



CURSO DE MEDICINA

LARA NASCIMENTO MENEZES LIMA

**COMPARAÇÃO DA ACURÁCIA DO NAT COM TESTES SOROLÓGICOS NA
DETECÇÃO DA INFECÇÃO PELOS VÍRUS DAS HEPATITES B E C EM
DOADORES DE SANGUE: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

SALVADOR

2023

Lara Nascimento Menezes Lima

**COMPARAÇÃO DA ACURÁCIA DO NAT COM TESTES SOROLÓGICOS NA
DETECÇÃO DA INFECÇÃO PELOS VÍRUS DAS HEPATITES B E C EM
DOADORES DE SANGUE: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Medicina da Escola Bahiana de Medicina e
Saúde Pública como requisito parcial para
aprovação no 4º ano de Medicina

Orientador: Marinho Marques da Silva Neto

Salvador

2023

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pelo dom da vida e por ter me conduzido nesta jornada com iluminação e com proteção.

Aos meus pais, Antonio Guilherme e Claudia, pelo amor e pelo apoio incondicionais. Obrigada por não medirem esforços para me oferecer a melhor formação acadêmica e pessoal. A minha irmã Lorena por todos esses anos de companheirismo e amor. A minha tia e madrinha Mara, por me receber em Salvador com todo zelo e amor. Aos familiares, pela compreensão pelos momentos de ausência e pelo cuidado durante este período.

Aos meus orientadores Marinho Marques Neto e Estela Luz pela oportunidade de desenvolvimento deste trabalho e pelo suporte incessante durante os dois anos que me permitiram chegar até aqui.

Ao professor de Metodologia da Pesquisa Juarez Pereira Dias por sua disponibilidade e pelo auxílio durante este trabalho.

Aos amigos de escola, Letícia, Anna Clara, Kourosh, Emilly e Liz, por mostrarem que o companheirismo e cuidado ultrapassam a barreira da distância física. Aos amigos do NEPA, pela união e pela parceria de sempre. A Aylla, Malu, Maria, Tani e Vini, por serem acaento nos momentos de dificuldade e por serem sinônimo de felicidade na faculdade e na vida.

RESUMO

Introdução: A transfusão de sangue é um procedimento terapêutico fundamental na medicina. Contudo, ainda é uma fonte potencial de transmissão dos vírus causadores das hepatites C e B. Por isso, a triagem clínica com exames sorológicos e exames de amplificação de ácidos nucleicos são necessários para a segurança transfusional. **Objetivos:** Comparar os resultados dos Testes de Amplificação de Ácidos Nucleicos (NAT) com o ELISA e Quimiluminescência na detecção das Hepatites B e C em doadores de sangue. **Métodos:** Esta revisão foi realizada com artigos por meio de buscas nas plataformas Pubmed/Medline, Lilacs, Scielo, Embase e Cochrane. Utilizou-se a estratégia PICO e os descritores foram obtidos no MeSH e no DeCS. Foram incluídos artigos observacionais com dados primários que avaliem o diagnóstico de HCV e de HBV em doadores de sangue, com testes sorológicos e NAT de forma pareada. Foram excluídos estudos que incluem apenas um dos vírus e os que incluem a detecção do HCV e HBV em outro grupo diferente de doadores de sangue. **Resultados:** A busca inicial identificou 891 artigos que foram triados, restando 11 artigos incluídos nesta revisão. A soroprevalência do HCV variou de 0,005% a 0,99% e do HBV de 0,03% a 1,74%. Já a prevalência detectada pelo NAT variou para HCV de 0 a 0,67% e para HBV de 0,01% a 1,7%. A concordância entre os dois testes foi superior a 99% na maioria dos estudos. **Conclusão:** Dessa maneira, as discrepâncias encontradas entre os resultados pelo NAT e pelos testes sorológicos evidenciam a diferença de sensibilidade e de especificidade dos métodos a depender do período de infecção do doador, reforçando a necessidade de uso de ambos os testes de forma complementar.

Palavras- Chave: HCV, HBV, Doadores de Sangue, Técnica de Amplificação de Ácido Nucleico e ELISA

ABSTRACT

Background: Blood transfusion is a fundamental therapeutic procedure in medicine. However, it is still a potential source of transmission of the viruses that cause hepatitis C and B. Therefore, clinical screening with serological tests and nucleic acid amplification tests are necessary for transfusion safety. **Objectives:** To compare the results of Nucleic Acid Amplification Tests (NAT) with ELISA and Chemiluminescence in the detection of Hepatitis B and C in blood donors. **Methodology:** This review was carried out between 2022 and 2023, through searches on the Pubmed/Medline, Lilacs, Scielo, Embase and Cochrane platforms. The PICO strategy was used, and the descriptors were obtained from MeSH and DeCS. Observational articles with primary data evaluating the diagnosis of HCV and HBV in blood donors, with serological tests and NAT in a paired manner, were included. Studies that include only one of the viruses and those that include the detection of HCV and HBV in a different group of blood donors were excluded. **Results:** The initial search identified 891 articles that were screened, leaving 11 articles included in this review. HCV seroprevalence ranged from 0.005% to 0.99% and HBV from 0.03% to 1.74%. The prevalence detected by NAT varied for HCV from 0 to 0.67% and for HBV from 0.01% to 1.7%. Agreement between the two tests was greater than 99% in most studies. **Conclusion:** Therefore, the discrepancies found between the results by NAT and serological tests highlight the difference in sensitivity and specificity of the methods depending on the donor's period of infection, reinforcing the need to use both tests in a complementary manner.

Keywords: HCV, HBV, Blood Donors, Nucleic Acid Amplification Technic e ELISA

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. OBJETIVOS	9
2.1 Geral	9
2.2 Específicos	9
3. REVISÃO DE LITERATURA	10
3.1 Vírus da hepatite B	10
3.2 Vírus da hepatite C	11
3.3 Metodologias diagnósticas para hepatites B e C: testes sorológicos e NAT	13
4. MÉTODOS	15
4.1 Desenho de Pesquisa	15
4.2 Estratégia de Busca	15
4.3 Critérios de Inclusão e de Exclusão	15
4.4 Identificação e Seleção dos Artigos	16
4.5 Análise do Risco de Viés	16
4.6 Extração de Dados	17
5. RESULTADOS	18
5.1 Seleção	18
5.2 Análise Qualitativa e Risco de Viés	19
5.3 Características Gerais dos Estudos Incluídos	20
5.4 Prevalência	25
5.5 Sero Yield e NAT Yield	27
5.6 Concordância	27
6. DISCUSSÃO	29
7. CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	37
APÊNDICE A – Estratégia de Buscas PUBMED/MEDLINE	43

1. INTRODUÇÃO

A transfusão de sangue é um procedimento terapêutico que permite a preservação de inúmeras vidas em todo o mundo. Contudo, ainda é uma fonte de transmissão de patógenos, especialmente do Vírus da Hepatite C (HCV) e do Vírus da Hepatite B (HBV)^{1,2}. Na contemporaneidade, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que cerca de 300 milhões de indivíduos possuem Hepatite B crônica, embora apenas 10% dos pacientes com a doença são identificados. No caso da hepatite C, a OMS ainda afirma que ocorre cerca 1,5 milhão de novas infecções por ano, globalmente^{3,4}. Por isso, as triagens clínica e laboratorial dos doadores de sangue são importantes para a segurança transfusional⁵.

As hepatites virais são doenças infecciosas que acometem o fígado, sendo causada por distintos tipos de vírus hepatotrópicos com diferenças epidemiológicas, clínicas e laboratoriais. Sabe-se que HBV e HCV são transmitidos, principalmente, pela via sexual e pelo sangue.² Nesse contexto, estas duas formas de hepatite viral podem se manifestar em estágio agudo e em estágio crônico, sendo que a cronificação está associada a maior risco de evolução para cirrose ou para câncer^{3,4}. Ademais, no Brasil, desde a década de 1990, vacina contra a hepatite B faz parte do Programa Nacional de Imunizações, com ampla disseminação em território nacional⁶.

Ocasionalmente, doadores de sangue, como a população em geral, podem ser portadores de agentes infecciosos sem apresentação de sinais ou de sintomas, representando um risco para segurança dos receptores de sangue.⁷ O primeiro caso de transmissão de hepatites virais via transfusão sanguínea data de 1943, sendo seguidos por outros relatos associando o desenvolvimento de hepatite após a realização de hemoterapia.⁸ Por causa disso, com ampliação dos hemocentros, tornou-se urgente garantir segurança transfusional tanto pela seleção rigorosa de doadores com baixo risco de transmissão de infecções

quanto pela utilização de testes diagnósticos com alta sensibilidade, sendo capazes de detectar patógenos durante a janela imunológica¹.

Sob a perspectiva brasileira, na atualidade, a regulamentação de doação de sangue é determinada pela Portaria de Consolidação nº 5, anexo IV, de 28 de setembro de 2017 (Regulamento Técnico de Procedimentos Hemoterápicos), em que a qualidade do sangue e dos hemocomponentes é avaliada principalmente pela triagem clínica e pela triagem laboratorial. Além dos testes sorológicos, os testes moleculares se tornaram vigentes nos hemocentros brasileiros com a obrigatoriedade do uso do teste de amplificação de ácido nucleico (NAT), em 2014⁹. Nessa seara, o NAT possibilita a detecção precoce de material genético do vírus antes do aparecimento de antígeno ou anticorpo viral no sangue do doador¹⁰. Assim, o NAT apresenta vantagem na detecção precoce de infecções nas bolsas de sangue, reduzindo a janela imunológica¹¹.

Portanto, diante da continuidade da problemática de contaminação por hepatites após transfusões sanguíneas e do surgimento de testes moleculares que reduzem a janela imunológica dos vírus das hepatites B e C, faz-se necessário compreender a diferença de acurácia de testes de amplificação de ácidos nucleicos e de testes sorológicos, a fim de contribuir para o conhecimento da ciência, sobretudo no que diz respeito à segurança transfusional. Com isso, a presente revisão é fundamental para compreender o estado atual de conhecimento sobre tal questão.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

2.1.1 Comparar os resultados dos Testes de Amplificação de Ácidos Nucleicos (NAT) com o ELISA e Quimiluminescência na detecção das Hepatites B e C em doadores de sangue.

2.2 Específicos

2.2.1 Comparar a prevalência das Hepatites B e C através dos Testes de Amplificação de Ácidos Nucleicos (NAT) e testes sorológicos em doadores de sangue.

2.2.2 Avaliar a frequência de detecção das infecções pelos vírus das Hepatites B e C em doadores de sangue durante o período de janela imunológica.

2.2.3 Verificar a concordância dos exames sorológicos e Teste de Amplificação de Ácidos Nucleicos (NAT) na detecção das Hepatites B e C em doadores de sangue.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Vírus da hepatite B

A infecção pelo HBV é um importante problema de saúde pública no Brasil. Segundo o Sistema de Informações de Agravos de Notificação (SINAN), durante o período de 2000 a 2021, o país apresentou 264.640 casos notificados da doença¹². A transmissão da hepatite B ocorre pelas vias sexual, parenteral, percutânea e vertical. Com isso, a exposição ao HBV pode ocorrer em relações sexuais desprotegidas, compartilhamento de agulhas e de seringas, tatuagens, procedimentos cirúrgicos e transfusões de sangue¹³.

Nos pacientes infectados, a hepatite B pode se manifestar nas formas aguda e crônica. A forma considerada aguda benigna se caracteriza por sintomas de infecção viral inespecífica, identificada laboratorialmente pela elevação de aminotransferases. Em sua evolução, pode ocorrer a fase icterica seguida da fase de convalescença, com melhora do quadro clínico. A persistência do vírus por mais de 6 meses define a cronificação da doença, de modo que apenas 5 a 10% dos indivíduos adultos alcançam a fase crônica da doença¹⁴.

Com relação à estrutura viral, o HBV pertence à família *Hepadnaviridae*, capaz de infectar hepatócitos de humanos e de primatas não humanos¹⁵. Trata-se de um vírus envelopado que possui genoma circular de DNA de fita parcialmente dupla, formado por uma cadeia longa e por cadeia curta. Apesar de ser único vírus de DNA causador da hepatite, o HBV é capaz de codificar uma transcriptase reversa e de realizar a replicação por meio de um intermediário de RNA. A partícula viral infecciosa do HBV possui 42nm de diâmetro, sendo denominada de partícula de Dane ou de vírion do HBV. Esta partícula de Dane possui uma estabilidade pouco comum entre vírus envelopados e, por conta disso, é resistente ao tratamento com éter, pH baixo, congelamento e aquecimento moderado, corroborando a transmissão inter-humano e dificultando a desinfecção. Além disso, as partículas virais se constituem internamente por envoltório composto de lipídios - contendo o Antígeno de Superfície da hepatite

B (HBsAg, do inglês, *hepatitis B surface antigen*) – e de uma região nuclear densa (core), a qual é formada pelo Antígeno do Núcleo da hepatite B (HBcAg, do inglês, *hepatitis B core antigen*). Ademais, na porção central do vírus, ainda se apresenta o Antígeno “e” do vírus da hepatite B, HBeAg, (em inglês, *hepatitis B “e” antigen*) que se associa à replicação e à infectividades virais^{16,17}.

A identificação de anticorpos específicos contra o HBV, antígenos e genoma virais é fundamental para determinar os estágios específicos da doença, que pode incluir: infecções aguda e crônica, resposta vacinal e ausência de contra prévio com o vírus¹⁴. Nesse contexto, o HBsAg é um dos primeiros marcadores de infecção a ser identificado, em torno de 30 a 45 dias após o contato com HBV. Na infecção aguda, o HBsAg pode ser detectado por até 120 dias. Por outro lado, a cronificação da hepatite B pode ser constatada pela persistência da presença do HBsAg por mais de 6 meses. Outro marcador de infecção recente é o anticorpo anti-HBc IgM que confirma a infecção aguda. Já o anti-HBc total (IgM + IgG) isoladamente indica contato prévio com o vírus, de modo que é necessária a pesquisa por outros marcadores de presença viral para especificar a fase da doença. Os pacientes com HBeAg positivo, marcador de replicação viral, possuem maior risco de transmissão da hepatite. Ademais, o surgimento do anticorpo anti-HBs se associa com o desaparecimento do HBsAg, indicando cura funcional. O anti-HBs ainda é um indicador de imunidade, estando isoladamente presente em pessoas vacinadas contra HBV. Por fim, o HBV-DNA pode ser investigado tanto para analisar a presença do vírus quanto para monitoramento do paciente durante terapia antiviral^{13,14}.

3.2 Vírus da hepatite C

A descoberta do Vírus da Hepatite C (HCV) ocorreu apenas em 1989, nos Estados Unidos. Nessa seara, ele foi a principal causa de hepatite pós-transfusional antes da implantação de triagem para presença de HCV nas bolsas de sangue doadas¹⁷. Por conta disso, indivíduos que receberam transfusão de

sangue e/ou de hemoderivados antes de 1993 são considerados população de risco acrescido para hepatite C¹⁴.

Diferente do que acontece com a hepatite B, os pacientes infectados pelo HCV possuem maior risco de evoluírem para o estágio crônico da doença. Sabe-se que o processo de cronificação da hepatite C pode se consolidar em até 85% dos infectados, de modo que destes cerca de um terço podem desenvolver as formas histológicas graves ou cirrose se não houver tratamento adequado¹⁴. Nesse contexto, a intervenção terapêutica, muitas vezes, é retardada pela alta incidência de infecções assintomáticas crônicas, as quais também favorecem a disseminação do vírus¹⁷.

O vírus causador da hepatite C é primeiro membro do gênero *Hepacivirus*, da família *Flaviridae*¹⁴. Trata-se de um vírus de RNA de polaridade positiva, envelopado e com diâmetro entre 30 e 60nm. Este envelope é lipoproteico contendo as duas glicoproteínas de envelope (E1 e E2) e um capsídeo proteico, constituído pela proteína de capsídeo (c). Como a RNA polimerase dependente de RNA não é revisada em sua atividade, ela é bastante propensa ao erro e gera mutações nos genes de glicoproteínas. Isso interfere na produção de uma vacina eficaz contra o HCV^{14,17}.

O período de incubação do HCV é de 15 a 150 dias, apresentando uma média de 50 dias. Com isso, a transmissibilidade do vírus se inicia 7 dias antes da apresentação dos primeiros sintomas e mantém-se enquanto a carga viral estiver detectável. O anti-HCV, isto é, o anticorpo contra o vírus da hepatite C, é um marcador capaz de indicar contato prévio com o HCV, contudo não consegue indicar a fase da doença. Isso acontece porque o anti-HCV é detectado tanto na infecção aguda quanto na crônica, além de presente no paciente curado. Após o contato com o vírus, ele demora entre 8 e 12 semanas para ser detectado e permanece reagente indefinidamente. Outra forma de identificar a infecção se

dá por meio do genoma viral. O HCV-RNA é detectado entre 7 e 14 após a infecção, reduzindo o tempo de determinação da doença¹⁴.

3.3 Metodologias diagnósticas para hepatites B e C: testes sorológicos e NAT

A triagem diagnóstica laboratorial de doadores de sangue demanda a investigação pelas mais frequentes infecções transmitidas por transfusão, como hepatites B e C. Sabe-se que houve evolução das realizações de testes sorológicos para implementação de testes de amplificação de ácido nucleico (NAT)¹⁸. É fundamental, portanto, que os testes de triagens realizados nos hemocentros apresentem alta sensibilidade, a fim de garantir segurança no processo de transfusão de sangue e de hemoderivados. Isto significa que o teste precisa ser capaz de reconhecer doença nos indivíduos infectados pelo patógeno pesquisado. Ao mesmo tempo, é necessário considerar a especificidade do teste em questão, na medida em que é importante determinar saúde nos indivíduos que não possuem a doença¹⁹. Assim, o diagnóstico das hepatites B e C se baseia no uso de imunoensaios, para detecção de marcadores presentes no sangue, e na utilização de técnicas de biologia molecular, para detecção do ácido nucleico do vírus¹⁴.

Sob a perspectiva de exames sorológicos, o método sorológico denominado Ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA, do inglês, *Enzyme-linked immunosorbent assay*) detecta e quantifica uma substância específica, a qual geralmente se trata de um antígeno em uma amostra. Este antígeno é imobilizado em um poço de microplaca de forma direta ou por meio de anticorpo específico, conhecido como anticorpo de captura. O complexo antígeno-anticorpo é formado após a adição de um anticorpo de detecção primária, o qual pode ser marcado diretamente com uma enzima ou está ligado a um anticorpo de detecção secundária. Há ainda a adição de um substrato que produz sinal de cor, caracterizando a presença do antígeno na amostra estudada²⁰. Nos imunoensaios por quimioluminescência, tem-se evento excitatório devido a uma

reação química, de modo que a luz é emitida a partir de um elétron em estado excitado que volta ao estado fundamental emitindo um fóton. Dessa forma, os ensaios de quimioluminescência conseguem detectar reação antígeno-anticorpo e antígeno-antígeno, podendo ainda ser ensaio de caráter qualitativo ou quantitativo¹⁴.

Nos anos de 1980, o advento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) impulsionou aprimoramentos nas tecnologias de triagem laboratorial dos doadores de sangue²¹. Nesse contexto, em 1999, os novos métodos envolvendo amplificação de ácidos nucleicos para detectar RNA do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) e do HCV foram implementados nos Estados Unidos²². As técnicas de amplificação de ácido nucleico apresentam a capacidade de ampliar sequências de ácidos nucleicos provenientes do vírus. Com esta tecnologia, é possível diminuir a janela imunológica, a qual compreende o período entre a fase inicial da infecção e o estabelecimento da resposta imune. Ou seja, durante a janela imunológica não é possível detectar presença de anticorpos pelos exames sorológicos tradicionais. Dessa maneira, o NAT é utilizado em associação com os testes sorológicos nos hemocentros, reduzindo o risco infeccioso das transfusões²¹.

4. MÉTODOS

4.1 Desenho de Pesquisa

Trata-se de uma revisão sistemática da literatura, com o uso da metodologia proposta pelo protocolo *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*, PRISMA (2020)^{23,24}, realizada entre abril de 2022 e setembro de 2023.

A presente revisão sistemática foi registrada no PROSPERO, sob o número 425001, plataforma internacional de registro de revisões sistemáticas.

4.2 Estratégia de Busca

A busca dos artigos foi realizada por meio de estratégia de buscas nas bases de dados PUBMED/MEDLINE, LILACS, SCIELO, EMBASE e COCHRANE com o uso de descritores obtidos do MeSH (*Medical Subject Heading*) e do DeCS (Descritores em Ciência da Saúde), a seguir apresentados: hepatite B, hepatite C, sorologia, ELISA, quimioluminescência, NAT, teste de ácido nucleico, doação de sangue. Os descritores foram utilizados em inglês. Nesse sentido, a estratégia PICO utilizada para responder à pergunta do estudo, a saber: P - população ser estudada (doadores de sangue), I - intervenção (Teste de ácido nucleico), C - controle (sorologia realizada por ELISA e/ou Quimioluminescência) e O – desfecho ou *outcome* (detecção da infecção pelos vírus das Hepatites B e C). A estratégia de busca utilizada na PUBMED/MEDLINE está apresentada no apêndice. Foram avaliados artigos em português e em inglês, independente do ano de publicação. A etapa de busca de artigos foi finalizada em 11 de abril de 2023.

4.3 Critérios de Inclusão e de Exclusão

Determinou-se como critérios de inclusão artigos observacionais com dados primários, modelo prevalência, realizados com doadores de sangue, que avaliem

o diagnóstico de hepatite B e hepatite C. Além disso, os testes sorológicos e o NAT devem ter sido feitos de forma pareada. Os critérios de exclusão incluem trabalhos com dados secundários, que não estejam disponíveis na íntegra para consulta, bem como revisões sistemáticas, *scoping review*, metanálise, opiniões de especialistas, editoriais, estudo *in vitro* e/ou em animais, resumos de congresso e seminários. Ademais, outros critérios de exclusão foram população diferente de doadores de sangue e estudos em que o desfecho incluía apenas um dos vírus estudados.

4.4 Identificação e Seleção dos Artigos

Inicialmente, realizou-se a busca dos artigos de acordo com a pesquisa realizada com os descritores supracitados. A partir disso, os avaliadores fizeram análise independente do título e do resumo dos artigos selecionados, aplicando os critérios de inclusão e de exclusão. Para verificação de artigos duplicados foi utilizado o software *Rayyan*²⁵. Em um próximo estágio, houve leitura integral destes artigos, excluindo aqueles que não se encaixem aos critérios de inclusão e de exclusão. No total, houve dois avaliadores e, em caso de discordância entre eles, um terceiro avaliador foi responsável pelo desempate.

4.5 Análise do Risco de Viés

A análise da qualidade metodológica dos artigos com avaliação do risco de viés dos artigos foi realizada por meio do *Quality Assessment of Studies of Diagnostic Accuracy Included in Systematic Reviews 2* (QUADAS-2, em tradução livre Avaliação da Qualidade dos Estudos de Precisão Diagnóstica Incluídos em Revisões Sistemáticas). A ferramenta inclui quatro domínios: seleção de paciente, teste índice, teste de referência e fluxo dos pacientes e tempos dos testes índice e de referência, sendo que todos estes domínios são avaliados para risco de viés. Além disso, os três primeiros domínios (seleção de pacientes, teste índice e teste de referência) também são submetidos a uma avaliação em relação às aplicabilidades. Nesse processo, estão presentes perguntas sinalizadoras que auxiliam a julgar o risco de viés, de modo que cada uma pode

ser respondida com “sim”, “não” ou “incerto”. Se todas as respostas para as perguntas sinalizadoras forem “sim”, o risco de viés é considerado “baixo”. Se ao menos uma pergunta de sinalização de um determinado domínio tiver resposta “não”, o risco de viés é dito como “alto”. Por fim, o uso do “incerto” indica que não há dados suficientes para julgamento do risco de viés. Ademais, nas seções de aplicabilidade, as preocupações sobre a aplicabilidade podem ser consideradas “baixa”, “alta” ou “incerta”. Apesar da semelhança com as seções de risco de viés, as seções aplicabilidade não contam com perguntas sinalizadoras.

4.6 Extração de Dados

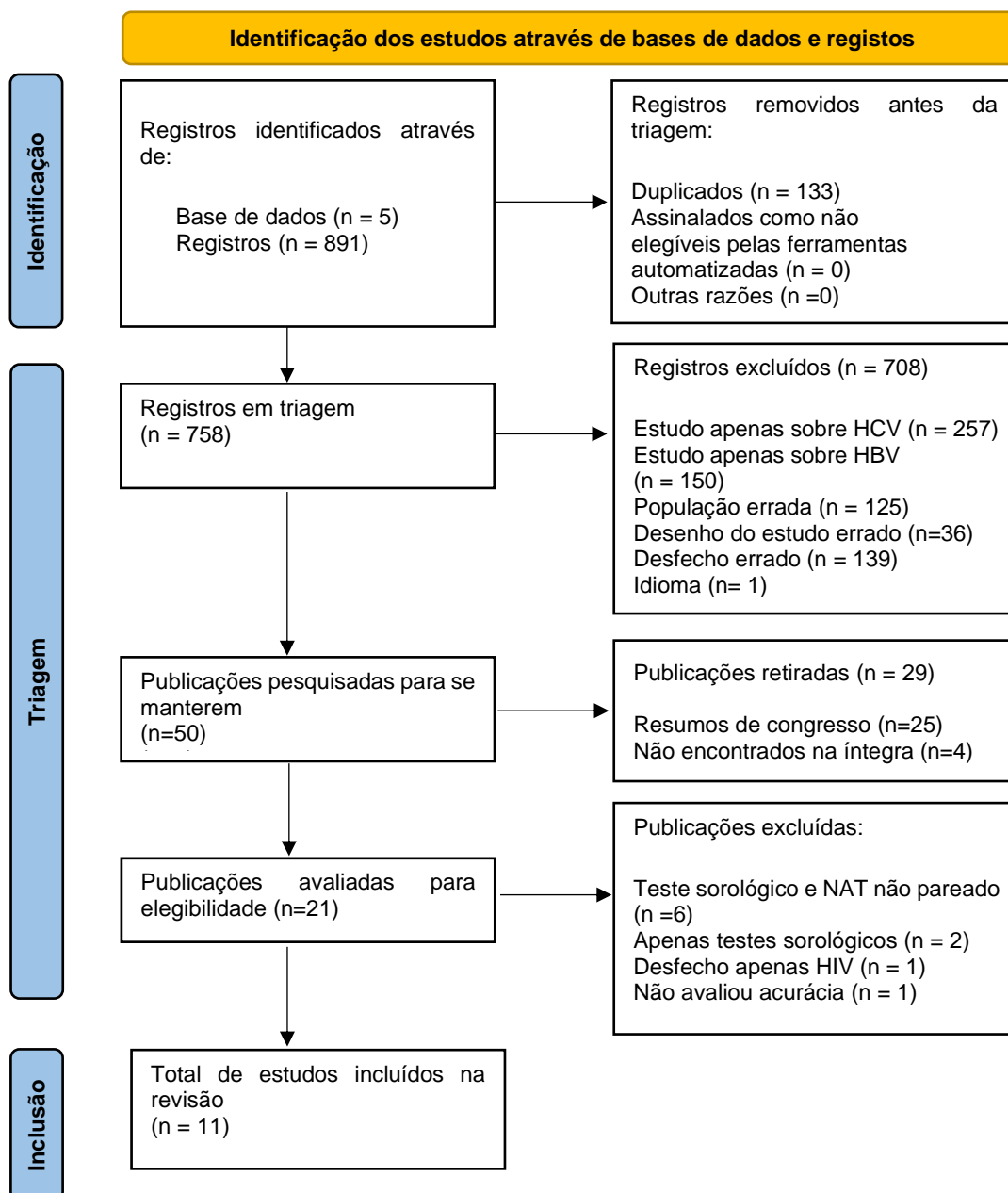
A extração dos dados foi feita por dois avaliadores independentes, com base em um formulário de coleta pré-definido. As seguintes características foram extraídas do estudo: DOI, título, primeiro autor, ano de publicação, local de realização, período de duração do estudo, desenho do estudo, objetivos, métodos, tamanho amostral, vírus estudados, testes diagnósticos utilizados, pacientes incluídos e excluídos, além de resultados positivos e negativos na utilização de cada um dos testes diagnósticos. Foi utilizado o programa “Microsoft Excel® para Microsoft 365 MSO” (Versão 2304) para a organização dos dados.

5. RESULTADOS

5.1 Seleção

Por meio da pesquisa nas bases de dados PubMed (413 artigos), EMBASE (462 artigos), Lilacs (12 artigos), Scielo (2) e Cochrane (2), foram identificados 891 artigos, em que 133 eram duplicatas. Nesse contexto, remanesceram 758 estudos. Não foram encontrados artigos por busca manual ou outros métodos. Após processo de triagem com título e com resumo, excluiu-se 708 artigos, seguindo os critérios de inclusão e exclusão pré-estabelecidos, dentre os quais 407 artigos estudavam apenas um dos vírus, 139 apresentavam desfecho incompatível com a presente revisão, 125 englobavam população não doadora de sangue, 36 possuíam desenho do estudo inadequado e 1 artigo por idioma. Com isso, sobraram 50 artigos para a leitura na íntegra. Destes 29 foram excluídos, sendo 4 artigos não disponibilizados na íntegra, 25 resumos de congresso. Dentre os 21 estudos restantes, seis não estudaram os testes sorológicos e NAT de forma pareada, dois realizaram comparação apenas entre testes sorológicos, um o desfecho foi apenas HIV e um não avaliou acurácia. Assim, ao final do processo de seleção, 11 artigos foram submetidos à análise qualitativa, conforme apresentado no fluxograma PRISMA 2020 abaixo.

Figura 1. Fluxograma para seleção dos estudos



5.2 Análise Qualitativa e Risco de Viés

Os artigos selecionados para análise qualitativa e risco de viés foram submetidos ao QUADAS-2. Nenhum dos artigos selecionados apresentavam alto risco de viés. Dez artigos apresentaram baixo risco de viés e apenas um artigo apresentou um quesito de risco inconclusivo no domínio teste de referência (Quadro 1). Todos esses artigos seguiram incluídos nesta revisão.

Quadro 1. Análise do risco de viés pelo QUADAS-2

Estudo	RISCO DE VIÉS				APLICABILIDADE		
	SELEÇÃO DO PACIENTE	TESTE INDEX	TESTE DE REFERÊNCIA	FLUXO E TEMPO	SELEÇÃO DO PACIENTE	TESTE INDEX	TESTE DE REFERÊNCIA
Chatterjee et al. ²⁶ (2012)	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Kosan et al. ²⁷ (2010)	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Calegari et al. ²⁸ (2020)	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Agarwal et al. ²⁹ (2013)	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Pandey et al. ³⁰ (2015)	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Duskova et al. ³¹ (2014)	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Kumar et al. ³² (2015)	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Vermeulen et al. ³³ (2009)	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Wu et al. ³⁴ (2022)	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Hans et al. ³⁵ (2019)	😊	😊	?	😊	😊	😊	😊
Datta et al. ³⁶ (2019)	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊

😊 Baixo Risco 😞 Alto Risco ? Risco inconclusivo

5.3 Características Gerais dos Estudos Incluídos

Todos os artigos selecionados para esta revisão sistemática são estudos transversais. O ano de publicação dos trabalhos foi bastante variado, na medida em que não houve restrição de data. Nesse sentido, o ano de publicação mais antigo foi o de Vermeulen et al.³³ (2009) e o estudo mais recente incluído foi o de Wu et al.³⁴ (2022), conforme observado no quadro 2. Dentre os 11 estudos selecionados, seis foram realizados na Índia, sendo eles Chatterjee et al.²⁶ (2012), Agarwal et al.²⁹ (2013), Pandey et al.³⁰ (2015), Kumar et al.³² (2015), Hans et al.³⁵ (2019) e Datta et al.³⁶ (2019). Os demais estudos ocorreram no Brasil, China, República Tcheca, África do Sul e Turquia, respectivamente, em Calegari et al.²⁸ (2020), Wu et al.³⁴ (2022), Duskova et al.³¹ (2014), Vermeulen et al.³³ (2009) e Kosan et al.²⁷ (2010), como representado no quadro 2. Com relação ao tamanho amostral, o artigo com menor número de participantes foi Duskova et al.³¹ (2014), com 5074 amostras, e aquele com maior número foi Wu et al.³⁴ (2022), com 2.071.695 amostras, de modo que os demais artigos possuem tamanho amostral nesse intervalo (quadro 2). Todos os artigos pesquisaram em doadores de sangue os seguintes vírus: HCV, HBV e HIV,

sendo que Agarwal et al.²⁹ (2013) também estudou os agentes etiológicos da malária e da sífilis (quadro 2).

Quadro 2. Características gerais dos artigos incluídos

Primeiro autor	Ano de publicação	Local	Tamanho amostral	Período de duração do estudo	Agentes estudados
Chatterjee et al. ²⁶ (2012)	2012	Nova Delhi, Índia	18536	julho/2010 a janeiro/2011	HCV, HBV e HIV
Kosan et al. ²⁷ (2010)	2010	Istambul, Turquia	18200	fevereiro/2007 a março/2008)	HCV, HBV, HIV
Calegaro et al. ²⁸ (2020)	2020	Porto Alegre, Brasil	17181	2017 e 2018	HCV, HBV e HIV
Agarwal et al. ²⁹ (2013)	2013	Nova Delhi, Índia	73898	Junho/2010 a agosto/2012	HCV, HBV, HIV, sífilis e malária
Pandey et al. ³⁰ (2015)	2015	Nova Delhi, Índia	48441	março/2010 a maio/2012	HCV, HBV e HIV
Duskova et al. ³¹ (2014)	2014	Praga, República Tcheca	5074	2008	HCV, HBV e HIV
Kumar et al. ³² (2015)	2015	Ludhiana, Punjab, Índia	32978	Janeiro/2013 a dezembro/2013	HCV, HBV e HIV
Vermeulen et al. ³³ (2009)	2009	África do Sul	732250	Não especificado	HCV, HBV e HIV
Wu et al. ³⁴ (2022)	2022	Zhejiang, China	2071695	Agosto/2010 a dezembro/2019	HCV, HBV e HIV
Hans et al. ³⁵ (2019)	2019	Chandigar, Índia	168433	Janeiro/2013 a dezembro/2015	HCV, HBV e HIV
Datta et al. ³⁶ (2019)	2019	Nova Delhi, Índia	101411	Janeiro/2011 a dezembro/2016	HCV, HBV e HIV

Os testes sorológicos e moleculares utilizados por cada estudo estão listados no quadro 3. Dentre os 11 artigos, 8 usaram ELISA como teste sorológico, sendo eles Chatterjee et al.²⁶ (2012), Kosan et al.²⁷ (2010), Calegaro et al.²⁸ (2020), Agarwal et al.²⁹ (2013), Kumar et al.³² (2015), Wu et al.³⁴ (2022), Hans et al.³⁵ (2019), Datta et al.³⁶ (2019). Os demais estudos, Pandey et al.³⁰ (2015), Duskova et al.³¹ (2014) e Vermeulen et al.³³ (2009), utilizaram quimioluminescência. Os seguintes estudos Wu et al.³⁴ (2022) e Hans et al.³⁵ (2019) não especificaram o tipo de ELISA utilizado (quadro 3).

Quadro 3. Testes sorológicos e moleculares utilizados nos estudos

Primeiro Autor	Teste Sorológico (ELISA)	Teste Sorológico (Químico)	Teste Molecular
Chatterjee et al. ²⁶ (2012)	BioMerieux Hepanostika HBsAg Ultra, BioMerieux Hepanostika HCV Ultra; M/s BioMerieux, B.V. Boseind, The Netherlands.	Não utilizado	Procleix® Ultrio® Assay (Novartis, Emeryville, CA)
Kosan et al. ²⁷ (2010)	Innotest HCV Ab III (Innogenetics NV, Belgium), Hepanostika Ultra HBsAg (bioMerieux Inc., France)	Não utilizado	Procleix Ultrio kit (Chiron, USA)
Calegari et al. ²⁸ (2020)	Realizado, mas não especificado	Não utilizado	Realizado, mas não especificado
Agarwal et al. ²⁹ (2013)	Hepanostika HCV Ultra & HBsAg Ultra (Biomerieux)	Não utilizado	Procleix Ultrio Assay (Novartis Diagnostics, USA)
Pandey et al. ³⁰ (2015)	Não utilizado	Vitros EciQ (Ortho Clinical Diagnostics, Johnson and Johnson, USA)	Procleix Ultrio Assay (Chiron Corporation, CA)
Duskova et al. ³¹ (2014)	Não utilizado	Abbott Architect i2000 system (Abbott, Wiesbaden, Germany)	Roche Cobas TaqScreen MPX Test v1
Kumar et al. ³² (2015)	Biomerieux (Vironostika® HIV Ag-Ab, Hepanostika® HCV ultra and HBsAg ultra, France).	Não utilizado	Procleix® Ultrio Plus® Assay (Novartis Emeryville, CA)
Vermeulen et al. ³³ (2009)	Não utilizado	PRISM (Abbott, Delkenheim, Germany)	Procleix Ultrio on Tigris (Chiron, Emeryville, CA)
Wu et al. ³⁴ (2022)	Realizado, mas não especificado	Não utilizado	Procleix® Ultrio® Assay, Procleix® Ultrio Plus® Assay e Procleix® Ultrio Elite® Assay Novartis Diagnostics, Emeryville, CA, USA
Hans et al. ³⁵ (2019)	ELISA 3ª geração	Não utilizado	Procleix® Ultrio® e Procleix Ultrio Plus
Datta et al. ³⁶ (2019)	Virostika HIV Ag-Ab, Hepanostika HBsAg ultra Biomerieux, France, Genedia HCV, Korea)	Não utilizado	Procleix Ultrio Plus

Os objetivos dos estudos avaliados foram bastante diversos, mas todos comparavam o uso de testes sorológicos e NAT em seus métodos. Todos os onze estudos submeteram as amostras tanto para testes sorológicos quanto para NAT (quadro 4).

Quadro 4. Objetivos e métodos dos artigos incluídos

Primeiro autor	Objetivos	Métodos
Chatterjee et al. ²⁶ (2012)	Avaliar o impacto do ID-NAT na prevenção da transmissão de vírus associada à transfusão	Todos os doadores de sangue foram testados com ELISA 4ª geração e com ID-NAT para HBV, HCV e HIV.
Kosan et al. ²⁷ (2010)	Comparar Nat e testes sorológicos de rotina nos doadores de sangue para triagem de HIV, HBV e HVC	Amostras foram testados com testes sorológicos e com NAT. Foram realizados três testes sorológicos, sendo considerado positivo quando dois dos três testes foram positivos. Com o NAT, a amostra positiva foi testada mais duas vezes e confirmada positiva quando confirmado reativo em um dos testes.
Calegaro et al. ²⁸ (2020)	Avaliar a prevalência de marcadores sorológicos para HBV e HCV em banco de sangue e a correlação entre sorologia e NAT em doadores.	A amostra é constituída pelos usuários do serviço de hemoterapia. As informações referentes aos marcadores sorológicos, anti-HBC, HBsAg e anti-HCV, e ao NAT foram coletadas. Os testes sorológicos são qualitativos por quimioluminescência.
Agarwal et al. ²⁹ (2013)	Comparar os resultados da triagem de doadores de sangue com NAT e testes sorológicos.	Durante 27 meses, 73898 amostras de doadores de sangue foram testadas para HIV1, HCV e HBV usando ELISA e NAT.
Pandey et al. ³⁰ (2015)	Determinar a taxa de NAT Yield verdadeiro em doadores de sangue.	Todas as amostras de sangue coletadas foram submetidas a dois testes para HIV, HBV e HCV. Os testes foram feitos simultaneamente com quimioluminescência, e ID-NAT. Amostra com sorologia negativa e NAT positivo foi definida como NAT yield.
Duskova et al. ³¹ (2014)	Confirmar redução do risco de infecções transmissíveis pelo sangue, por meio da identificação de doadores positivos para NAT antes de sua soroconversão.	Um total de 5074 amostras de sangue foram testadas com quimioluminescência e NAT. Devido à baixa prevalência de infecções monitoradas na população geral deste país, decidiu-se selecionar grupo adicional com 5 amostras que soroconverteram (4 para HCV e 1 para HBV), a fim de serem testadas as amostras pré-soroconversão.

Continuação do quadro 4. Objetivos e métodos dos artigos incluídos

Kumar et al. ³² (2015)	Avaliar o impacto da introdução de ID-NAT para HIV-1, HCV e HBV e seu papel na melhoria segurança do sangue em um hospital terciário	Todas as amostras de sangue coletadas entre janeiro e dezembro de 2013 foram incluídas no estudo. Estas amostras foram testadas separadamente com ID-NAT e com testes sorológicos (ELISA) para HIV, HCV e HBV
Vermeulen et al. ³³ (2009)	Determinar o impacto do ID-NAT no risco residual de HIV, HCV e HBV	Doadores de sangue voluntários são testados simultaneamente com teste sorológico e ID-NAT com duas amostras diferentes para rastrear HIV, HCB e HBV.
Wu et al. ³⁴ (2022)	Avaliar os resultados do teste NAT ao longo de 10 anos para estabelecer os efeitos e fatores que influenciam NAT Yields de HBV, HCV e HIV	As amostras foram rastreadas para HBsAg, anti-HCV, anti-HIV e anti-TP usando ELISA. Os ensaios HBV, HCV e HIV NAT foram executados em paralelo usando NAT.
Hans et al. ³⁵ (2019)	Analisar os resultados do ID-NAT ao longo de 3 anos para entender os rendimentos do NAT e suas implicações para a segurança do sangue	Durante 3 anos, 168433 doadores foram coletados e testados por ELISA e NAT para HBV, HCV e HIV-1
Datta et al. ³⁶ (2019)	Determinar a soroprevalência e NAT positividade de HIV, HBV e HCV entre doadores de sangue durante um período de seis anos e avaliar o impacto do NAT na triagem de sangue.	Durante 6 anos, 101411 amostras de doadores de sangue foram incluídas. As amostras foram testadas para HIV, HBV e HCV por ELISA e por ID- NAT. Todas as amostras reativas foram testadas novamente.

5.4 Prevalência

A prevalência de infecções pelo HCV e pelo HBV detectadas com a sorologia foi bastante variável para os dois vírus. Wu et al.³⁴ (2022) não apresentou dados individualizados para soroprevalência de HCV e de HBV. No que diz respeito ao HCV, a prevalência de testes sorológicos positivos variou de 0,005% a 0,99%, sendo que Vermeulen et al.³³ (2009) registrou-se a menor soroprevalência entre os estudos e Kumar et al.³² (2015) apresentou a maior. Por outro lado, para o HBV, a soroprevalência variou de 0,03%, em Hans et al.³⁵ (2019), a 1,74%, em Kosan et al.²⁷ (2010), como visto no quadro 5.

Na prevalência de infecção pelo HCV detectada com o NAT, houve uma variação de 0, em Duskova et al.³¹ (2014), a 0,67%, em Kumar et al.³² (2015). Com relação ao HBV, a menor prevalência com o NAT foi observada em Duskova et al.³¹ (2014) e maior em Kosan et al.²⁷ (2010), variando assim de 0,01% a 1,71%, como observado na quadro 5.

Na maior parte dos estudos incluídos, a prevalência de HCV foi maior nos testes sorológicos em comparação com o NAT, visualizado em Kosan et al.²⁷ (2010), Calegaro et al.²⁸ (2020), Pandey et al.³⁰ (2015), Duskova et al.³¹ (2014), Kumar et al.³² (2015), Vermeulen et al.³³ (2009), Hans et al.³⁵ (2019) e Datta et al.³⁶ (2019). Apenas em Chatterjee et al.²⁶ (2012) e Agarwal et al.²⁹ (2013) que a prevalência de HCV foi maior em NAT em comparação com testes sorológicos. Embora com uma menor diferença de casos, a prevalência de HBV também foi maior nos testes sorológicos se comparados com o NAT. Nesse sentido, a soroprevalência de HBV foi maior nos seguintes estudos Kosan et al.²⁷ (2010), Calegaro et al.²⁸ (2020), Pandey et al.³⁰ (2015), Duskova et al.³¹ (2014), Kumar et al.³² (2015) e Hans et al.³⁵ (2019). Nos casos Chatterjee et al.²⁶ (2012), Agarwal et al.²⁹ (2013), Vermeulen et al.³³ (2009) e Datta et al.³⁶ (2019), a prevalência de NAT para HBV foi maior do que a dos testes sorológicos.

Quadro 5. Soroprevalência, positividade no NAT e concordância entre NAT e sorologia para HCV e HBV

Primeiro Autor	Soroprevalência (ELISA ou Químico)		Prevalência NAT		Concordância NAT-sorologia	
	HCV	HBV	HCV	HBV	HCV	HBV
Chatterjee et al. ²⁶ (2012)	0,19% (35/18354)	0,70% (129/18354)	0,2% (38/18354)	0,72% (133/18354)	99,9%	99,9%
Kosan et al. ²⁷ (2010)	0,36% (66/18200)	1,74% (318/18200)	0,06% (12/18200)	1,71% (312/18200)	99,7%	99,9%
Calegaro et al. ²⁸ (2020)	0,3% (62/17181)	1,08% (186/17181)	0,11% (19/17181)	0,02% (4/17181)	99,74%	98,4%
Agarwal et al. ²⁹ (2013)	0,2% (205/73898)	1,03% (762/73898)	0,34% (252/73898)	1,1% (845/73898)	99,9%	99,9%
Pandey et al. ³⁰ (2015)	0,95% (461/48441)	0,88% (427/48441)	0,18% (86/48441)	0,6% (305/48441)	99,20%	99,7%
Duskova et al. ³¹ (2014)	Grupo 1: 0,29% (15/5074) / Grupo 2: 0	Grupo 1: 0,07% (4/5074) / Grupo 2: 0	Grupo 1: 0 / Grupo 2: 20% (1/5)	Grupo 1: 0,01% (1/5074) / Grupo 2:0	99,7%	99,9%
Kumar et al. ³² (2015)	0,99% (328/32978)	0,67% (221/32978)	0,67% (222/32978)	0,55% (181/32978)	99,9%	99,9%
Vermeulen et al. ³³ (2009)	0,005% (38/732250)	0,06% (453/732250)	0,004% (30/732250)	0,07% (497/732250)	99,9%	99,9%
Wu et al. ³⁴ (2022)	Dados não individualizados	Dados não individualizados	0,0001% (2/2071695)	0,1% (2202/207695)	Dados não individualizados	Dados não individualizados
Hans et al. ³⁵ (2019)	0,15% (251/168433)	0,03% (57/168433)	0,07% (114/168433)	0,03% (43/168433)	63%	79%
Datta et al. ³⁶ (2019)	0,18% (187/101411)	0,79% (808/101411)	0,17% (172/101411)	0,8% (821/101411)	99,9%	99,9%

5.5 Sero Yield e NAT Yield

Sero Yield e NAT Yield são termos utilizados para determinar a diferença de resultados em testes sorológicos e NAT em uma mesma amostra. Nesse sentido, o Sero Yield diz respeito às amostras positivas sorologicamente e negativas no NAT. Dentre os artigos selecionados, houve a presença de Sero Yield em Kosan et al.²⁷ (2010), Calegaro et al.²⁸ (2020), Pandey et al.³⁰ (2015), Duskova et al.³¹ (2014), Kumar et al.³² (2015) e Vermeulen et al.³³ (2009). Em Chatterjee et al.²⁶ (2012), nenhuma das amostras foi sorologicamente reativas, mas NAT não reativo. A maior taxa de Sero Yield para HCV foi observada em Pandey et al.³⁰ (2015), com 0,8%, e para HBV foi visto em Calegaro et al.²⁸ (2020), com 1,07%. Os seguintes estudos Agarwal et al.²⁹ (2013), Wu et al.³⁴ (2022), Hans et al.³⁵ (2019) e Datta et al.³⁶ (2019) não especificaram as taxas de Sero Yield (quadro 6).

O NAT Yield, por sua vez, corresponde às amostras positivas no NAT, mas negativas sorologicamente. Esse fenômeno geralmente ocorre em infecções agudas, em que a viremia está elevada, mas ainda não há detecção de anticorpos. Pode-se observar a presença de NAT Yield em Chatterjee et al.²⁶ (2012), Kosan et al.²⁷ (2010), Agarwal et al.²⁹ (2013), Pandey et al.³⁰ (2015), Duskova et al.³¹ (2014), Kumar et al.³² (2015), Vermeulen et al.³³ (2009), Wu et al.³⁴ (2022), Hans et al.³⁵ (2019) e Datta et al.³⁶ (2019). Em Duskova et al.³¹ (2014), nenhuma das amostras do grupo 1 apresentou NAT Yield. Wu et al.³⁴ (2022) apresentou a maior taxa de NAT Yield para HCV e Agarwal et al.²⁹ (2013) para HBV, ambos com aproximadamente 0,1%. Em Calegaro et al.²⁸ (2020), não houve dados especificando NAT Yield (quadro 6).

5.6 Concordância

Dentre os artigos incluídos, nenhum apresentou concordância de 100% entre o teste sorológico e o NAT tanto para HCV quanto para o HBV. Contudo, a maior parte dos artigos apresentou concordância superior a 99% para os dois vírus. No entanto, para o HCV, a concordância entre os dois tipos de testes variou de 63%,

em Hans et al.³⁵ (2019), a 99,9%, nos seguintes estudos Chatterjee et al.²⁶ (2012), Agarwal et al.²⁹ (2013), Kumar et al.³² (2015), Vermeulen et al.³³ (2009) e Datta et al.³⁶ (2019), conforme quadro 5. No caso do HBV, a variação de concordância foi de 79%, em Hans et al.³⁵ (2019), a 99,9%, nos artigos Chatterjee et al.²⁶ (2012), Kosan et al.²⁷ (2010), Agarwal et al.²⁹ (2013), Duskova et al.³¹ (2014), Kumar et al.³² (2015), Vermeulen et al.³³ (2009) e Datta et al.³⁶ (2019), também apresentado na quadro 5.

Quadro 6. Taxas de Sero Yield e NAT Yield

Primeiro Autor	Sero Yield		NAT Yield	
	HCV	HBV	HCV	HBV
Chatterjee et al. ²⁶ (2012)	0	0	0,01% (3/18354)	0,02% (4/18354)
Kosan et al. ²⁷ (2010)	0,3% (57/18200)	0,09% (17/18200)	0,01% (2/18200)	0,06% (11/18200)
Calegaro et al. ²⁸ (2020)	0,25% (43/17181)	1,07% (184/171181)	Dados não especificados	Dados não especificados
Agarwal et al. ²⁹ (2013)	Dados não especificados	Dados não especificados	0,06% (47/73898)	0,1% (83/73898)
Pandey et al. ³⁰ (2015)	0,8% (377/48441)	0,3% (129/48441)	0,004% (2/48441)	0,01% (7/48441)
Duskova et al. ³¹ (2014)	Grupo 1: 0,2% (15/5074)/ Grupo 2: 0	Grupo 1: 0,06% (3/5074)/Grupo 2:0	Grupo 1: 0/ Grupo 2: 20% (1/5)	Grupo 1: 0/ Grupo2: 0
Kumar et al. ³² (2015)	0,32% (106/32978)	0,12% (40/32978)	0,03% (13/32978)	0,08% (27/32978)
Vermeulen et al. ³³ (2009)	0,01% (9/73250)	0,02% (18/73250)	0,001% (1/73250)	0,08% (62/73250)
Wu et al. ³⁴ (2022)	Dados não especificados	Dados não especificados	0,1% (1062,9/10 ⁶)	0,97 x 10 ⁻⁴ % (0,97/10 ⁶)
Hans et al. ³⁵ (2019)	Dados não especificados	Dados não especificados	0,03% (43/167069)	0,07% (114/167069)
Datta et al. ³⁶ (2019)	Dados não especificados	Dados não especificados	0,01% (10/101411)	0,04% (40/101411)

6. DISCUSSÃO

Historicamente, as infecções transmitidas através da transfusão sanguínea são ponto de preocupação para a sociedade em todo o mundo. Apesar da dificuldade de especificar números exatos desta problemática, sabe-se que, antes da implantação de métodos de triagem, a transfusão de sangue era fator de risco importante para transmissão de vírus como HIV, HCV e HBV³⁷. Atualmente, no campo da medicina transfusional, existe a demanda de aumentar as várias camadas de proteção em relação ao ciclo do sangue nos hemocentros, desde a entrevista com o doador até a implementação de testes diagnósticos cada vez mais acurados. Nesse contexto, com a utilização de testes de amplificação de ácidos nucleicos, é possível diminuir o tempo de janela imunológica em comparação com os testes sorológicos, reduzindo a transmissão desses vírus para a população transfundida³⁸.

No espectro de avaliação da prevalência por meio de métodos sorológicos, observa-se que a menor soroprevalência para infecções pelo HCV foi encontrado em Vermeulen et al.³³ (2009) e a maior em Kumar et al.³² (2015), sendo realizados, respectivamente, na África do Sul e na Índia. A baixa prevalência para HCV identificada em Vermeulen et al.³³ (2009) parece refletir o cenário da população sul africana em geral, que possui baixas taxas de uso de drogas injetáveis e de outros fatores de risco importantes para infecção no país³⁹. Por outro lado, a prevalência do HCV no país indiano tende a variar significativamente a depender das regiões e das subpopulações⁴⁰. Isso ilustra a divergência entre a maior soroprevalência de HCV observada em Kumar et al.³² (2015) e em outros estudos também indianos incluídos nesta revisão. Assim, compreende-se que as peculiaridades sociocultural e comportamental de um povo influencia o panorama de infecções, que se reflete na comunidade de doadores de sangue.

Posto isto, os valores de prevalência para HCV por testes sorológicos presentes nessa revisão se assemelham aos encontrados por Almeida-Neto et al.⁴¹ (2013),

no Brasil, com 0,19%, e por Dodd et al.⁴² (2002), nos Estados Unidos, com 0,33%. Tais diferenças em dois países de dimensões continentais corroboram que a prevalência de HCV em doadores de sangue sofre impacto de fatores socioeconômicos e fatores de acesso à saúde em determinada localidade. Dessa forma, local de residência, nível de escolaridade, perfil econômico, uso de drogas injetáveis, uso de preservativo em relações sexuais e acesso à assistência em saúde são alguns aspectos basilares para avaliação dos riscos de infecção⁴⁰.

De modo análogo ao observado com HCV, as infecções por HBV também sofrem variações de acordo com os contextos socioeducacionais e com os panoramas de saúde. Nesse sentido, Hans et al.³⁵ (2019) apresentou a menor soroprevalência para HBV, a qual se mostrou destoante de outros artigos também indianos incluídos nesta revisão. Isso pode ser atribuído a uma triagem clínica pré-doação mais rígida, fazendo com que os potenciais doadores positivos para HBV não tivessem seu sangue coletado e, conseqüentemente, causando diminuição da prevalência do vírus no estudo. Outra questão que deve ser avaliada é a cobertura vacinal na região que influencia a taxa de infectados. Esta questão, inclusive, pode corroborar a maior soroprevalência para HBV no estudo turco de Kosan et al.²⁷ (2010), de modo que uma população com menores índices de vacinação está mais vulnerável à infecção pelo HBV.

A média das soroprevalências de HBV nos estudos incluídos é destoante dos achados de Almeida-Neto et al.⁴¹ (2013), que apresentou prevalência de 0,289%, e por Velati et al.⁴³ (2019), com aproximadamente 0,03%. A baixa cobertura vacinal associada a outros fatores de risco podem ter contribuído para a alta prevalência de alguns artigos. Com isso, percebe-se que fatores intrínsecos ao perfil da população e métodos dos próprios estudos contribuíram para achados de prevalência de HBV por sorologia acima do que é visto na literatura científica em geral.

Embora os testes sorológicos apresentem alta sensibilidade, especialmente, após a soroconversão, a introdução do NAT agregou uma camada adicional de segurança na prevenção de infecções por meio da transfusão de sangue⁴⁴. Dessa maneira, com relação ao uso do NAT, tem-se que Dusko³¹ et al. (2014) apresentou a menor prevalência para HCV (sem amostras NAT positivas) e para HBV (uma amostra positiva para NAT). Isso pode ser atribuído ao curto período analisado, de apenas quatro meses, e ao baixo número de amostras coletadas. Em contraponto, o estudo de Kumar et al.³² (2015) apresentou a maior prevalência do HCV usando o NAT, de 0,67%, e Kosan et al.²⁷ (2010) para HBV, de 1,7%. O estudo de Velati et al.⁴³ (2019) encontrou um valor intermediário entre os extremos de prevalência do NAT para HBV, com 0,034%. Com isso, as diferenças entre os testes sorológicos e o NAT podem ser analisadas detalhadamente pelo Sero Yield e pelo NAT Yield.

A presente revisão sistemática avaliou a presença de Sero Yield, que é definido por amostras sorologicamente reativas, mas NAT não reativas. Dentre os estudos que especificaram este dado, Pandey et al.³⁰ (2015) apresentou maior taxa de Sero Yield para HCV, com 377 amostras (0,8%). Já Calegaro et al.²⁸ (2020) apresentou 184 amostras de Sero Yield (1,07%), a maior taxa para HBV. Por outro lado, Chatterjee et al.²⁶ (2022) não encontrou casos de Sero Yield, tanto para HBV quanto para HCV. Os demais estudos mostraram dados de Sero Yield similares entre si, os quais são semelhantes aos dados de Ebeid et al.⁴⁵ (2019), o qual encontrou 0,9% de Sero Yield para ambos os vírus (HCV e HBV). Com base neste conhecimento, sabe-se que o padrão de discordância entre os testes sorológicos e o NAT pode ser atribuído, principalmente, a possíveis resultados falso positivos nos testes sorológicos, devido à maior sensibilidade deste exame em relação a sua especificidade. Outra causa factível para o Sero Yield é a presença de doadores com grande número de anticorpos, mas com baixa viremia, dificultando a detecção pelo NAT. Isso pode acontecer por uma infecção crônica e, mais raramente, por falha no método de triagem clínica, em que a omissão de uma infecção, pelo vírus da hepatite C ou da hepatite B, em tratamento pode corroborar este dado. Assim, compreende-se que os testes

sorológicos não devem ser substituídos em favor do NAT, mas sim que os dois métodos devem ser utilizados de forma complementar entre si, a fim de assegurar maior segurança transfusional⁴⁶.

Por outra perspectiva, o NAT Yield é definido como amostras reativas para NAT, mas que são negativas para os testes sorológicos. Sabe-se que este achado está intimamente ligado às infecções agudas, em que o doador está no período de janela imunológica. Isto é, ainda não é possível detectar anticorpos ou antígenos neste doador, mas a viremia já é detectável. Dessa forma, compreende-se a importância de implantação do NAT nos hemocentros, a fim de reduzir cada vez mais o período de janela imunológica, impedindo que bolsas de sangue contaminadas com hepatite C ou com hepatite B sejam encaminhadas para transfusão de sangue⁴⁷.

Dito isso, o estudo de Duskova et al.³¹ (2014) não apresentou casos de NAT Yield no grupo 1 para ambos os vírus, sendo que as hipóteses para baixa prevalência do NAT neste artigo também se aplicam ao NAT Yield. No grupo 2 do mesmo estudo, encontrou-se uma amostra de NAT Yield para HCV, de modo que a alta prevalência percentual é atribuída ao tamanho amostral de apenas cinco amostras pré-convertidas. Além disso, o estudo chinês de Wu et al.³⁴ (2022) apresentou a maior taxa de HCV que pode ser atribuído ao seu grande tamanho amostral (2.071.695 amostras) em um largo espaço de tempo. No caso do HBV, Agarwal et al. (2013)²⁷ apresentou o maior NAT Yield que pode estar relacionado com o baixo acesso a serviços de saúde da amostra de doadores, corroborando maior susceptibilidade para tais infecções. Os valores encontrados de NAT Yield nos estudos incluídos nesta revisão se assemelham aos encontrados por Luz et al.⁴⁷ (2022), que encontrou 3 amostras positivas para NAT e negativa sorologicamente para HBV (0,0018%), mas não encontrou NAT Yield para HCV.

No que diz respeito à concordância entre os resultados dos dois tipos de testes, a média simples das concordâncias foi de 96,08% para HCV, variando entre 63% e 99,9%. De forma análoga, a média da concordância para HBV foi de 97,64%, com variação de 79% a 99%. Como a maioria dos artigos apresentaram concordância maior do que 99%, este contexto parece refletir o estado da arte, pois, além de apresentarem resultados próximos entre si, os dados são similares aos identificados por Chandrashekar⁴⁸ (2014), com concordância entre o teste molecular e sorológico de 99,9% e de 99,3% para HCV e HBV, respectivamente. A baixa concordância identificada no artigo de Hans et al.³⁵ (2019), que apresentou concordância de 63% para HCV e de 79% para HBV, pode ser atribuída aos métodos empregados no estudo em questão. Isso porque métodos de triagem distintos - como por exemplo, diferentes gerações dos kits do ELISA - apresentam diferentes sensibilidades e especificidade.⁴⁴ Por isso, as sorologias podem estar mais propensas a resultados falsos-positivos que não são confirmados pelo teste molecular, gerando resultados discrepantes.

Com base nessas informações, observam-se como limitações desta revisão sistemática a presença de artigos que não especificaram dados individualizados para soroprevalência e para concordância. Isto reflete uma realidade da literatura, em que a maioria dos artigos também não especificaram outras variáveis, como os valores de Sero Yield e NAT Yield. Assim, a falta de clareza dos dados dificulta uma avaliação ainda mais robusta do panorama de infecções por HCV e por HBV em doadores de sangue no mundo.

Apesar disso, pode-se avaliar como favorável, nesta revisão sistemática, a presença de boa quantidade de estudos, nos quais foram verificados baixo risco de viés e boa qualidade metodológica. Além disso, todos os artigos incluídos foram estritamente triados pelos critérios de inclusão e de exclusão. Com isso, foi possível cumprir os objetivos do estudo.

Portanto, observa-se a necessidade de desenvolvimento de estudos constantes no segmento da hemotransfusão, a fim de compreender o padrão dos achados das doações de sangue e, conseqüentemente, nortear o aprimoramento das técnicas de triagem dos hemocentros em todo o mundo. Dessa forma, será possível oferecer aos serviços de saúde e à própria população transfusões sanguíneas cada vez mais seguras contra infecções.

7. CONCLUSÃO

Destarte, por meio desta revisão, foi possível ratificar a importância de métodos de triagens acurados para aumentar a segurança transfusional. Embora seja incomum na contemporaneidade, sabe-se que ainda é possível ocorrer contaminação pelos vírus da hepatite C e da hepatite B após recebimento de transfusão sanguínea. Por conta disso, a associação entre testes sorológicos e testes moleculares associados aos métodos de triagem clínica tem se apresentado como uma necessidade nos hemocentros globalmente.

Nesse contexto, a variação de prevalência de infecções por HCV e por HBV entre doadores de sangue reflete dinâmicas socioculturais e econômicas, além de assistência à saúde característicos de diferentes partes do mundo. Inclusive, nos limites de uma mesma nação, existem discrepâncias de acordo com a região analisada, mostrando que indicadores como uso de drogas injetáveis, comportamentos sexuais de risco e vacinação para HBV podem modificar o padrão da infecção em cada localidade.

Ademais, espera-se que os testes utilizados nos hemocentros apresentem alta sensibilidade, possuindo capacidade de detectar doença em indivíduos infectados. Desse modo, o NAT é vantajoso pela maior habilidade de detecção precoce de infecções dos vírus estudados, reduzindo o período de janela imunológica. Na mesma perspectiva, os testes sorológicos exercem imprescindível papel na triagem laboratorial das amostras de sangue. Dito isso, há uma variabilidade entre os resultados de prevalência de HCV e de HBV pelos testes moleculares e pelos testes sorológicos.

É primordial ressaltar a ausência de métodos que sejam 100% acurados para detecção de infecções transfusionais. Dessa maneira, as discrepâncias encontradas entre os resultados pelo NAT e pelos testes sorológicos evidenciam a diferença de sensibilidade e de especificidade dos métodos a depender do

período de infecção do doador. Assim, os testes sorológicos apresentam baixa sensibilidade antes da soroconversão. Além disso, a maior sensibilidade em relação à especificidade deste método, após a soroconversão, promove maior susceptibilidade a resultados falsos-negativos que podem ser elucidados por testes moleculares. Por outro lado, a presença de uma infecção crônica, com alta de anticorpos e baixa viremia atrapalha a detecção pelo NAT.

Em consonância com os resultados desta revisão sistemática, conclui-se que a concordância entre os testes sorológicos, ELISA ou quimioluminescência, e o NAT é superior a 99% na maioria dos artigos. A grande porcentagem de concordância não dispensa a aplicação de um dos métodos, sendo imprescindível a continuidade de aplicação dos dois testes em paralelo nos hemocentros para assegurar a segurança transfusional.

REFERÊNCIAS

1. Eko Mba JM, Bisseye C, Mombo LE, Ntsame Ndong JM, Mbina Ekayeng SC, Bengone C, et al. Assessment of rapid diagnostic tests and fourth-generation Enzyme-Linked Immunosorbent Assays in the screening of Human Immunodeficiency and Hepatitis B virus infections among first-time blood donors in Libreville (Gabon). *J Clin Lab Anal* [Internet]. 2019 Mar 1 [cited 2022 Nov 18];33(3). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6818564/>
2. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica [Internet]. Brasília: ms; 2005 [cited 2022 Nov 18]. Available from: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/Guia_Vig_Epid_novo2.pdf
3. World Health Organization. Hepatitis B [Internet]. [cited 2022 Sep 23]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>
4. World Health Organization. Hepatitis C [Internet]. [cited 2022 Sep 23]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>
5. Saber HR, Tabatabaee SM, Abasian A, Jamali M, SalekMoghadam E, Hajibeigi B, et al. Incidence and Residual Risk of HIV, HBV and HCV Infections Among Blood Donors in Tehran. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2023 Sep 20];33(3):412–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28824247/>
6. Divisão de Imunização. Divisão de Hepatites. Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo–DI/DH/CVE/CCD/SES-SP. Vacina contra hepatite B. *Rev Saúde Pública* [Internet]. 2006 [cited 2022 Oct 7];40(6). Available from: <https://doi.org/10.1590/S0034-89102006000700026>
7. Dogbe EE, Arthur F. Diagnostic accuracy of blood centers in the screening of blood donors for viral markers. *Pan Afr Med J* [Internet]. 2015 [cited 2022 Nov 18];20:119. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4458317/>
8. Martins TS, Nóbrega JOT. Transfusion security in Brazil: from the beginnings to NAT. *Revista Brasileira de Análises Clínicas* [Internet]. 2018 [cited 2022 Nov 18];50(4). Available from: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/05/995961/rbac-vol-50-4-2018-ref-693.pdf>

9. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação N° 5, de 28 de setembro de 2017 [Internet]. [cited 2022 Nov 18]. Available from: http://portalsinan.saude.gov.br/images/documentos/Legislacoes/Portaria_Consolidacao_5_28_SETEMBRO_2017.pdf
10. Atef DM, Atef RM. Usefulness of nucleic acid testing among negative HBs Ag blood donors in Egypt. *Transfusion and Apheresis Science* [Internet]. 2019 Aug 1 [cited 2022 Nov 18];58(4):468–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31105059/>
11. Niazi SK, Bhatti FA, Salamat N, Ghani E, Tayyab M. Impact of nucleic acid amplification test on screening of blood donors in Northern Pakistan. *Transfusion (Paris)* [Internet]. 2015 Jul 1 [cited 2022 Nov 18];55(7):1803–11. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/trf.13017>
12. Brasil. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais 2022 [Internet]. Ministério da Saúde; [cited 2022 Nov 4]. Available from: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/especiais/2022/boletim-epidemiologico-de-hepatites-virais-2022-numero-especial/view>
13. Brasil. Ministério da Saúde. Guia De Vigilância em Saúde [Internet]. 2021 [cited 2022 Nov 18]. Available from: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_5ed.pdf
14. Brasil. Ministério da Saúde. Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais [Internet]. Brasília; 2018 [cited 2022 Nov 18]. Available from: https://qualitr.paginas.ufsc.br/files/2018/08/manual_tecnico_hepatites_08_2018_web.pdf
15. Herrscher C, Roingeard P, Blanchard E. Hepatitis B Virus Entry into Cells. *Cells* [Internet]. 2020 Jun 18 [cited 2022 Nov 18];9(6). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7349259/#:~:text=After%20binding%20to%20the%20hepatocyte,other%20receptors%20during%20cell%20penetration.>
16. Focaccia Roberto. *Tratado de Infectologia*. 5th ed. Focaccia R, editor. São Paulo: Editora Atheneu; 2015. 552–656 p.
17. Murray PR, Tenenbaum S, Rosenthal, Michael A. Pfaller. *Microbiologia Médica*. 8th ed. Grupo Editorial Nacional, editor. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan Ltda; 2020. 550–558 p.
18. Busch MP, Bloch EM, Kleinman S. Prevention of transfusion-transmitted infections. *The American Society of Hematology* [Internet]. 2019 [cited 2022 Nov 18];133(17). Available from: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006-4971\(20\)42605-9](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006-4971(20)42605-9)

19. Garcia FB, Gomide GPM, Pereira GA, Moraes-Souza H. Importância dos testes sorológicos de triagem e confirmatórios na detecção de doadores de sangue infectados pelo vírus da hepatite C. *Rev Bras Hematol Hemoter* [Internet]. 2008 [cited 2022 Oct 31];30(3). Available from: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842008000300011>
20. Shah K, Maghsoudlou P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): the basics. *Br J Hosp Med* [Internet]. 2016 [cited 2022 Nov 18];7(7):821–4. Available from: https://www.magonlinelibrary.com/doi/abs/10.12968/hmed.2016.77.7.C98?rfr_dat=cr_pub++0pubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org
21. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência. Implantação e rotina dos testes de ácidos nucleicos (NAT) em serviços de hemoterapia – manual operacional [Internet]. Brasília; 2013 [cited 2022 Nov 18]. Available from: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/implantacao_rotina_acidos_nucleicos_manual.pdf
22. Stramer SL, Glynn SA, Kleinman SH, Strong DM, Caglioti S, Wright DJ, et al. Detection of HIV-1 and HCV Infections among Antibody-Negative Blood Donors by Nucleic Acid-Amplification Testing. *N Engl J Med* [Internet]. 2004 [cited 2022 Nov 18];8:351. Available from: https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa040085?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200www.ncbi.nlm.nih.gov
23. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews [Internet]. Vol. 372, *The BMJ*. BMJ Publishing Group; 2021 Mar [cited 2022 Nov 18]. Available from: <https://www.bmj.com/content/bmj/372/bmj.n71.full.pdf>
24. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. A declaração PRISMA 2020: diretriz atualizada para relatar revisões sistemáticas. *Epidemiologia e Serviços de Saúde* [Internet]. 2022 Jul [cited 2022 Nov 18];31(2). Available from: <https://www.prisma-statement.org/documents/PRISMA%202020%20checklist%20and%20checklist%20for%20abstract%20BRAZILIAN%20PORTUGUESE.pdf>
25. Mourad Ouzzani HHZF and AE. Rayyan — a web and mobile app for systematic reviews. *Systematic Reviews*. 2016.
26. Chatterjee K, Coshic P, Borgohain M, Thapliyal RM, Chakroborty S, Sunder S. Individual donor nucleic acid testing for blood safety against HIV-1 and hepatitis B and C viruses in a tertiary care hospital. 2012 [cited 2023 May 9];25(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23278777/>

27. Kosan E, Kocazeybek B, Altunay H, Aymelek M, Alan E, Saribas S, et al. Can the nucleic acid amplification test (NAT) be an alternative to the serologic tests? A prospective study, the results of 18,200 blood donors from the Turkish Red Crescent. *Transfusion and Apheresis Science* [Internet]. 2010 Dec [cited 2023 May 10];43(3):269–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20943441>
28. Calegari MADS, Santos DV, Blume Brietzke C, Jacociunas LV. Avaliação Individual e correlação dos marcadores sorológicos e do teste de amplificação de ácido nucléico para os vírus da hepatite B e hepatite C na triagem de doadores de um banco de sangue de Porto Alegre - RS. *Clin Biomed Res* [Internet]. 2020 [cited 2023 May 10];40(2):84–90. Available from: <http://seer.ufrgs.br/hcpa>
29. Agarwal N, Chatterjee K, Coshic P, Borgohain M. Nucleic acid testing for blood banks: An experience from a tertiary care centre in New Delhi, India. *Transfusion and Apheresis Science* [Internet]. 2013 Dec [cited 2023 May 9];49(3):482–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23541414/>
30. Pandey P, Tiwari AK, Dara RC, Rawat GS, Negi A, Raina V. Confirmation and follow up of initial “NAT yields”: Prospective study from a tertiary healthcare center in India. *Transfusion and Apheresis Science* [Internet]. 2016 Apr 1 [cited 2023 May 11];54(2):242–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26321477/>
31. Dušková D, Darebníček L. Nucleic acid testing of hepatitis B virus, hepatitis C virus, and human immunodeficiency virus 1, 2 in blood donors in the general university hospital, Prague. *Acta Virol* [Internet]. 2014 [cited 2023 May 12];58(2):146–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24957719/>
32. Kumar R, Gupta S, Kaur A, Gupta M. Individual donor-nucleic acid testing for human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus and hepatitis B virus and its role in blood safety. *Asian J Transfus Sci* [Internet]. 2015 Jul 1 [cited 2023 May 9];9(2):199–202. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26420945/>
33. Vermeulen M, Lelie N, Sykes W, Crookes R, Swanevelder J, Gaggia L, et al. Impact of individual-donation nucleic acid testing on risk of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and hepatitis C virus transmission by blood transfusion in South Africa. *Transfusion (Paris)* [Internet]. 2009 Jun [cited 2023 May 13];49(6):1115–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19309474/>
34. Wu D, Feng F, Wang X, Wang D, Hu Y, Yu Y, et al. The impact of nucleic acid testing to detect human immunodeficiency virus, hepatitis C virus, and hepatitis B virus yields from a single blood center in China with 10-years

- review. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2023 May 13];22(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35321684/>
35. Hans R, Marwaha N, Sharma S, Sachdev S, Sharma R. Initial trends of individual donation nucleic acid testing in voluntary & replacement donors from a tertiary care centre in north India. *Indian Journal of Medical Research* [Internet]. 2019 May 1 [cited 2023 May 13];149(5):633–40. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6702695/>
 36. Datta S, Khillan K, Ranjan V, Wattal C. Nucleic acid amplification test: Bridging the gap in blood safety & re-evaluation of blood screening for cryptic transfusion-transmitted infection among Indian donors. *Indian Journal of Medical Research* [Internet]. 2019 Mar 1 [cited 2023 May 13];149(3):389–95. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6607810/>
 37. López-Menchero C, Alvarez M, Fernández P, Guzmán M, Ortiz-De-Salazar MI, Arbona C. Evolution of the residual risk of HBV, HCV and HIV transmission through blood transfusion in the Region of Valencia, Spain, during a 15-year period (2003-2017). *Blood Transfusion* [Internet]. 2019 [cited 2023 Aug 13];17(6):418–27. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31403928/>
 38. O'Brien SF, Yi QL, Fan W, Scalia V, Fearon MA, Allain JP. Current incidence and residual risk of HIV, HBV and HCV at Canadian Blood Services. *Vox Sang* [Internet]. 2012 Jul [cited 2023 Aug 16];103(1):83–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22289147/>
 39. Vermeulen M, Swanevelder R, Chowdhury D, Ingram C, Reddy R, Bloch EM, et al. Use of blood donor screening to monitor prevalence of HIV and hepatitis B and C viruses, South Africa. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2023 Aug 16];23(9):1560–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28820374/>
 40. Sood A, Suryaprasad A, Trickey A, Kanchi S, Midha V, Foster MA, et al. The burden of hepatitis C virus infection in Punjab, India: A population-based serosurvey. *PLoS One* [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2023 Aug 19];13(7). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30048454/>
 41. Almeida-Neto C, Sabino EC, Liu J, Blatyta PF, Mendrone-Junior A, Salles NA, et al. Prevalence of serologic markers for hepatitis B and C viruses in Brazilian blood donors and incidence and residual risk of transfusion transmission of hepatitis C virus. *Transfusion (Paris)* [Internet]. 2013 Apr [cited 2023 Aug 19];53(4):827–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22882510/>
 42. Dodd RY, Notari EP, Stramer SL. Current prevalence and incidence of infectious disease markers and estimated window-period risk in the

- American Red Cross blood donor population [Internet]. [cited 2023 Aug 19]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12385406/>
43. Velati C, Romanò L, Pati I, Marano G, Piccinini V, Catalano L, et al. Prevalence, incidence and residual risk of transfusion-transmitted hepatitis B virus infection in Italy from 2009 to 2018. *Blood Transfusion* [Internet]. 2019 [cited 2023 Aug 19];17(6):409–17. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6917538/>
 44. Pandey P, Tiwari AK, Dara RC, Aggarwal G, Rawat G, Raina V. A comprehensive serological and supplemental evaluation of hepatitis B “seroyield” blood donors: A cross-sectional study from a tertiary healthcare center in India. *Asian J Transfus Sci* [Internet]. 2015 Jul 1 [cited 2023 Sep 23];9(2):189–94. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4562144/>
 45. Ebeid YE, Kholeif HAE, Hassan Hussein N. Role of Nucleic Acid Test (NAT) in Detection of Transfusion Transmitted Viruses in Comparison to Other Methods. *Egypt J Hosp Med* [Internet]. 2019 [cited 2023 Aug 24];76(2):3542. Available from: https://ejhm.journals.ekb.eg/article_38887_a7ae584c3410cdcfdbaec873b851ea3b.pdf
 46. Lima D. Estudo comparativo de metodologias de triagem para HIV e HCV em doadores de sangue [Internet]. [cited 2023 Aug 24]. Available from: http://ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/revista_virtual/hematologia/artigodelvaniabc.pdf
 47. Luz E, Marques M, Netto EM, Campos LM, Amaral S, Santana I, et al. HIV, HTLV, and Hepatitis B and C Infection in Blood Donors in Bahia, Brazil from 2008 to 2017. *Viruses* [Internet]. 2022 Nov 1 [cited 2023 Sep 5];14(11). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9692744/>
 48. Chandrashekar S. Half a decade of mini-pool nucleic acid testing: Cost-effective way for improving blood safety in India. *Asian J Transfus Sci* [Internet]. 2014 Jan [cited 2023 Sep 18];8(1):35–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3943143/>

(HBAg, Anti)) OR (Hepatitis B Virus Antibodies)) OR (Hepatitis C)) OR (Hepatitis, Viral, Non-A, Non-B, Parenterally-Transmitted)) OR (Parenterally Transmitted Non A, Non B Hepatitis)) OR (Parenterally-Transmitted Non-A, Non-B Hepatitis)) OR (PT-NANBH)) OR (Hepacivirus)) OR (Hepaciviruses)) OR (Hepatitis C Like Viruses)) OR (Hepatitis C virus)) OR (Hepatitis C viruses)) OR (Hepatitis C-Like Virus)) OR (Hepatitis C-Like Viruses)) OR (Hepatitis C, Chronic)) OR (Chronic Hepatitis C)) OR (Hepatitis C Antigens)) OR (Hepatitis C Antigen)) OR (Hepatitis Non A, Non B Antigen)) OR (Hepatitis Non-A, Non-B Antigen)) OR (Hepatitis C Antibodies)) OR (Anti HCV Antibodies)) OR (Anti Hepatitis C Virus Antibodies)) OR (Anti-HCV Antibodies)) OR (Anti-Hepatitis C Virus Antibodies)) OR (HCV Antibodies)) OR (Hepatitis C Virus Antibodies)