brasília – DF

SUMÁRIO

I. RESUMO 04

II. ABSTRACT 06

III. INTRODUÇÃO 07

IV. OBJETIVOS

IV.a OBJETIVO GERAL 11

IV.b OBJETIVOS ESPECÍFICOS 11

V. MATERIAL E MÉTODOS 12

VI. RESULTADOS E DISCUSSÃO 13

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 20

I. RESUMO

A partir da década de 1980, com a descoberta do vírus HIV, a segurança do sangue doado passou a ser prioridade e com isso ocorreu a necessidade de aumento da sensibilidade dos testes de triagem. Os testes sorológicos para HIV e HCV são baseados na detecção de anticorpos e possuem uma janela imunológica de 16-20 e 70 dias, respectivamente. A mais recente metodologia aplicada na triagem de doadores de sangue é a metodologia NAT que utiliza a técnica de PCR para amplificar e detectar o RNA viral presente no plasma do indivíduo infectado. Essa técnica apresenta redução da janela imunológica de detecção para 10-12 e 10 dias para HIV e HCV, respectivamente.

A implantação do teste NAT para detecção do RNA viral dos vírus HIV e HCV na Fundação Hemocentro de Brasília (FHB) foi concluída em abril de 2011 e desde o dia 23 de maio todas as amostras dos doadores passam pela triagem do vírus HIV por Elisa, Quimioluminescência e NAT e de HCV por Quimioluminescência e NAT.

O objetivo desse trabalho é realizar um estudo comparativo e uma análise crítica entre as metodologias de triagem para os vírus HIV e HCV em doadores de sangue da Fundação Hemocentro de Brasília desde a implantação da Plataforma NAT em abril de 2011. Para isso foram utilizados dados quantitativos dos resultados obtidos pelas metodologias ELISA, Quimioluminescência e NAT para triagem dos vírus HIV e HCV em doadores da FHB, durante três meses de 2011 (junho, julho e agosto), analisando-se as concordâncias e discrepâncias entre os resultados desses testes.

Comparando-se os resultados dos testes de triagem para os vírus HIV (ELISA, Quimioluminescência e NAT) e HCV (Quimioluminescência e NAT) de doadores de sangue da FHB observou-se uma concordância entre os testes para HIV de 99,81% e para HCV de 99,87%. Entretanto considerando-se apenas os resultados positivos a porcentagem de concordância entre os testes para HIV foram de apenas 14,71% e para HCV de apenas 13,63%, sendo que a maior parte desses casos trata-se de resultados falso-positivos nas metodologias ELISA e Quimioluminescência.

Com esses dados pode-se concluir que a inclusão do teste NAT em bancos de sangue se mostra de grande importância não só pela redução do período de janela imunológica, como também pelo esclarecimento de resultados falso-positivos obtidos pelos métodos sorológicos que culminam no

descarte de bolsas, inaptidão do doador, e muitas vezes em implicações jurídicas. A análise comparativa desses resultados continuará a ser realizada rotineiramente na FHB.

II. ABSTRACT

Since 1980s, with the discovery of HIV, the safety of donated blood has become a priority and with this the necessity of to increase the sensitivity of screening tests. Serological tests for HIV and HCV are based on the detection of antibodies and have a window period of 16-20 days and 70, respectively. The latest methodology in screening blood donors is the NAT method that uses the PCR to amplify and detect viral RNA in plasma of the infected individual. This technique has reduced the window period of detection for 10-12 and 10 days for HIV and HCV, respectively.

The deployment of NAT test for the detection of viral RNA of HIV and HCV in the (FHB) was completed in April 2011 and since May, 23rd all samples pass through the donor screening for HIV by the methodologies of Elisa, Chemiluminescence and NAT, and HCV by the methodologies of Chemiluminescence and NAT.

The aim of this research is to perform a comparative study and a critical analysis of methodologies for screening for HIV and HCV in blood donors of the Fundação Hemocentro de Brasília since the implementation of NAT platform in April 2011. So we used quantitative data of the results obtained by ELISA, chemiluminescence and NAT methods to screen for HIV and HCV in donors of FHB, during three months of 2011 (june, july and august), analyzing the agreements and discrepancies between the results of these tests.

Comparing the results of screening tests for HIV (ELISA, Chemiluminescence and NAT) and HCV (chemiluminescence and NAT) of blood donors of FHB was observed a correlation between HIV tests and 99.81% HCV 99.87%. However, considering only the positive correlation between the percentage of HIV tests were only 14.71% for HCV and only 13.63%, and most of these cases it is false-positive results in ELISA and chemiluminescence methods.

With these data we can conclude that the inclusion of NAT testing in blood banks is shown of great importance not only for shortening the length of window period, but also for clarification of false-positive results obtained by serological methods that culminate in the disposal of grants, unsuitability of the donor, and often legal implications. The comparative analysis of these results will continue to be routinely performed in the FHB.

III. INTRODUÇÃO

Durante um longo tempo a transfusão sanguínea foi vista apenas como uma transmissão de material fisiológico, sem grandes riscos ao receptor. Apenas a partir da década de 1980, com a descoberta do vírus HIV, causador da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA/*AIDS*), a segurança do sangue doado passou a ser prioridade e, com isso a necessidade de realização de testes de triagem para doenças infecciosas cada vez mais sensíveis (Seitz & Heiden, 2010).

Dentre as doenças infecciosas que podem ser transmitidas pelo procedimento de transfusão sanguínea muitas são causadas por vírus e a redução da transmissão dessas doenças continua sendo um dos maiores alvos de estudos da área de hemoterapia. Dentre os vírus mais estudados podemos citar o HBV, causador da hepatite B, o HCV, causador da hepatite C, os vírus HIV (I e II), causadores da AIDS, dentre outros (Allain e*t al*, 2009 e Dwyre *et al*, 2011).

No Brasil, até a década de 1980, a doação de sangue era feita principalmente em instituições privadas sendo inclusive remunerada, porém após a descoberta do vírus HIV passou a ser um ato melhor regulamentado e fiscalizado (Barreto *et al*, 2005). Atualmente é obrigatória a realização de exames de triagem sorológica em doadores de sangue nos Serviço Hemoterápicos brasileiros para os vírus HBV, HCV, HIV I/II e HTLV I/II além de triagem para CHAGAS e SÍFILIS (RDC n.º 57 / ANVISA e PORTARIA MS n.º 1.353).

Os testes sorológicos para HIV e HCV são baseados na detecção de anticorpos, que reconhecem esses vírus, presentes no sangue do doador, e pesquisa de antígeno para HBV, porém existe um período entre a contaminação com o agente infeccioso e o surgimento de níveis detectáveis desses anticorpos no soro do indivíduo, período conhecido como "janela imunológica" (Abbas *et al*, 2000). O advento de novas metodologias de triagem de doadores de sangue vem aumentando a sensibilidade e especificidade dos testes realizados e consequentemente reduzindo o período de detecção da janela imunológica, propiciando uma maior segurança transfusional (Pillonel & Laperche, 2005).

A mais recente metodologia aplicada na triagem de doadores de sangue é a metodologia NAT (*Nucleic Acid Amplification Test*). O teste NAT utiliza a técnica de biologia molecular chamada PCR (*Polimerase Chain Reaction* - Reação em Cadeia da Polimerase) para amplificar e detectar o RNA

(ácido ribonucléico) viral presente no plasma do indivíduo infectado, sendo assim mais sensível que o teste sorológico, visto que pequenos níveis de RNA viral podem ser detectados logo no início da infecção, reduzindo o período da janela imunológica (Dodd *et al*, 2002 e Kucirka *et al*, 2011).

A metodologia NAT é capaz de detectar mais de um tipo de RNA viral na mesma reação e é obrigatória para a triagem de doadores de sangue em vários países. Alguns kits utilizados para esse diagnóstico são capazes de detectar dois vírus HIV e HCV e outros podem detectar simultaneamente os vírus HBV, HCV e HIV. Estudos comparativos feitos em diversos países como Estados Unidos, Alemanha e Itália, por exemplo, demonstram redução da janela imunológica de detecção do vírus HIV de 16-20 dias nos testes sorológicos para 10-12 dias para o teste NAT (Figura 1), de 70 para 10 dias para o vírus HCV (Figura 2) e de 50 para 39 dias para o HBV (Gallarda & Dragon, 2000, Nubling *et al*, 2009, Velati *et al*, 2008 e Zou *et al*, 2010).

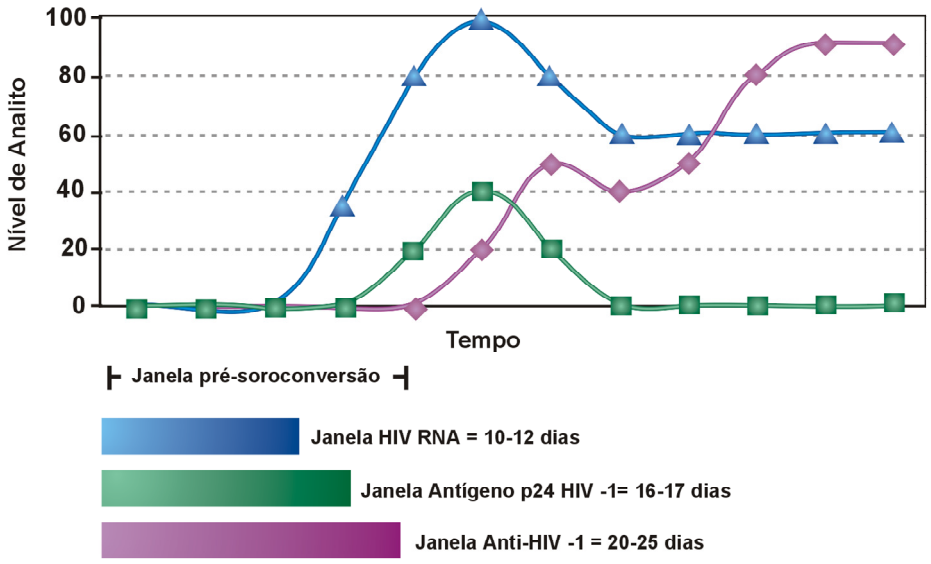

Figura 1. Representação esquemática da redução do período de janela imunológica com o teste para detecção de RNA viral de HIV. O teste de detecção de ácidos nucléicos para o vírus HIV reduziu o período de janela imunológica de 20-25 dias para 10-12 aproximadamente. (Adaptada de Gallarda & Dragon, 2000).

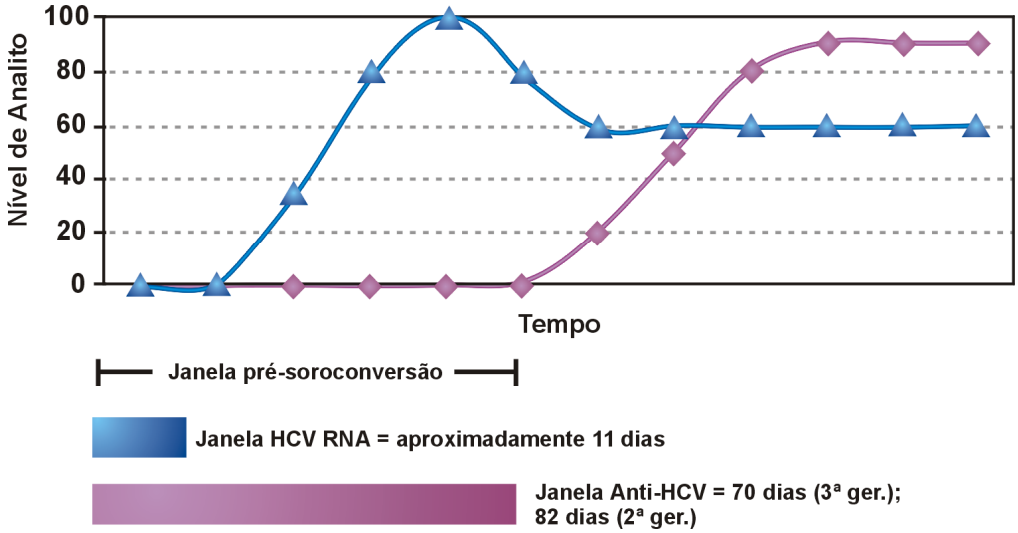

Figura 2. Representação esquemática da redução do período de janela imunológica com o teste para detecção de RNA viral de HCV. O teste de detecção de ácidos nucléicos para o vírus HCV reduziu o período de janela imunológica de 70 dias para 11dias aproximadamente. (Adaptada de Gallarda & Dragon, 2000).

Atualmente existe a obrigatoriedade para realização de duas metodologias de testes para o vírus HIV e uma para o vírus HCV (ANVISA, RDC n° 57), porém, a partir da portaria n° 262/2002 do Ministério da Saúde, o teste NAT passou a ser recomendado para todos os doadores de sangue do Brasil. Desde então vem sendo desenvolvido por Bio-Manguinhos/Fiocruz a plataforma NAT, com kit fabricado no próprio país, para detecção do RNA viral dos vírus HIV e HCV.

A plataforma para realização do teste NAT no Brasil está em processo de implantação e o teste já é realizado nos Hemocentro de São Paulo, Rio de Janeiro, Santa Catarina, Campinas, Bahia, Pernambuco e Brasília, com prospecção para implantação em todo o país nos próximos meses (Fonte: Bio-Manguinhos/Fiocruz, Brasil).

A implantação da Plataforma NAT para detecção do RNA viral dos vírus HIV e HCV na Fundação Hemocentro de Brasília (FHB) foi efetivada por Bio-Manguinhos em abril de 2011 e nos

meses de abril e maio foram realizados os processos de Q.I. (Qualificação de Instalação) e Q.O. (Qualificação Operacional) dos equipamentos que constituem a plataforma, o treinamento dos operadores e os processos de Validação e interfaceamento. A partir do mês de junho a plataforma foi considerada implantada e validada e desde então a realização do teste NAT em todas as amostras dos doadores passam pela triagem dos vírus HIV e HCV também por essa metodologia, além dos testes sorológicos já realizados de ELISA (HIV) e Quimioluminescência (HIV e HCV).

IV. OBJETIVOS

IV.a - OBJETIVO GERAL

O objetivo desse trabalho é realizar um estudo comparativo e uma análise crítica entre as metodologias de triagem para os vírus HIV e HCV em doadores de sangue da Fundação Hemocentro de Brasília desde a implantação da Plataforma NAT.

IV.b - OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar o número e os resultados dos exames para o vírus HCV realizados na FHB desde a implantação do teste NAT;

- Comparar o número e os resultados dos exames para o vírus HIV realizados na FHB desde a implantação do teste NAT;

- Verificar a existência de discrepâncias entre os testes comparados e a eficiência das metodologias empregadas;

- Comparar e fazer uma análise crítica entre os resultados obtidos nesse estudo com os resultados encontrados em estudos similares disponíveis na literatura.

V. MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de uma pesquisa quali-quantitativa, onde foram utilizados dados quantitativos dos resultados obtidos pelas metodologias de Quimioluminescência e NAT para o vírus HCV e ELISA, Quimioluminescência e NAT para triagem do vírus HIV em doadores da Fundação Hemocentro de Brasília, com um n = 14.952 doadores, para se comparar e avaliar a eficiência desses testes na detecção desses vírus.

A pesquisa foi realizada na Fundação Hemocentro de Brasília e os dados obtidos a partir dos Laboratórios de Sorologia e NAT disponibilizados no sistema informatizado da FHB, o SistHemo. Os dados somente foram coletados e avaliados após o projeto ter sido avaliado, aprovado e autorizado pelo Comitê de Ética da Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde (FEPECS/SES). Os instrumentos utilizados e que contém os dados coletados ficarão sob a responsabilidade da Gerência de Laboratórios do Doador da Fundação Hemocentro de Brasília.

Os sujeitos da pesquisa foram doadores de sangue da FHB em uma amostragem de 14.952, no entanto a pesquisa foi feita apenas com os dados numéricos, os dados dos doadores não foram investigados.

Os dados numéricos foram tratados com os métodos estatísticos de coeficiente Kappa, *Cohen's Kappa* para as comparações 2 a 2 e *Fleis's kappa* para a comparação dos três testes para HIV, e os resultados obtidos com esse estudo foram também comparados com dados de estudos similares disponíveis na literatura científica nacional e internacional.

Critério de inclusão para a pesquisa: Amostra de doadores de sangue no período de 01 de junho a 31 de agosto de 2011.

Critério de exclusão para a pesquisa: Não ser doador de sangue.

VI. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de se comparar as diferentes metodologias de triagem para os vírus HCV e HIV realizadas atualmente na Fundação Hemocentro de Brasília e se verificar a real importância da inclusão do teste NAT na detecção desses vírus foram analisados os graus de concordâncias entre os testes aplicados.

Para verificar o nível de concordância entre testes diagnósticos, opta-se, em geral, por duas alternativas: construir um modelo que descreva a estrutura da concordância e discordância entre os testes ou utilizar-se de um índice, que descreva a força da concordância através de um número-resumo. Neste último caso o índice mais popular é conhecido como coeficiente Kappa, que compara o nível de concordância observado com o esperado para avaliações independentes (Agresti, 2007 e Landis & Koch, 1977).

No estudo em questão, realizaram-se testes em paralelo a fim de identificar ocorrências do vírus HCV e HIV, ou seja, dois ou mais testes foram realizados, sendo que qualquer resultado positivo identificava um caso. Portanto, a probabilidade de concordância entre estes, devido a sua independência, é definida por: $\sum_i \pi_{i+} \pi_{+i}$, e o coeficiente Kappa é calculado através da razão entre a diferença da concordância observada e esperada pela diferença de 1 menos a concordância esperada:

$$k = \frac{\sum \pi_{ii} - \sum \pi_{i+} \pi_{+i}}{1 - \sum \pi_{i+} \pi_{+i}}$$

A fim de analisar o resultado, tem-se que o índice igual 0 (zero) representa concordância nada além do que a esperada, e que igual a 1 (um) representa uma concordância perfeita maior do que o acaso. Ou seja, quanto mais forte a concordância entre as distribuições marginais, maior o valor de kappa:

Valores de Kappa	Interpretação
<0	Sem concordância / Concorda ao acaso
0-0.19	Concordância Pobre
0.20-0.39	Concordância Justa
0.40-0.59	Concordância Moderada
0.60-0.79	Concordância Substancial
0.80-1.00	Concordância quase Perfeita

Caso, a concordância entre estes fosse perfeita, ou seja, maior do que aquela espera pelo acaso se poderia dispensar um dos métodos para diagnóstico do resultado. Porém, se os testes não tivessem uma concordância forte, o melhor é a continuidade da realização dos testes em paralelo, já que é sabido que estes aumentam a sensibilidade na triagem sorológica, ajudando a evitar a transfusão de sangue possivelmente contaminado.

Comparação entre os testes de triagem para o Vírus HCV (comparação 2 a 2)

Para cálculo do coeficiente *Kappa*, utilizou-se programa computacional R (cohen.kappa {psych}) como ferramenta estatística. Na comparação entre a metodologia QUIMIO e NAT para detecção do vírus HCV (Tabela 1) encontrou-se Kappa igual a 0,24 em um intervalo de confiança de [0,018; 0;46], ou seja, há uma concordância justa, porém não perfeita. Como o limite inferior do intervalo de confiança é muito próximo a zero indica que a concordância pode ser igual àquela esperada pelo acaso.

Tabela 1 – Comparação entre as metodologias QUIMIO (Quimioluminescência) e NAT para o vírus HCV.

HCV		QUIMIO		TOTAL
		POSITIVO	NEGATIVO	
NAT	POSITIVO	3	0	**3**
	NEGATIVO	19	14.930	**14.949**
TOTAL		**22**	**14.930**	**14.952**

A partir da comparação entre os testes de triagem para o vírus HCV realizados na Fundação Hemocentro de Brasília nos meses de junho, julho e agosto de 2011 observou-se que dentre os **14.952** resultados analisados a concordância total entre os testes de detecção do vírus HCV (metodologias de Quimioluminescência e NAT) foi de 99,87%. Entretanto a porcentagem de concordância entre os resultados positivos foi de apenas 13,63%.

Dentre os 22 resultados positivos totais encontrados nesses meses de análise 19 foram discrepantes, sendo todos eles resultados positivos no teste sorológico e negativos no teste NAT. Não foi observada nenhuma detecção de período de janela imunológica pelo teste NAT nesse período, o que já poderia ser esperado devido ao curto espaço de tempo analisado e baixa amostragem de doadores, corroborado por dados anteriores como os consolidados por Scuracchio *et al,* 2007, na cidade de São Paulo, Brasil, onde a razão de janelas imunológicas encontradas após a implantação do teste NAT foi de 1 em 24.000 doadores de sangue.

A baixa porcentagem de concordância entre os resultados positivos pode ser ocasionada por dois motivos, o mais comum trata-se possivelmente de resultados falso-positivos encontrados no teste de triagem sorológica (neste caso, Quimioluminescência), o que já é esperado, visto que o mais importante para os testes de triagem realizados em bancos de sangue é a sensibilidade, acima da especificidade (Dwyre *et al*, 2011 e Nubling *et al*, 2009) para se garantir dessa forma a exclusão de qualquer possibilidade de transmissão de doenças infecciosas via transfusão sanguínea. A outra causa possível, porém em limitadas situações é a existência de indivíduos portadores desses vírus que apresentam um alto título de anticorpos circulantes (facilmente detectáveis nos testes sorológicos) e baixa carga viral (não-detectável no teste NAT) (Bio-Manguinhos – Fiocruz).

A partir dessas análises e discussões concluiu-se que, devido ao fato dos testes não possuírem forte concordância, a melhor opção a ser adotada pelos bancos de sangue é realizar a aplicação de ambos os testes para detecção do vírus HCV.

Comparação entre os testes de triagem para o Vírus HIV (comparações 2 a 2)

Em relação à comparação entre os testes de triagem para o vírus HIV observou-se que dentre os **14.952** resultados analisados a concordância total entre os testes de detecção desse vírus (metodologias de Quimioluminescência, ELISA e NAT) foi de 99,81%. Entretanto a porcentagem de concordância total entre os resultados positivos foi de apenas 14,71%.

Para comparação entre a metodologia QUIMIO e NAT para detectar o vírus HIV (Tabela 2) encontrou-se Kappa igual a 0,45 em um intervalo de confiança de [0,20; 0,71], o que indica por sua vez uma concordância moderada. Considerando o fato de a concordância perfeita ser igual a um e o elevado grau de relevância da detecção do vírus HIV a fim de evitar uma transfusão inadequada, ressalta-se mais uma vez a importância da realização de ambos os testes diagnósticos.

Tabela 2 – Comparação entre as metodologias QUIMIO e NAT para o vírus HIV.

HIV		QUIMIO		TOTAL
		POSITIVO	NEGATIVO	
NAT	POSITIVO	5	1	**6**
	NEGATIVO	11	14.935	**14.946**
TOTAL		**16**	**14.936**	**14.952**

Já na comparação entre a metodologia ELISA e NAT para detectar o vírus HIV (Tabela 3) encontrou-se Kappa igual a 0,34 em um intervalo de confiança de [0,14; 0;54]. Novamente um valor abaixo do idealizado, corroborando a importância de ambos os testes já que não há concordância perfeita.

Tabela 3 – Comparação entre as metodologias ELISA e NAT para o vírus HIV.

HIV		ELISA		TOTAL
		POSITIVO	NEGATIVO	
NAT	POSITIVO	6	0	**6**
	NEGATIVO	23	14.923	**14.946**
TOTAL		**29**	**14.923**	**14.952**

Por fim, na comparação entre a metodologia ELISA e QUIMIO para detectar o vírus HIV (Tabela 4) encontrou-se Kappa igual a 0,52 em um intervalo de confiança de [0,35; 0;70]. Dentre todos os resultados já apresentados, este foi o que apresentou maior concordância, porém concordância não suficientemente alta para dispensar a aplicação de um dos testes.

Tabela 4 – Comparação metodologia ELISA e QUIMIO para o vírus HIV

HIV		ELISA		TOTAL
		POSITIVO	NEGATIVO	
QUIMIO	POSITIVO	12	5	**17**
	NEGATIVO	17	14.918	**14.935**
TOTAL		**29**	**14.923**	**14.952**

Comparação entre os testes de triagem para o Vírus HIV (comparação entre os 3 testes)

Para a comparação dos três testes para triagem do vírus HIV entre si (Tabela 5) utilizou-se o teste de *Fleis's kappa*, que é calculado de forma similar ao *Cohen's Kappa*, porém ao contrário deste, aquele é possível avaliar a concordância entre mais de dois testes. Este coefieciente foi igual a **0,44** indicando concordância moderada entre os testes, ou seja, a concordância não é significativa a fim de concluir-se pelo descarte de algum dos métodos.

Tabela 5 – Comparação entre as metodologias QUIMIO, ELISA e NAT para o vírus HIV.

HIV				NAT		TOTAL
				POSITIVO	NEGATIVO	
ELISA	POSITIVO	QUIMIO	POSITIVO	5	7	**12**
			NEGATIVO	**1**	16	**17**
	NEGATIVO	QUIMIO	POSITIVO	0	5	**5**
			NEGATIVO	0	14.918	**14.918**
TOTAL				**6**	**14.946**	**14.952**

Em resumo, dentre o total de 34 resultados positivos encontrados **29** foram discrepantes, sendo 7 com resultados *positivos* na QUIMIO e no ELISA e *negativo* no NAT, 1 com ELISA e NAT *positivos* e QUIMIO *negativo*, 5 *positivos* apenas na QUIMIO e 16 *positivos* apenas no ELISA (Tabela 5). Novamente a baixa porcentagem de concordância entre os resultados positivos trata-se possivelmente de resultados falso-positivos nos testes de ELISA e Quimioluminescência, o que já é esperado conforme citado previamente.

Dentre os casos de discrepância encontrados para os testes de HIV aquele que obteve resultados de QUIMIO negativo e ELISA e NAT positivos foi considerado de grande relevância, pois trata-se da detecção de um período de janela imunológica para o teste de Quimioluminescência. O resultado do teste de ELISA para essa amostra foi positivo, porém com título de anticorpos baixo, que poderia ser considerado um resultado falso-positivo caso não tivesse sido efetuado o teste NAT nessa amostra, onde foi detectada uma altíssima carga viral (caracterizada pelo consumo de todos os reagentes da reação de amplificação – fonte Bio-Manguinhos/Fiocruz). A análise desse caso revela também a necessidade de que ao menos um dos testes sorológicos aplicados para a triagem do vírus HIV seja um teste de terceira geração "combo" capaz de detectar não só anticorpos como também o antígeno p24, como o que é utilizado atualmente na Fundação Hemocentro de Brasília, necessidade já apontada anteriormente por outros autores como Velati *et al,* 2008.

Com esses resultados concluiu-se que a inclusão da metodologia NAT para a triagem dos vírus HCV e HIV em bancos de sangue não só é importante pela redução do período de janela imunológica

como também para a elucidação de casos de resultados falso-positivos encontrados nas metodologias sorológicas, que podem levar inclusive a implicações legais para os bancos de sangue.

Além disso, caso os testes apresentassem concordância quase-perfeita ou perfeita seria dispensável a aplicação de um deles, já que ambos apresentariam praticamente os mesmos diagnósticos. Porém, observou-se que a concordância não é forte o suficiente, podendo assim fazer parte do acaso.

Dados como esse já foram relatados em outros países após a inclusão do teste NAT na rotina de triagem em bancos de sangue, como na Itália (Velati *et al,* 2008) onde verificou-se alguns casos de janelas imunológicas detectáveis apenas pelo NAT (27 para HCV e 14 para HIV) ao longo de 6 anos de estudo e baixo grau de correlação entre os dados dos testes sorológicos e do teste NAT. Portanto, para assegurar sangue de qualidade ao paciente, o que é parte da missão da Fundação Hemocentro de Brasília, recomenda-se a continuidade da aplicação dos testes analisados neste trabalho em paralelo e não a exclusão de algum deles, a fim de aumentar a sensibilidade na triagem dos doadores.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS A., LICHTMAN A., POBER J. (2000) Cellular and Molecular Immunology. W. B. Saunders Company 4 ed.

AGRESTI, A. (2007). An introduction to categorical data analysis. 2º ed. New Jersey: Wiley Series in Probability and Statistics.

ALLAIN J. P., STRAMER S. L., CARNEIRO-PROIETTI A. B. F., MARTINS M. L., LOPES DA SILVA S. N., RIBEIRO M., PROIETTI F. A., REESINK H. W. (2009). Transfusion-transmitted infectious deseases. *Biologicals* 37: 71-77.

ANVISA, Resolução RDC n° 57, de 16 de dezembro de 2010. Determina o Regulamento Sanitário para Serviços que desenvolvem atividades relacionadas ao ciclo produtivo do sangue humano e componentes e procedimentos transfusionais.

BARRETO C. C., SABINO E. C., GONÇALEZ T. T., LAYCOCK M. E., PAPPALARDO B. L., SALLES, N. A., WRIGHT D. J., CHAMONE D. F., BUSCH M. P. (2005) Prevalence, incidence and residual risk of human immunodeficiency vírus among community and replacement first-time blood donors in São Paulo, Brazil. *Tranfusion* 45:1709-1714.

DODD R. Y., NOTARI E. P., STRAMER E. L. (2002) Current prevalence and incidence of infectious desease markers and estimated window period risk in the American Red Croos blood donor population. *Transfusion* 42:975-979.

DWYRE D. M., FERNANDO L. P., HOLLAND P. V. (2011) Hepatitis B, hepatitis C and HIV transfusio-transmitted infections in the 21st century. *Vox Sanguinis* 100:92-98.

GALLARDA, J. L., DRAGON, E. (2000) Blood screening by nucleic acid amplification technology: current issues, future challenges. *Mol Diagn.*5(1):11-22.

JACKSON B. R., BUSCH M. P., STRAMER S. L., AUBUCHON J. P. (2003) The cost-effectiveness of NAT for HIV, HCV and HBV in whole-blood donations. *Transfusion* 43:721-729.

KUCIRKA L. M., SARATHY H., GOVINDAN P., WOLF J. H., ELLISON T. A., HART L. J., MONTGOMERY R. A., ROS R. L. SEGEV D. L. (2011) Risk of window period HIV infection in high infectious risk donors: Systematic review and meta-analysis. *American Journal of Transplantation* 11:1176-1187.

LANDIS JR, KOCH GG. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics 1977; pág. 159-174

NUBLING C.M., HEIDEN M., CHUDY M., KRESS J., SEITZ R., KELLER-STANISLAWSKI B, FUNK M. B. (2009) Experience of mandatory nucleic acid test (NAT) screening across all blood organizations in Germany: NAT yield versus breakthrough transmissions. *Transfusion* 49:1850-1858.

PILLONEL J. & LAPERCHE S. (2005) Trends in risk of tation style for this article: Pillonel J, Laperche S. Trends in risk of transfusion-transmitted viral infections (HIV, HCV, HBV) in France between 1992 and 2003 and impact of nucleic acid testing (NAT). *Euro Surveill* 10(2):pii=519.

PORTARIA 262/2002, de 05 de fevereiro de 2002, Ministério da Saúde, Brasil.

SCURACCHIO, P. S. P., POLI, M. C. C., LEMOS, M. M. M., FILHO, A. G. O., SALLES, N. A., CHARMONE, D. A. F., MAGRI, M., CAVALCANTE, N. J. F., COLLELA, R. (2007) Detection of HIV-1 infection in blood donors during the immunological window period using the nucleic acid-amplification technology. *Transfusion Medicine* 17: 200–204.

SEITZ R. & HEIDEN M. (2010) Quality and Safety in Blood Supply in 2010. *Transfusion Medicine and Hemotherapy* 37: 112-117.

VELATI C., ROMANÒ L., FOMIATTI L., BARUFFI L., ZANETTI R., SIMT RESEARCH GROUP. (2008) Impact of nucleic acid testing for hepatitis B vírus, hepatitis C vírus and human immunodeficiency vírus on the safety of blood supply in Italy: a 6-year survey. *Transfusion* 48:2205-2213.

ZOU S., DORSEY K. A., NOTARI E. P., FOSTER G.A., KRYSZTOF D. E., MUSAVI F., DODD R. Y., STRAMER S. L. (2010) Prevalence, incidence and residual risk of human immunodeficiency vírus and hepatitis C vírus infections amosng United States blood donors since the introduction of nucleic acid testing. *Transfusion* 50:1495-1504.