



## BIOLOGIA MOLECULAR E DOENÇAS INFECCIOSAS

*A técnica de PCR em tempo real é um poderoso aliado ao diagnóstico com sensibilidade, precisão, velocidade e capacidade de quantificação.*

O diagnóstico molecular evoluiu de forma dramática nas últimas décadas e um avanço da biotecnologia para o diagnóstico das doenças infecciosas foi o desenvolvimento da PCR (Reação em cadeia da Polimerase) em tempo real (RT-PCR). São utilizadas sondas de ácido nucléico (sondas genéticas ou primers), que são fragmentos de DNA ou RNA com estrutura complementar a uma sequência do ácido nucléico a ser detectado.

Dentre as inúmeras aplicações deste método está a detecção e quantificação do DNA e RNA em amostras biológicas para o diagnóstico e monitoramento da infecção pelo vírus HIV, o vírus da Hepatite B (HBV) e Hepatite C (HCV). Aliada aos exames sorológicos trata-se de alternativa “padrão-ouro” para um diagnóstico precoce e confiável de infecções frequentes, graves e muitas vezes silenciosas.

O método de PCR permite detectar o vírus na forma do seu RNA (HIV e Hepatite C) ou DNA (Hepatite B). Portanto, possui sensibilidade e especificidade como teste confirmatório no fluxograma de triagens sorológicas, especialmente na fase aguda da infecção pelo vírus HIV. De forma complementar, pode ser quantificada a “carga viral”, corresponde à dinâmica de produção e liberação de partículas virais na circulação dos indivíduos infectados. As principais indicações médicas da PCR quantitativa para um agente infeccioso são:

- Avaliar a progressão da doença
- Indicar o início da terapia
- Determinar a eficácia da terapêutica

Considerando a alta prevalência de pacientes infectados, os testes de biologia molecular representam não apenas a confirmação dos testes de triagem, mas o avanço no tratamento e orientação da terapêutica através da genotipagem.

O HCV foi um dos primeiros vírus descobertos por técnicas de biologia molecular e a detecção do RNA viral é aceita como “padrão ouro”. Em pacientes submetidos à hemodiálise ou transplante não é raro a coexistência de hepatite crônica com anti-HCV negativo, sendo necessário utilizar o teste PCR qualitativo.

Muitas infecções, tanto pelo vírus B quanto o vírus C são infecções “silenciosas” e podem evoluir para a cirrose e o câncer. Nos casos crônicos sem alteração de enzimas pode-se tratar de infecção curada ou ainda em atividade se for detectadas cópias virais por PCR.

Em se tratando do HIV, dados divulgados pelo Ministério da Saúde mostram que 734 mil pessoas no Brasil são portadoras, mas 20% não sabem que têm o vírus. O diagnóstico precoce e a adoção do tratamento com retrovirais, não apenas aos que possuem uma carga viral alta, é muito importante no combate à mortalidade.

No cenário mundial a infecção crônica pelo vírus HBV é responsável por 80% dos carcinomas hepatocelulares (CHC) primários o que o torna a décima causa de morte e o CHC o 5º câncer mais frequente. O resultado ideal no acompanhamento da infecção pelo vírus da hepatite B é a perda sustentada do antígeno de superfície (HbsAg), com ou sem soro conversão para anti-HBs. Para avaliar a infectividade e replicação viral em pacientes portadores crônicos deve-se usar o método de PCR qualitativa. A detecção de Anti-HBc isolado, pode ocorrer em vírus mutantes causando uma baixa produção de HbsAg ou ausência do HbeAg e são uma indicação para avaliação pelo método de PCR qualitativo.

Dentre as indicações de utilização da carga viral (HBV DNA quantitativo) no monitoramento dos pacientes estão os casos de HBeAg reagente com ausência de cirrose; hepatite viral crônica em crianças; coinfeção outros vírus (HDV, HCV).

Existem disponíveis para diagnóstico diferentes plataformas para a realização do exame com boa reprodutibilidade. Entretanto, recomenda-se que os resultados sejam comparados dentro do mesmo método, pois os princípios podem ser diferentes.

Atualmente estes testes estão sendo realizados no setor de biologia molecular do Lab Rede utilizando um sistema totalmente automatizado de extração de ácidos nucléicos com a metodologia PCR em tempo real, que elimina muitos erros operacionais e risco de contaminação entre amostras.

### Referências bibliográficas:

- 1-Manual de Carga Viral HIV:  
[http://www.aids.gov.br/sites/default/files/Manual\\_de\\_Carga\\_Viral\\_HIV\\_-\\_1.pdf](http://www.aids.gov.br/sites/default/files/Manual_de_Carga_Viral_HIV_-_1.pdf)
- 2-Protocolo Clínicas e Diretrizes Terapêuticas para o Tratamento da Hepatite Viral Crônica B e Coinfeções:  
[http://www.sbhepatologia.org.br/pdf/politicas\\_publicas/hepatiteB.pdf](http://www.sbhepatologia.org.br/pdf/politicas_publicas/hepatiteB.pdf)
- 3-HCV testing and linkage to care <http://www.hcvguidelines.org/printpdf/124->
- 4-Recent advances in molecular diagnostics of hepatitis B Virus: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4209528/pdf/WJG-20-14615.pdf>