

Feliciano Lage de Oliveira Marinho

AVALIAÇÃO DE OITO TESTES RÁPIDOS PARA A DETECÇÃO DA INFECÇÃO PELO  
VÍRUS HIV QUANTO AO DESEMPENHO ANALÍTICO E A QUALIDADE DAS  
INFORMAÇÕES CONTIDAS NAS INSTRUÇÕES DE USO

Universidade Federal de Minas Gerais  
Faculdade de Medicina  
Belo Horizonte - MG  
2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

UFMG

## ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DA ALUNA

### FELICIANA LAGE DE OLIVEIRA MARINHO

Realizou-se, no dia 08 de março de 2017, às 14:00 horas, Faculdade de Medicina da UFMG, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada *AValiação DE OITO TESTES RÁPIDOS PARA A DETECÇÃO DA INFECÇÃO PELO VÍRUS HIV QUANTO AO DESEMPENHO ANALÍTICO E A QUALIDADE DAS INFORMAÇÕES CONTIDAS NAS BULAS*, apresentada por FELICIANA LAGE DE OLIVEIRA MARINHO, número de registro 2015652528, graduada no curso de BIOMEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em PATOLOGIA, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Leonardo de Souza Vasconcellos - Orientador (UFMG), Prof(a). Suzane Pretti Figueiredo Neves (UFMG), Prof(a). Silvana Maria Eloi Santos (UFMG), Prof(a). Marise Oliveira Fonseca (UFMG).

A Comissão considerou a dissertação:

Aprovada

Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 08 de março de 2017.

Prof(a). Leonardo de Souza Vasconcellos ( Doutor )

Prof(a). Suzane Pretti Figueiredo Neves ( Doutora )

Prof(a). Silvana Maria Eloi Santos ( Doutora )

Prof(a). Marise Oliveira Fonseca ( Doutora )



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

**UFMG**

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

**AVALIAÇÃO DE OITO TESTES RÁPIDOS PARA A DETECÇÃO DA INFECÇÃO  
PELO VÍRUS HIV QUANTO AO DESEMPENHO ANALÍTICO E A QUALIDADE  
DAS INFORMAÇÕES CONTIDAS NAS BULAS**

**FELICIANA LAGE DE OLIVEIRA MARINHO**

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em PATOLOGIA, como requisito para obtenção do grau de Mestre em PATOLOGIA, área de concentração PATOLOGIA INVESTIGATIVA.

Aprovada em 08 de março de 2017, pela banca constituída pelos membros:

Prof(a). Leonardo de Souza Vasconcellos - Orientador  
UFMG

Prof(a). Suzane Pretti Figueiredo Neves  
UFMG

Prof(a). Silvana Maria Eloi Santos  
UFMG

Prof(a). Marise Oliveira Fonseca  
UFMG

Belo Horizonte, 8 de março de 2017.

Feliciano Lage de Oliveira Marinho

AVALIAÇÃO DE OITO TESTES RÁPIDOS PARA A DETECÇÃO DA INFECÇÃO PELO  
VÍRUS HIV QUANTO AO DESEMPENHO ANALÍTICO E A QUALIDADE DAS  
INFORMAÇÕES CONTIDAS NAS INSTRUÇÕES DE USO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção de título de Mestre em Patologia.

**Orientador:** Prof. Leonardo de Souza Vasconcellos

**Co-orientadora:** Profa. Suzane Pretti Figueiredo Neves

Linha de Pesquisa: Patologia Clínica

Universidade Federal de Minas Gerais

Faculdade de Medicina

Belo Horizonte - MG

2017

M338a Marinho, Feliciano Lage de Oliveira.  
Avaliação de oito testes rápidos para detecção da infecção pelo vírus HIV quanto ao desempenho analítico e a qualidade das informações contidas nas instruções de uso [manuscrito]. / Feliciano Lage de Oliveira Marinho. - - Belo Horizonte: 2017.  
188f.: il.  
Orientador: Leonardo de Souza Vasconcellos.  
Coorientador: Suzane Pretti Figueiredo Neves.  
Área de concentração: Patologia.  
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.  
1. HIV. 2. Testes Laboratoriais. 3. Sorodiagnóstico da AIDS. 4. Sensibilidade e Especificidade. 5. Confiabilidade dos Dados. 6. Dissertações Acadêmicas. I. Vasconcellos, Leonardo de Souza. II. Neves, Suzane Pretti Figueiredo. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WC 503

## **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

Reitor: Prof. Jaime Arturo Ramírez

Vice-Reitora: Profa. Sandra Regina Goulart Almeida

Pró-Reitor de Pós Graduação: Prof. Ricardo Hiroshi Caldeira Takahashi

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Ado Jório

## **FACULDADE DE MEDICINA**

Diretor: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Vice-Diretor: Prof. Humberto José Alves

Coordenador do Centro de Pós Graduação: Prof. Luiz Armando Cunha de Marco

Subcoordenador do Centro de Pós Graduação: Prof. Edson Samesima Tatsuo

## **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

Coordenador: Prof. Wagner Luiz Tafuri

Subcoordenadora: Profa. Milene Alvarenga Rachid

## **COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

Coordenador: Prof. Wagner Luiz Tafuri

Subcoordenadora: Profa. Milene Alvarenga Rachid

Membros titulares:

Prof. Geovanni Dantas Cassali

Prof. Enio Ferreira

Prof. Pedro Guatimosim Vidigal

Prof. Tatiane Alves da Paixão

Prof. Milene Alvarenga Rachid

Luciana Xavier Pereira – representante discente

Este trabalho foi desenvolvido pelo Grupo de Pesquisa em Patologia Clínica/Medicina Laboratorial da Universidade Federal de Minas Gerais (GPPCML/CNPq).

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente à Deus, sem Ele nada seria possível.

Aos meus pais, familiares e amigos, que foram capazes de entender minha ausência e sempre estiveram ao meu lado e me incentivaram.

Ao Instituto Hermes Pardini, em especial à Dra. Maria Laura Froede, à Magda Senra, aos setores Pós Analítico e Linha Azul, ao Elvis Mateo e ao P&D, ao Guilherme Campos, à Ana Carla Santos, ao Dr. Fabiano Britto, à Dra. Junia Perez, à Vanessa Oliveira e ao Dr. Guilherme Collares.

Ao setor de Sorologia e Hormônios da Unidade Laboratório de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

À Prefeitura Municipal de Belo Horizonte e às empresas Alere, Intertek Katal, LabTest, MBiolog e Wama Diagnóstica pela doação dos kits dos testes rápidos.

Ao meu orientador Prof. Dr. Leonardo de Souza Vasconcellos, obrigada pela paciência e parceria.

À minha co-orientadora Profa. Dra. Suzane Pretti Figueiredo Neves, com seu toque tudo fica mais bonito.

Ao Dr. William Pedrosa, pela parceria.

Ao Nelson Luis Linon Santos, Nelsinho, sem você este sonho não teria se realizado.

À Isabella Figueiredo de Andrade Calistro, pela paciência, apoio e sinceridade de sempre.

À minha querida prima e eterna professora Marília Vasconcelos de Melo Campos, por me socorrer, mesmo em cima da hora, seu apoio e carinho foram fundamentais.

Ao acadêmico Francisco César Tomás da Silva Júnior.

## RESUMO

Os Testes Rápidos (TR), também conhecidos como testes laboratoriais remotos, são ensaios imunocromatográficos cujos resultados são liberados em até 30 minutos. Em 17 de dezembro de 2013, o Ministério da Saúde publicou a portaria n.29, preconizando a utilização de TR para o diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV (fluxogramas 1 e 2). Entretanto, a literatura é carente de trabalhos que comparam e validam os diferentes testes rápidos disponíveis no Brasil entre si e os fluxogramas citados. Este trabalho teve como objetivos avaliar oito testes rápidos disponíveis em território nacional para detecção da infecção pelo HIV, quanto ao desempenho analítico (sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo, razões de verossimilhança positiva e negativa e acurácia); a qualidade do padrão de leitura dos resultados; a qualidade das informações contidas nas instruções de uso; o custo financeiro de cada teste; a concordância dos resultados dos testes rápidos entre si; e a influência do prazo de validade no desempenho analítico. Trata-se de estudo observacional, analítico e de concordância, onde foram analisadas 228 amostras sanguíneas humanas, com idade acima de 18 meses, de ambos os sexos, com padrão sorológico para HIV previamente definido via eletroquimioluminescência (triagem) e Western Blot (confirmatório): 100 reagentes, 100 não reagentes e 28 indeterminadas. Todos os TR foram realizados conforme as orientações dos fabricantes, que também informaram a cotação financeira de cada kit. A análise das informações descritas nas instruções de uso foi conduzida por um único pesquisador, após padronização de critérios definidos com a equipe. O desempenho analítico e a concordância de resultados foram calculados, considerando IC 95% e nível de significância  $p < 0,05$ . Houve diferenças nos desempenhos analíticos dos TR testados, cujos resultados foram: sensibilidade (92% e 100%), especificidade (94% e 100%), valores preditivos positivo (90,7% a 100%) e negativo (95,5% a 100%), razões de verossimilhança positiva (0,00 a 1,00) e negativa (0,0 a 8,08) e acurácia (86,5% a 99,5%). Na análise pareada entre os kits, os índices de correlação Kappa calculados variaram de 0,51 a 0,88. Quanto à qualidade do padrão de leitura dos TR, duas marcas apresentaram vários resultados com bandas positivas de difícil visualização, comprometendo a utilização dos mesmos. Quanto à qualidade de informações apresentadas nas instruções de uso, observou-se que a maioria está adequada. Entretanto, dados sobre a composição da fase sólida, antígenos detectáveis, interferentes analíticos, reações cruzadas, reprodutibilidade, precisão e forma de descarte do material não foram informadas em várias instruções de uso. O preço médio dos TR variou de R\$ 3,20 a R\$7,00. O desempenho de um TR testado após cinco anos de vencimento foi bom. Concluindo, dos oito dispositivos testados, seis apresentaram desempenho analítico e padrão de leitura adequados, além de boa correlação entre si, sendo recomendada a utilização dos mesmos como testes de triagem na rotina assistencial.

**Palavras-Chave:** HIV, teste laboratorial remoto, Sorodiagnóstico da AIDS, Sensibilidade e Especificidade, Confiabilidade dos Dados.

## ABSTRACT

The rapid tests (TR), also known as remote laboratory tests, are immunochromatographic assays whose results are released within 30 minutes. On December 17, 2013, the Ministry of Health of Brazil published ordinance n.29, recommending the use of TR for laboratorial diagnosis of HIV infection (flowcharts 1 and 2). However, the literature is lacking of works that compare and validate the different rapid tests available in Brazil among themselves and the cited flowcharts. The objective of this study was to evaluate eight rapid tests available in Brazil to detect HIV infection for: analytical performance (sensitivity, specificity, positive and negative predictive values, positive and negative likelihood ratios and accuracy); the quality of the reading pattern of the results; the quality of the information contained in the package leaflets; the financial cost of each test; the agreement of the results of the rapid tests with each other; and the influence of the shelf-life on analytical performance. This was an observational, analytical and concordance study, in which 228 human blood samples, aged over 18 months, of both sexes, with a serological pattern for HIV previously defined by electrochemiluminescence (screening) and Western Blot (confirmatory) were analyzed: 100 reagents, 100 non reagents and 28 undetermined. All TR were carried out according to the manufacturers' instructions, which also informed the financial quotation of each kit. The analysis of the information described in the package inserts was conducted by a single researcher, after standardization of defined criteria with the team. Analytical performance and agreement of results were calculated, considering 95% CI and significance level  $p < 0.05$ . There were differences in the analytical performances of the TR tested, with sensitivity (92% to 100%), specificity (94% to 100%), positive predictive values (90.7% to 100%) and negative (95.5% to 100%), positive likelihood ratios (0.00 to 1.00) and negative (0.0 to 8.08) and accuracy (86.5% to 99.5%). In the paired analysis between the kits, the calculated Kappa correlation indexes ranged from 0.51 to 0.88. Regarding the quality of the TR reading pattern, two brands presented several results with positive bands of difficult visualization, compromising their use. Regarding the quality of information presented in the package inserts, it was observed that the majority are adequate. However, data on the composition of the solid phase, detectable antigens, analytical interferences, cross-reactions, reproducibility, precision and form of material disposal have not been reported in various package inserts. The average TR price ranged from R\$ 3.20 to R\$ 7.00. The performance of a TR tested after five years of maturity was good. Concluding, six of the eight devices tested were present adequate analytical performance and reading pattern, also a good correlation among them, being recommended the use of the same as screening tests in the care routine.

**Key-words:** HIV, point-of-care testing, AIDS Serodiagnosis, Sensitivity and Specificity, Data Accuracy

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais proteínas de importância diagnóstica do HIV .....	23
Tabela 2 – Classificação de Fiebig para diagnóstico da infecção do HIV-1 <sup>11,47</sup> .....	38
Tabela 3 – Testes rápidos aprovados pelo FDA, em Janeiro de 2017 .....	43
Tabela 4 – Testes rápidos aprovados pela ANVISA, em Janeiro de 2017.....	45
Tabela 5 - Avaliação das características de execução de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV.....	64
Tabela 6 - Verificação da composição das instruções de uso de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV.....	65
Tabela 7 – Dados analíticos apresentados nas instruções de uso de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV.....	66
Tabela 8 – Avaliação de informações apresentadas nas instruções de uso de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV .....	67
Tabela 9 – Interferentes e reações cruzadas informados nas instruções de uso de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV .....	68
Tabela 10 – Dados referentes à sensibilidade, especificidade, reprodutibilidade/precisão e controle de qualidade informados nas instruções de uso de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV.....	69
Tabela 11 – Custo unitário dos kits (em reais e em dólares) de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV.....	70
Tabela 12 - Sensibilidade de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV ...	71
Tabela 13 - Especificidade de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV .	72
Tabela 14 – Valores preditivos positivo e negativo de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV.....	74
Tabela 15 – Razões de Verossimilhança e Acurácia de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV.....	75
Tabela 16 – Verdadeiro positivo e negativo, falso positivo e negativo de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV .....	76
Tabela 17 – Concordância - índice Kappa (IC 95%) entre as oito marcas de testes rápidos para detecção da infecção pelo HIV.....	77
Tabela 18 – Desempenho analítico dos oito testes rápidos nas 28 amostras indeterminadas.....	78
Tabela 19 - Comparação de sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo entre kits Alere Determine HIV 1 e 2, de acordo com a data de validade (IC 95%) .....	79
Tabela 20 - Comparação das razões de verossimilhança e acurácia entre kits Alere Determine HIV 1 e 2, de acordo com a data de validade (IC 95%).....	80

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Desenho da estrutura do HIV.....	22
Figura 2 - Genomas do HIV-1 e 2.....	23
Figura 3 - Classificação do HIV quanto aos grupos e tipos.....	25
Figura 4 - Ciclo de replicação do HIV.....	29
Figura 5 - Evolução da doença através dos marcadores laboratoriais na ausência de tratamento	31
Figura 6 - Cinética dos marcadores laboratoriais.....	38
Figura 7 – Ensaio imunocromatográfico de fluxo lateral.....	41
Figura 8 – Teste rápido DPP.....	42
Figura 9 - Esquema teste rápido <i>flow-through</i> .....	42
Figura 10 - Teste rápido <i>flow-through</i> .....	42
Figura 11 – Alere Determine HIV 1 e 2.....	48
Figura 12 – DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest).....	49
Figura 13 – DS Rapid Test HIV (Labtest).....	49
Figura 14 – Imunocrom HIV 1/2 (Mbiolog).....	50
Figura 15 – Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama).....	50
Figura 16 – Interkit HIV 1 e 2 (Katal).....	51
Figura 17 – HIV 1/2/O Tri-line (Abon).....	51
Figura 18 – HIV Test Bioeasy (Bioeasy®).....	52
Figura 19 - Gráfico de distribuição da região de origem das amostras.....	62
Figura 20 - Gráfico de distribuição da amostra por faixa etária de acordo com o sexo.....	63
Figura 21 – Variação no padrão de leitura das bandas em uma mesma amostra sanguínea sabidamente reagente (nº55)..	73

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS: *Acquired Immune Deficiency Syndrome*  
ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
ART: *antiretroviral therapy*  
CAAE: Certificado de Apresentação para Apreciação Ética  
CLIA: *chemiluminescence immuno assay*  
CN DST/AIDS: Coordenação Nacional de Doenças Sexualmente Transmitidas e AIDS  
CRF: *circulating recombinant forms*  
CTA: Centros de Testagem e Aconselhamento  
CV: Carga Viral  
DDAHV: Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais  
DNA: *deoxyribonucleic acid*  
DPP: *Dual Path Platform*  
DST: Doenças sexualmente transmissíveis  
ECLIA: *electrochemiluminescence immuno assay*  
EDTA: *Ethylenediamine tetraacetic acid*  
EIA: *enzymatic immuno assay*  
ELFA: *Enzyme Linked Fluorescent Assay*  
ELISA: *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*  
FDA: *Food and Drug Administration*  
FN: falso negativo  
FO: Fluido Oral  
FP: falso positivo  
HC/UFMG: Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais  
HCG: *Human chorionic gonadotrophin*  
HIV: *Human Immunodeficiency Virus*  
HTLV I/II: *Human t-cell lymphotropic virus I e II*  
IB: Imunoblot  
IBR: Imunoblot Rápido  
IC: intervalo de confiança  
IE: Imunoensaios enzimáticos  
IFI: Imunofluorescência Indireta

IgA: Imunoglobulina A  
IgE: Imunoglobulina E  
IgG: Imunoglobulina G  
IgM: Imunoglobulina M  
IHP: Instituto Hermes Pardini  
IL-1: Interleucina 1  
IL-6: Interleucina 6  
LIA: *Line Immuno Assay*  
MS: Ministério da Saúde  
NAT: *nuclieic acid amplification tests*  
POCT: *point-of-care testing*  
RNA: *ribonucleic acid*  
RV+: razão de verossimilhança positiva  
RV-: razão de verossimilhança negativa  
SIV: *Simian Immunodeficiency Virus*  
SNC: Sistema Nervoso Central  
SVS/MS: Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde  
TLR: testes laboratoriais remotos  
TNF: *Tumor necrosis factor*  
TR: Teste Rápido  
UDI: usuários de drogas injetáveis  
UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais  
UNAIDS: Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS  
VN: verdadeiro negativo  
VP: verdadeiro positivo  
WB: *Western Blot*

## LISTA DE SÍMBOLOS

®	marca registrada
%	porcentagem
<	menor que
≥	maior ou igual a

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	17
2. OBJETIVOS.....	20
2.1. Objetivo Geral .....	20
2.2. Objetivos Específicos .....	20
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	21
3.1. O vírus .....	21
3.1.1. Origem.....	24
3.1.2. Subtipos .....	25
3.2. Transmissão e Patogênese .....	27
3.3. Epidemiologia.....	32
3.4. Diagnóstico.....	34
3.5. Testes Rápidos (TR).....	39
4. METODOLOGIA .....	48
4.1. Ética.....	48
4.2. Delineamento do estudo .....	48
4.3. Amostras.....	53
4.4. Processamento das amostras.....	54
4.5. Qualidade das informações das instruções de uso.....	57
4.6. Qualidade do padrão de leitura das bandas dos TR.....	57
4.7. Custo financeiro de cada teste .....	58
4.8. Concordância pareada entre os resultados dos testes rápidos.....	58
4.9. Avaliação de desempenho com base na data de validade de um kit .....	59
4.10. Estatística.....	59
5. RESULTADOS .....	62
5.1. Amostras.....	62
5.2. Avaliação dos kits utilizados .....	63

5.3. Estatística.....	71
5.4. Avaliação de desempenho com base na data de validade de um kit .....	79
6. DISCUSSÃO.....	81
7. CONCLUSÕES.....	89
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	90
ANEXOS.....	103
Anexo 1 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da UFMG.....	103
Anexo 2 – Aprovação da Gerência de Ensino e Pesquisa do HC-UFMG .....	104
Anexo 3 – Instruções de uso dos testes rápidos avaliados .....	105
APÊNDICE – Fotografia de todos os testes rápidos realizados.....	129

# 1. INTRODUÇÃO

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) é o agente etiológico da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (*acquired immune deficiency syndrome* - AIDS) em humanos. Esta doença é considerada a primeira grande pandemia da segunda metade do século XX e foi descrita pela primeira vez em 1981<sup>1,2</sup>. Desde sua descoberta, várias técnicas de prevenção, diagnóstico e tratamento têm sido desenvolvidas na tentativa de prevenir, erradicar, curar e melhorar a qualidade de vida dos indivíduos infectados pelo vírus.

Diante deste novo cenário, os órgãos de regulamentação criaram regras e estratégias de testagem que visam melhorar a qualidade do diagnóstico da infecção recente pelo HIV e, ao mesmo tempo, fornecer uma base racional para assegurar que o diagnóstico seja preciso e concluído em tempo hábil<sup>3</sup>. No Brasil, tais regras estão descritas nas Portarias do Ministério da Saúde. No ano de 1985, o governo brasileiro criou a Coordenação Nacional de Doenças Sexualmente Transmitidas e AIDS (CN DST/AIDS) para gerir a política de combate à recente epidemia no país<sup>4</sup>. Entre os anos de 1987 e 1989 foram criados, em nível nacional, os Centros de Testagem e Aconselhamento (CTA), que ofereciam a possibilidade de indivíduos realizarem a testagem para HIV de forma gratuita, confidencial e anônima<sup>6</sup>. Em 1989, foram publicadas as primeiras recomendações para a o diagnóstico da infecção pelo HIV nos Estados Unidos. A partir de 1997, tornou-se obrigatória a testagem de anticorpos anti-HIV, para doadores de sangue, medula óssea, órgãos sólidos e sêmen no Brasil<sup>6</sup>.

A primeira Portaria do Ministério da Saúde (MS) para o diagnóstico sorológico da infecção pelo HIV foi criada em 1998 (Portaria nº 488/98)<sup>5</sup>, e falava sobre a realização de dois testes distintos de imunoenaios enzimáticos, em paralelo. Esses testes deveriam possuir princípios metodológicos e/ou antígenos diferentes e, pelo menos um deles, deveria ser capaz de detectar anticorpos anti-HIV-1 e anti-HIV-2<sup>5</sup>. Além disso, as amostras reagentes ou indeterminadas deveriam ser confirmadas por imunofluorescência indireta (IFI) ou *Western Blot* (WB)<sup>5</sup>.

Os testes rápidos (TR) passaram a fazer parte do diagnóstico para HIV no Brasil a partir de 2001, quando o MS publicou a recomendação para a profilaxia da transmissão materno infantil<sup>7</sup>, a qual discorria que um único TR era recomendado para algumas situações: a) triagem de gestantes no terceiro trimestre que não haviam realizado o diagnóstico da infecção pelo HIV durante a gestação; b) nos casos de gestantes que possuíam indicação clínica para reavaliar o diagnóstico realizado anteriormente e c) utilização no paciente-fonte nos casos de exposição ocupacional<sup>7</sup>.

Os TR, também conhecidos como testes laboratoriais remotos (TLR) do inglês *point-of-care testing* (POCT)<sup>49</sup>, são ideais para fornecer resultados no mesmo dia (em até 30 minutos) em uma variedade de situações e locais<sup>13</sup>, e têm como principais características o baixo custo, a agilidade no resultado e o baixo grau de complexidade de operação e leitura<sup>43,48,49</sup>. Em sua maioria, são kits pequenos e portáteis utilizados para uso diagnóstico de diversos tipos de análises, como por exemplo: glicose, coagulação, hormônios, agentes de doenças infecciosas, pH, gases sanguíneos, marcadores cardíacos, alergia, drogas, entre outros<sup>41</sup>.

Estudo realizado na Espanha, por Agustí *et al.*<sup>63</sup> revelou um alto nível de aceitação e vontade por parte dos médicos de clínica geral para oferecer teste rápido de HIV em suas práticas. No entanto, a utilização de testes rápidos de HIV na atenção primária não será possível sem que ocorram mudanças em todas as etapas do processo, desde o aconselhamento pré-teste até a entrega do resultado.

Segundo Louie *et al.*<sup>67</sup>, os TRs otimizaram a atuação da comunidade médica em identificar e informar os indivíduos infectados, principalmente em centros de saúde, salas de emergência, consultórios médicos e clínicas em geral<sup>67</sup>.

No ano de 2003, foi publicada a Portaria SVS/MS nº59, que abandonou o conceito de triagem com dois imunoenaios, tornando um único imunoenensaio com resultado não reagente suficiente para exclusão do diagnóstico. As amostras reagentes ou indeterminadas deveriam ser confirmadas por imunoblot (IB), IFI ou WB. Ainda no mesmo ano, foi implementado o Programa de Controle da Qualidade Analítica do Diagnóstico Laboratorial da Infecção pelo HIV<sup>8</sup>.

A Portaria de nº34, publicada em 2005, foi a primeira que regulamentou o uso dos TR para o diagnóstico da infecção pelo HIV, sem a necessidade de testes adicionais<sup>9</sup>. Em 2009, foi publicada a Portaria de nº151, que consolidou os algoritmos de laboratório e TR em um único documento<sup>10</sup>, com a intenção de ampliar e expandir o diagnóstico da infecção pelo HIV. Com a utilização dos conjuntos diagnósticos desenvolvidos, observou-se redução do número de etapas e, conseqüentemente, diminuição do tempo entre a coleta e a liberação do resultado<sup>6</sup>. Nessa mesma portaria, também foi regulamentada a utilização de amostras de sangue coletadas em papel-filtro.

Em 17 de Dezembro de 2013, foi publicada a Portaria nº29, que atualmente regulamenta o diagnóstico da infecção pelo HIV no Brasil<sup>3,47</sup>. Diferente das demais Portarias, esta se apresenta na forma de um manual, intitulado “Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV”, que descreve detalhadamente as abordagens laboratoriais em cinco fluxogramas, ao invés de

apresentá-los como anexos do documento. Neste manual, encontra-se: a) preconização da utilização de TR para o diagnóstico da infecção pelo HIV (fluxograma 1); b) inserção de TR utilizando fluido oral (FO) como metodologia alternativa para diagnóstico (fluxograma 2); c) preconização da carga viral (CV) como teste confirmatório (fluxogramas 3 e 4); e d) utilização do teste de WB como teste confirmatório (fluxograma 5).

Frente a essa nova realidade e a grande variedade de TR disponíveis no mercado, aprovados pelo MS, observou-se que a literatura é carente de trabalhos que comparam e validam entre si o desempenho analíticos dos mesmos e a aplicabilidade destes aos fluxogramas 1 e 2 citados.

A bibliografia disponibilizada pelo MS na Portaria nº29 referente ao diagnóstico da infecção pelo HIV no Brasil reporta 40 referências e destas, apenas um único trabalho nacional que comparou a eficácia dos TR em relação aos métodos de imunoenaios tradicionais. Do mesmo modo, poucos são os trabalhos que avaliam criticamente a qualidade de informações apresentadas nas instruções de uso dos kits diagnósticos, principalmente em relação ao grau de compreensão das etapas de execução do teste.

Pelo fato dos TR serem considerados testes qualitativos, cujos resultados válidos podem ser apenas dois: reagente (positivo) ou não reator (negativo) – excluindo os testes inválidos (não coloração da banda na região controle – a qualidade do padrão de leitura dessas bandas é de fundamental importância. Lamentavelmente a literatura também é carente de trabalhos que avaliam essa questão.

Portanto, a utilização de TR não apenas para triagem, mas agora também para o diagnóstico de infecção pelo HIV ainda é um tema polêmico na rotina assistencial e por isso merece maiores estudos.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

Avaliar diferentes testes rápidos disponíveis em território nacional para detecção da infecção pelo HIV, quanto ao desempenho analítico e a qualidade das informações contidas nas instruções de uso.

### 2.2. Objetivos Específicos

- Calcular sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo, razões de verossimilhança positiva e negativa e acurácia de oito testes rápidos para o diagnóstico do HIV, em amostras sanguíneas humanas com padrão sorológico previamente definido;
- Avaliar a qualidade do padrão de leitura dos resultados;
- Analisar a qualidade das informações contidas nas instruções de uso dos oito diferentes TR quanto a:
  - a. Dados clínicos (informações gerais sobre a infecção do HIV);
  - b. Apresentação do kit;
  - c. Princípio do Método;
  - d. Anticorpos e/ou antígenos detectáveis;
  - e. Fase sólida utilizada;
  - f. Interferentes analíticos e pré-analíticos;
  - g. Limitações do teste;
  - h. Acurácia (sensibilidade, especificidade, reprodutibilidade e precisão);
  - i. Temperatura de armazenamento;
  - j. Natureza e volume da amostra;
  - k. Forma de coleta e descarte das amostras;
  - l. Procedimentos de execução do teste (passo a passo);
  - m. Tempo de leitura;
  - n. Interpretação dos resultados;
  - o. Ilustrações dos procedimentos de execução e interpretação;
  - p. Dados do Fabricante e Importação;
  - q. Referências bibliográficas;
  - r. Clareza/compreensão das informações;
  - s. Idioma da bula (português e outros).
- Pesquisar o custo financeiro de cada teste;

- Calcular a concordância dos resultados dos testes rápidos entre si;
- Avaliar a influência do prazo de validade no desempenho analítico do teste rápido.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

O vírus da imunodeficiência humana (HIV), inicialmente isolado em 1983<sup>86,99</sup>, é o agente etiológico da AIDS<sup>1,2</sup>. Trata-se de uma doença que provoca o comprometimento progressivo da habilidade do sistema imune em controlar infecções e algumas desordens malignas proliferativas<sup>99</sup>. A infecção pelo HIV (tipos 1 e 2) afeta hoje, no mundo, mais de 40 milhões de pessoas<sup>39,99</sup>. Testes para a identificação de anticorpos anti-HIV vêm sendo utilizados largamente na identificação de portadores do vírus que podem atualmente, ser beneficiados pelo tratamento anti-retroviral precoce, a fim de melhorar a qualidade de vida dos mesmos<sup>99</sup>. Estes testes também auxiliam na identificação daqueles não portadores do vírus que necessitam aconselhamento, na monitorização epidemiológica e no planejamento de ações de saúde pública<sup>99</sup>.

#### 3.1. O vírus

O HIV é um retrovírus não-oncogênico pertencente à família *Retroviridae* do gênero *Lentivirus* e seu conteúdo genético está disposto em uma fita simples de RNA (disposta de forma diplóide -2n- na partícula viral, ou vírion)<sup>2,12,13</sup>. Os lentivírus são capazes de causar uma infecção latente de longo prazo nas células e efeitos citopáticos em curto prazo. Estes vírus produzem doenças fatais de progressão lenta, incluindo síndromes que causam o definhamento e degeneração do sistema nervoso central (SNC)<sup>13</sup>. Foram identificadas duas formas geneticamente diferentes do HIV, sendo classificadas em HIV-1 e HIV-2, que além da diferença na estrutura genômica, diferem-se em sua antigenicidade<sup>12,13</sup>.

Semelhante à maioria dos retrovírus, o *vírion* do HIV-1 é esférico e contém um cerne denso em elétrons, na forma de um cone, cercado por um invólucro (envelope) lipídico derivado da membrana celular do hospedeiro<sup>12,13</sup> (Figura 1). O cerne do vírus contém duas fitas de RNA idênticas, três enzimas virais (protease, transcriptase reversa e integrase), p24 - a principal proteína do capsídeo e proteínas do nucleocapsídeo (p7/p9)<sup>12,13</sup>. O cerne viral é cercado por uma matriz proteica chamada p17, que se posiciona abaixo do envelope do vírion. No envelope estão duas glicoproteínas virais que são críticas para a infecção viral, gp120 e gp41<sup>12</sup>. A gp41 é uma

glicoproteína transmembrana que apresenta uma ligação não-covalente com a gp120 externa a membrana e ambas são produzidas pela clivagem proteolítica de um precursor, a gp160<sup>13</sup>.

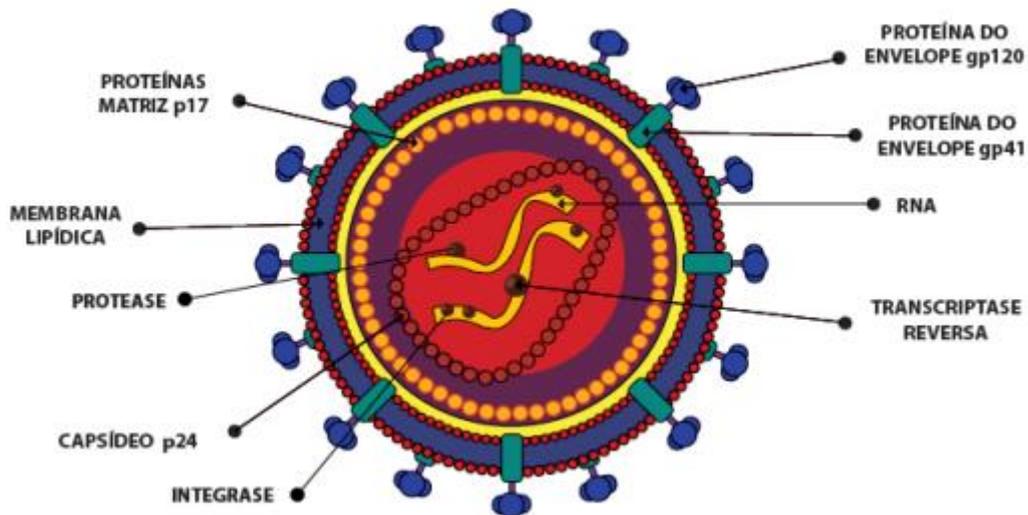


Figura 1 – Desenho da estrutura do HIV. Fonte: Telelab<sup>14</sup>, 2016

O genoma do RNA do HIV-1 tem aproximadamente 9,2 kb e o arranjo básico da sequência de ácidos nucléicos característica de todos os retrovírus. Repetições terminais longas (do inglês *long term repeats* - LTRs) em cada extremidade do genoma regulam a expressão genica, a integração viral no genoma do hospedeiro e a replicação viral<sup>13</sup>. O genoma contém os genes *gag*, *pol* e *env*, que codificam diversas proteínas virais. As sequências *gag* codificam proteínas estruturais do núcleo; as sequências *pol* codificam as enzimas transcriptase reversa, integrase e protease viral; e as sequências *env* codificam as glicoproteínas do envelope<sup>12,13</sup>. Os produtos dos genes *gag* e *pol* são transcritos inicialmente em grandes proteínas precursoras, que devem ser clivadas pela protease viral para gerar proteínas maduras<sup>12,13</sup>.

Além desses três genes padrões, o HIV-1 contém outros seis genes acessórios, ou reguladores (os LTRs): *tat*, *ver*, *vif*, *nef*, *vpr* e *vpu*. Eles regulam a síntese e montagem de partículas virais infecciosas e a patogenicidade do vírus<sup>12,13</sup>.

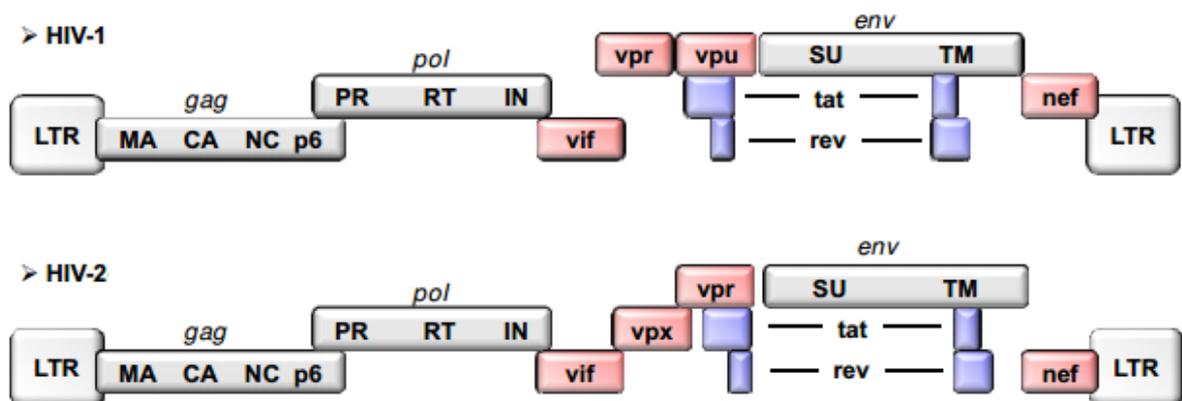
O HIV-2 também apresenta os genes *gag*, *env*, *pol* e genes regulatórios e acessórios com funções semelhantes às observadas no HIV-1. A homologia entre os genomas dos dois vírus é de aproximadamente 50%. As regiões *gag* e *pol* do genoma viral apresentam maior homologia entre

os diferentes tipos virais, ao contrário da região *env*, que apresenta diferenças significativas no HIV-1 e HIV-2<sup>3</sup>.

As proteínas do HIV-2 têm funções equivalentes às do HIV-1; entretanto, apresentam diferenças na composição de aminoácidos e no peso molecular (Tabela 1 e Figura 2).

**Tabela 1 – Principais proteínas de importância diagnóstica do HIV**

GENES	PRODUTOS	PESO MOLECULAR DAS PROTEÍNAS E GLICOPROTEÍNAS VIRAIS	
		HIV-1	HIV-2
<i>Env</i>	Precursor	gp160	gp140
	Glicoproteína externa	gp120	gp105/125
	Glicoproteína transmembranar	gp41	gp36
<i>Pol</i>	Protease	p66	p68
	Transcriptase reversa	p51	p53
	Integrase	p31	p31/34
<i>Gag</i>	Precursor	p55	p56
	Cerne	p24	p26
	Matriz	p17	p16



**Figura 2 - Genomas do HIV-1 e 2. Fonte: Ayind D. et al, 2010<sup>16</sup>**

### 3.1.1. Origem

Em Junho de 1981, foram reportados, nos Estados Unidos da América, vários casos de homossexuais do sexo masculino que apresentavam pneumonia por *Pneumocystis jirovecii* (então *carinii*), entre outras infecções oportunistas, como sarcoma de Kaposi e linfomas não-Hodgkin. Foi constatado que uma grande proporção destes doentes apresentava uma linfadenopatia generalizada, com depleção seletiva de linfócitos T CD4+. Estes casos tornaram-se um marco na história da humanidade<sup>80,81</sup>.

Foram detectados casos similares em 1982, em utilizadores de drogas injetáveis, receptores de transfusões de sangue e produtos sanguíneos (especialmente de fatores de coagulação para o tratamento da hemofilia), do que viria a ser conhecido como síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). Posteriormente, foram identificados casos de transmissão heterossexual e vertical, ou seja, de mãe para filho<sup>82,83,84,85</sup>.

Tais dados epidemiológicos levaram à conclusão de que a AIDS poderia ser causada por um agente infeccioso, provavelmente um vírus transmitido por via sexual e sanguínea, uma vez que era pouco provável a contaminação de fatores de coagulação por outros tipos de microrganismos. O HIV foi isolado pela primeira vez em 1983<sup>86</sup>. No Brasil, os primeiros casos de AIDS foram notificados em 1982<sup>87</sup>.

Atualmente, é de comum entendimento que o vírus HIV acometeu a população humana através de infecções de carácter zoonótico do Vírus da Imunodeficiência Símia (SIV, do inglês *simian immunodeficiency virus*) com origem em primatas infectados<sup>20</sup>. Os reservatórios símios dos vírus humanos (HIV-1 e HIV-2) foram definidos com base na similaridade genética e filogenética em relação à SIVs conhecidos e na elevada coincidência entre a distribuição natural de hospedeiros primatas infectados e as regiões geográficas com a maior diversidade genética de HIV-1 e HIV-2, entre outros fatores<sup>18</sup>.

O HIV-1 está filogeneticamente mais próximo do SIVcpzPtt isolado da subespécie de chimpanzés *Pan troglodytestroglodytes* na África Centro-Ocidental, enquanto o HIV-2 está evolutivamente mais relacionado com o SIVsm dos mangabeis fuliginosos (*Cercocebusatys*) da África Ocidental, sendo que a área de distribuição natural desta espécie é sobreponível com a região geográfica onde foram identificados os mais diversos subtipos de HIV-2<sup>18</sup>.

### 3.1.2. Subtipos

Até a presente data, foram identificados dois tipos de HIV: HIV-1 e HIV-2. O HIV-1 é o tipo mais comum associado à AIDS nas Américas, na Europa e na África Central, enquanto o HIV-2 causa uma doença semelhante principalmente na África Ocidental e na Índia<sup>12</sup>.

Na tentativa de organizar a grande diversidade observada entre as cepas de HIV-1 circulantes nas epidemias, até o ano de 1992, as variantes do vírus eram identificadas como “americanas” ou “africanas”, com base em seu local de origem<sup>21</sup>. Com a descoberta de novos espécimes, esta separação tornou-se inadequada e foi a princípio proposta uma classificação em subtipos com base na análise dos genes *env* ou *gag*<sup>21</sup>.

A classificação atual é baseada na análise do genoma completo de amostras de HIV-1 colhidas em diferentes regiões geográficas: grupo M (major), composto por nove subtipos nomeados A-D, F-H, J e K (as variantes dos subtipos A e F são ainda segregadas como sub subtipos A1, A2, A3, A4 ou A5 e F1 ou F2, respectivamente); e grupos O (out-group)<sup>22</sup>, N (new)<sup>23</sup> e P<sup>24</sup>. Os subtipos anteriormente classificados como E e I são, na verdade, vírus recombinantes, denominados recombinantes circulatórios (do inglês circulating recombinant forms - CRFs). Além destes grupos, 14 outras CRFs circulam na epidemia, sendo as mais comuns as CRF02\_AG e CRF01\_AE<sup>25</sup> (Figura 3).

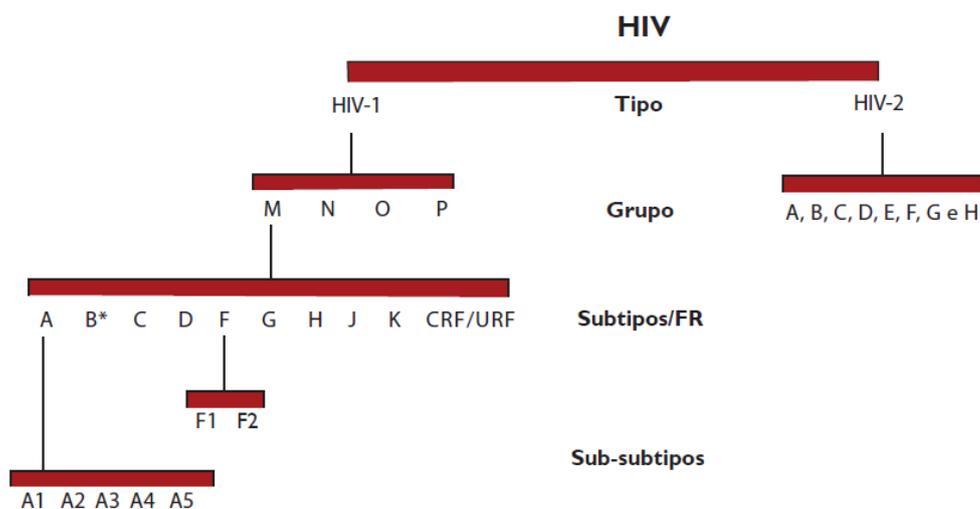


Figura 3 - Classificação do HIV quanto aos grupos e tipos. Fonte: Brasil, 2016<sup>47</sup>

A distribuição dos diferentes subtipos pelo mundo é variável, sendo o subtipo B o mais prevalente na América do Norte e do Sul, na Europa e na Austrália. Já foram também detectados em outros locais, incluindo Tailândia, Japão, África, China, Malásia e Índia<sup>26</sup>. O subtipo C é o mais prevalente no mundo (China, Índia, África Subsaariana e sul do Brasil)<sup>2</sup>. O alto grau de variabilidade também é resultado do fenômeno de recombinação genética entre vírus diferentes. A co-circulação de múltiplos subtipos num único local favorece episódios de co-infecção, que por sua vez conduzem ao aparecimento de vírus recombinantes que podem ser viáveis e transmissíveis<sup>26</sup>.

A extrema variabilidade dos retrovírus se deve ao fato de sua enzima transcriptase reversa não possuir a propriedade de correção durante o processo de replicação viral, propriedade esta comum à DNA-polimerase de outros organismos. Esta ausência de correção resulta em uma taxa de erro na incorporação de nucleotídeos de aproximadamente  $10^{-3}$  a  $10^{-5}$  por sítio, por ciclo de replicação (a taxa de erro das DNA polimerases está em torno de  $10^{-8}$  substituições/sítio/ciclo de replicação)<sup>21</sup>.

Além dos erros na incorporação de nucleotídeos, um processo conhecido como recombinação homóloga também contribui para a variabilidade genética do HIV-1<sup>21</sup>. Durante a transcrição reversa, a enzima transcriptase reversa pode “pular” de uma fita de RNA para outra, produzindo uma fita de DNA viral que contém segmentos dos dois RNA iniciais<sup>27</sup>. Entretanto, para que a recombinação contribua substancialmente para a geração de diversidade, é necessário que as duas fitas de RNA encontradas em uma partícula viral sejam distintas uma da outra, ou seja, é necessário que, anteriormente, tenha ocorrido a produção de genomas virais “heterozigotos”<sup>21</sup>. Por sua vez, a formação de genomas “heterozigotos” depende de que, em algum momento, uma única célula do hospedeiro tenha sido infectada simultaneamente por duas variantes do vírus<sup>27,28</sup>.

Uma consequência da complexidade de populações virais, como as encontradas nos hospedeiros do HIV-1, é que estas populações são capazes de responder rápida e eficientemente às perturbações do ambiente onde se replicam, porque oferecem um grande espectro de vírus mutantes sobre os quais a seleção natural pode atuar. Quando existem alterações no ambiente, por exemplo, pela administração de drogas antivirais, a presença de um ou mais vírus mutantes mais aptos a replicar neste novo meio faz com que a população derivada desses ganhe aptidão (*fitness*) e aumente suas chances de sobreviver<sup>21</sup>. No caso do HIV-1, a pressão seletiva exercida constantemente pelo sistema imune resulta na adaptação do vírus a novas células-alvo e na manutenção de uma infecção persistente<sup>29</sup>.

Durante a transmissão do HIV-1 a um novo hospedeiro susceptível, observa-se significativo estreitamento da diversidade da população de vírus (*bottleneck*), de modo que a progênie viral produzida no início da infecção resulta da expansão de uma ou poucas partículas virais<sup>21</sup>. Diversos fatores impõem esse estreitamento, como: a resposta imune inata; a densidade de células-alvo no local da infecção; o número de partículas virais transmitidas; e a estrutura da população viral do hospedeiro transmissor<sup>30</sup>.

Além do estreitamento da diversidade durante a transmissão do HIV-1, também ocorre processo de seleção natural, de modo que os vírus encontrados nos estágios iniciais da infecção possuem características distintas daqueles observados nos estágios mais tardios da imunodeficiência<sup>21</sup>.

### **3.2. Transmissão e Patogênese**

As principais formas de transmissão do HIV envolvem as vias sexual, sanguínea e vertical (via transplacentária, durante o parto ou aleitamento), sendo a primeira a predominante em todo o mundo<sup>3,12, 31, 32</sup>. Ainda que o HIV possa infectar muitos tecidos, existem dois alvos principais na infecção por HIV: o sistema imune e o sistema nervoso central<sup>12</sup>.

A presença do vírus em apenas alguns líquidos corporais (sangue, sêmen, secreção vaginal e leite materno), faz com que a transmissão ocorra quando há contato desses líquidos contaminados com uma mucosa. Portanto, relações sexuais (vaginal, anal ou oral) sem o uso de preservativos, durante a gestação, no momento do parto, aleitamento materno, transfusão de sangue contaminado, compartilhamento de seringas ou agulhas contaminadas, uso de instrumentos perfuro-cortantes não esterilizados são as formas de transmissão do vírus<sup>12,13,31,32</sup>.

A infecção das células pelo HIV começa quando, nas mucosas, a gp120 de uma partícula viral é aderida a células dendríticas e entram na circulação sanguínea ou linfática, instalando-se no tecido linfóide, aonde a gp120 viral irá se ligar aos linfócitos TCD4 e a co-receptores (geralmente receptores de quimiocinas, principalmente CCR5 e CXCR4) para entrar nas células<sup>3,12, 13</sup>, assim células dendríticas (foliculares e de mucosas) e macrófagos representam importante reservatório de HIV. As células da glia e os timócitos também são alvos do vírus<sup>12</sup>.

Ao se ligar à molécula CD4, a gp120 sofre uma mudança conformacional que resulta na formação de um novo sítio de reconhecimento na gp120 para os co-receptores. Após essa segunda ligação, ocorrem alterações conformacionais na gp41 que expõem uma região hidrofóbica, chamada de

peptídeo de fusão, que se insere na membrana celular, permitindo que a membrana viral se funda com a membrana da célula-alvo<sup>3, 12, 13</sup>. Após a fusão das membranas, o cerne do vírus entra no citoplasma da célula<sup>3, 12, 13</sup>.

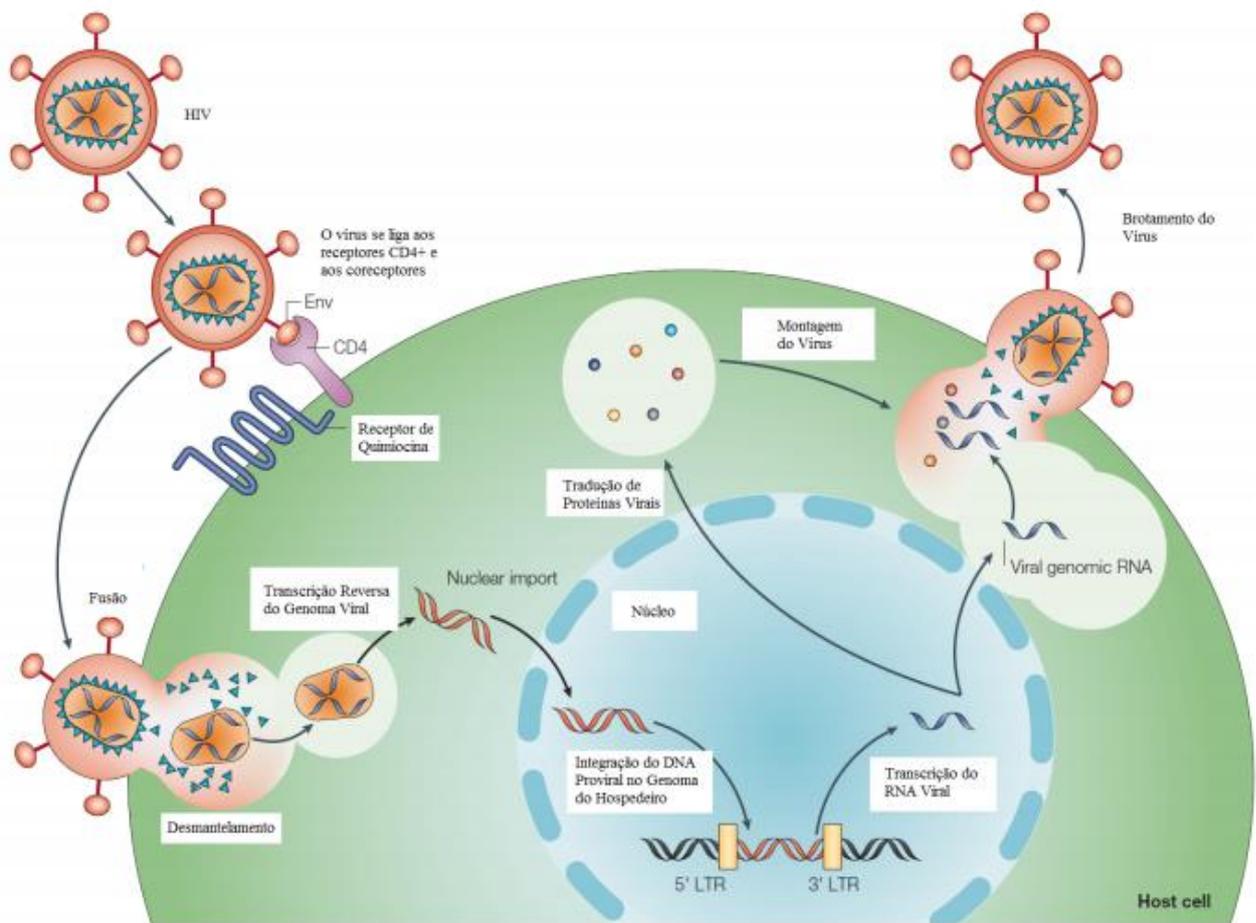
Os receptores de quimiocinas mais importantes, que atuam como co-receptores para o HIV, são o CXCR4 e CCR5, mas existem mais de sete receptores de quimiocina diferentes que servem de co-receptores para a entrada do HIV nas células<sup>13</sup>. As diversas cepas de HIV apresentam tropismos por populações celulares diferentes relacionados à especificidade das variantes de gp120 por diferentes receptores de quimiocinas<sup>13</sup>. Pode-se ainda classificar as linhagens de HIV em dois grupos, de acordo com sua capacidade de infectar macrófagos e de estabelecer linhagens de células T CD4+. Linhagens macrófagos-trópicas (M-trópicas) podem infectar tanto monócitos/macrófagos como células T recentemente isoladas do sangue periférico, mas não são capazes de infectar linhagens de células T cultivadas *in vitro*<sup>12, 13</sup>. As linhagens de células T-trópicas podem infectar somente células T, tanto as coletadas recentemente quanto as mantidas em cultura<sup>12, 13</sup>. Essa seletividade baseia-se na utilização do co-receptor: as linhagens M-trópicas usam o CCR5, expresso tanto em monócitos quanto em células T, enquanto as linhagens T-trópicas se ligam ao CXCR4, que é expresso nas células T, mas não nos monócitos/macrófagos<sup>12</sup>. Células T primárias (recentemente isoladas) expressam tanto o CCR5 quanto CXCR4 e podem, portanto, ser infectadas por qualquer um dos dois tipos (vírus duo trófico)<sup>12, 13</sup>.

Acredita-se que durante o curso da infecção, linhagens M-trópicas se transformem em linhagens T-trópicas, devido a mutações nos genes que codificam a gp120<sup>12</sup>. Essas alterações são importantes na patogênese da AIDS, uma vez que os vírus T-trópicos são capazes de infectar células T *naive*, e até mesmo os percussores tímicos das células T<sup>12</sup>.

Depois que o *vírion* entra na célula hospedeira, as enzimas do complexo de nucleoproteínas são ativadas e iniciam o ciclo de reprodução viral. A nucleoproteína é rompida, ocorre a transcrição do genoma de RNA do HIV em uma dupla hélice pela transcriptase reversa e o DNA pró-viral entra no núcleo da célula hospedeira. A integrase viral também entra no núcleo da célula e catalisa a integração do DNA pró-viral no genoma celular. O DNA pró-viral pode permanecer inativo por meses ou anos, com pouca ou nenhuma produção de novas proteínas virais ou *vírions* e assim a infecção pelo HIV pode permanecer latente<sup>13</sup>.

Quando ativo, o DNA pró-viral faz com que a célula sintetize mRNA. Há então a formação de novas partículas virais que, com a morte da célula hospedeira, serão lançadas no meio, espalhando

o vírus<sup>1</sup>. A partir dessa população de células infectadas, o vírus é disseminado inicialmente para os linfonodos locais e depois sistemicamente e em número suficiente para estabelecer e manter a produção de vírus nos tecidos linfoides, além de estabelecer reservatório latente, principalmente em linfócitos T CD4+ de memória<sup>13</sup> (Figura 4).



**Figura 4 - Ciclo de replicação do HIV. Fonte: Rambaut A, et al, 2011<sup>33</sup>**

Após a transmissão do vírus, há um período de aproximadamente 10 dias, denominado de fase eclipse, antes que o RNA viral seja detectável no plasma. A replicação viral ativa e a livre circulação do vírus na corrente sanguínea causam a formação de um pico de viremia por volta de 21 a 28 dias após a exposição ao HIV. Essa viremia está associada a um declínio acentuado no número de linfócitos T CD4+<sup>3, 12, 31</sup>.

Na fase inicial da infecção (duas a seis semanas), de expansão e disseminação sistêmica, há intensa replicação viral em linfonodos, o que leva a indução da resposta imunológica, porém esta é tardia e insuficiente em magnitude para erradicar a infecção<sup>3,31</sup>. A ativação imune, por outro lado, produz uma quantidade adicional de linfócitos T CD4+ ativados que servem de alvo para novas infecções. A resposta imunológica adaptativa inicial à infecção pelo HIV é caracterizada pelo aumento de linfócitos T CD8+ que exercem controle parcial da infecção, mas não é suficiente para impedir, em ausência de terapia, a lenta e progressiva depleção de linfócitos T CD4+ e a eventual progressão para AIDS<sup>3, 12, 13, 31</sup>. A resposta imune adaptativa ocorre normalmente antes da soroconversão<sup>3</sup>.

O aparecimento de uma resposta imune celular HIV-específica e a subsequente síntese de anticorpos anti-HIV levam a queda da carga viral plasmática (viremia) - até um nível (*set point*) que é específico de cada indivíduo - e à cronicidade da infecção pelo HIV<sup>3,13,31</sup>. A resposta imune mediada por células é mais importante do que a resposta imune humoral no controle da replicação viral durante a infecção aguda, entretanto os anticorpos têm papel relevante na redução da disseminação do HIV na fase crônica da infecção. A maioria das proteínas do HIV é imunogênica, mas uma resposta de anticorpos precoce e preferencial é induzida contra glicoproteínas do envelope (gp120 e gp41) e contra a proteína do core/capsídeo viral, a p24, sendo essa resposta humoral vigorosa<sup>3,13,37</sup>.

Acredita-se que o vírus seja levado ao sistema nervoso por monócitos infectados<sup>12,31,34</sup>, estudos comprovam que estes são M-trópicos<sup>12,34</sup>. Células microgliais, astrócitos, e células do sistema nervoso central que pertencem à linhagem monocítico-macrofágica são os tipos celulares predominantemente infectados pelo HIV no cérebro<sup>12,31,34,35,36</sup>, mas o vírus está em sua forma livre, principalmente, e presente no líquido cefalorraquidiano<sup>35,36</sup>. O déficit neurológico é atribuído a produtos virais e a fatores solúveis produzidos pelas células microgliais infectadas (principalmente IL-1, TNF e IL-6), uma vez que os neurônios não são diretamente infectados<sup>12,34</sup>.

Em relação aos sintomas clínicos, a infecção pelo HIV é marcada por longo período assintomático caracterizado pela fase aguda e período de latência. A fase crônica da doença, período sintomático, pode levar anos para surgir<sup>12,13,97</sup>. Segundo Erichsen *et al*<sup>98</sup>, a história natural da infecção pelo HIV cursa, em média, entre oito e doze anos desde o momento da infecção até a evolução para o óbito. Entretanto, o uso da terapia anti-retroviral combinada tem prolongado o tempo de infecção<sup>98</sup> (Figura 5).

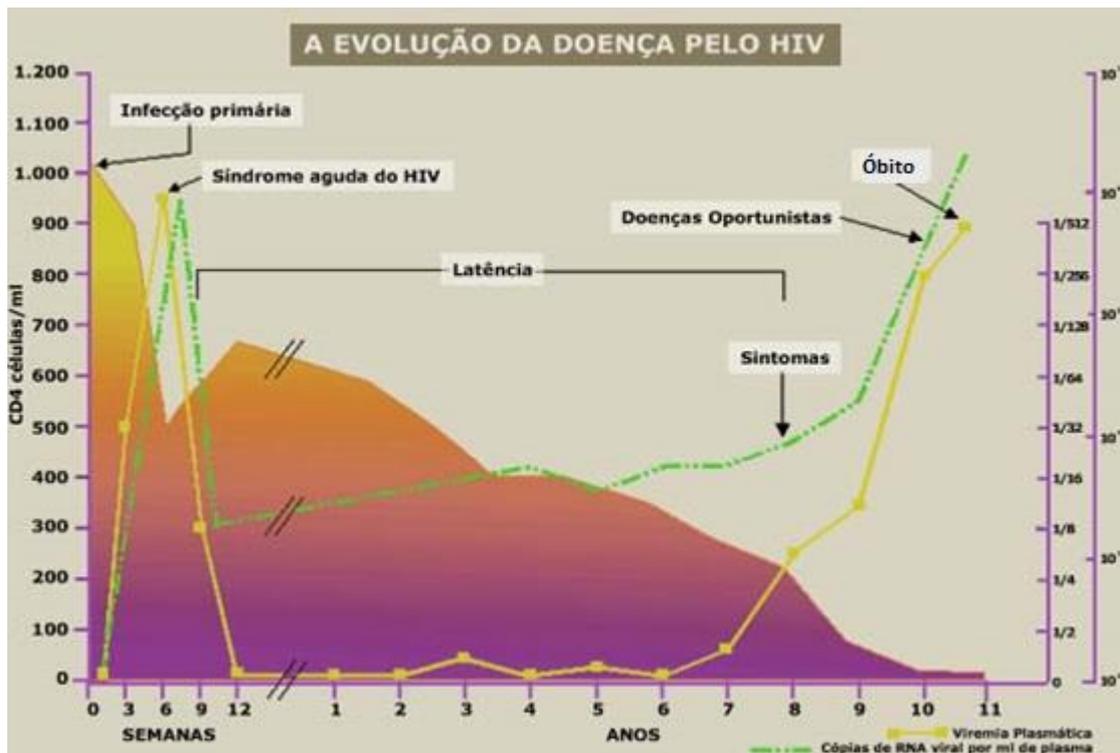


Figura 5 - Evolução da doença através dos marcadores laboratoriais na ausência de tratamento.

Fonte: Viegas, 2007<sup>88</sup>

Os primeiros sinais e sintomas ocorrem em 50% a 70% dos infectados, cerca de duas a três semanas após a exposição. Eles surgem na forma de uma síndrome viral inespecífica, caracterizada por febre, linfadenopatia, exantema, odinofagia, mialgia, diarreia, cefaleia, hepatoesplenomegalia e, em alguns casos, sinais neurológicos, como meningite asséptica, neuropatia periférica e síndrome de *Guillain-Barré*<sup>98</sup>. Como há resposta imune e diminuição da viremia plasmática, há também recuperação clínica em duas a quatro semanas. Inicia-se então o período de latência, que tem duração média de 10 anos, este tempo varia de indivíduo para indivíduo. Neste período, apesar da latência clínica, há aumento da replicação viral<sup>98</sup>. A progressão da doença é para a típica síndrome da imunodeficiência humana adquirida (AIDS)<sup>98</sup>.

A AIDS é a manifestação mais avançada da infecção pelo HIV. Os sintomas desta fase da doença são: febre de longa duração (mais de um mês), fadiga, perda de peso, diarreia e suores noturnos<sup>12,13,97</sup> e intensa redução dos linfócitos T CD4+ (inferior a 200 células por mm<sup>3</sup> de sangue)<sup>13</sup>. A existência de comorbidades, ou doenças oportunistas, como hepatites virais, tuberculose, pneumonia, toxoplasmose, alguns tipos de neoplasias secundárias (Sarcoma de Kaposi, entre outros), doenças neurológicas (devido à degeneração do sistema nervoso central) e

insuficiência renal, também caracterizam a doença<sup>12,13,97,98</sup>. Os primeiros marcadores laboratoriais que surgem na infecção pelo HIV são o RNA viral e a proteína p24 (proteína do core viral)<sup>11,46</sup>, em média de nove e dezesseis dias após a infecção, respectivamente. Os anticorpos contra os componentes virais são detectáveis, em média, apenas de 22 dias após a infecção em diante e são detectados até o final da doença<sup>46</sup>.

A presença do HIV-1 no sistema nervoso central (SNC) é a principal responsável pelas manifestações neuropsicológicas. Estas se expressam por meio de distúrbios de diversos graus de intensidade nas áreas motora, comportamental e cognitiva. As discretas manifestações clínicas vão surgindo, de forma lenta e progressiva ao longo dos anos, como baixa capacidade de concentração, lentificação mental e apatia - que se pode confundir com depressão, baixa atividade psicomotora e modificações da memória verbal e não-verbal. A forma mais severa pode chegar a perda expressiva da memória e entre outras alterações cognitivas<sup>34,35,36</sup>.

### **3.3. Epidemiologia**

Segundo a UNAIDS<sup>39</sup>, estima-se que o número de pessoas vivendo com HIV no mundo em 2015 seja de 36,7 milhões, sendo 34,9 milhões de adultos (maiores que 19 anos)<sup>39</sup>. No Brasil, os dados epidemiológicos fornecidos pelo Ministério da Saúde<sup>38</sup> para o ano de 2015 estimam que, aproximadamente 781 mil indivíduos viviam com HIV/AIDS, representando prevalência de 0,39%. Destes, 83% (649 mil) haviam sido diagnosticados. A estimativa da UNAIDS para 2015 é que sejam 830.000 pessoas infectadas no Brasil, sendo 820.000 adultos (maiores que 19 anos)<sup>39</sup>.

Até junho de 2015, foram registrados 798.366 casos de AIDS no Brasil<sup>38</sup>. Nos primeiros anos da epidemia, a concentração dos casos era principalmente nas capitais das regiões Sul e Sudeste. Ao longo dos anos, a concentração dos casos passou às capitais das regiões Nordeste, Centro Oeste e Norte. Na última década, a distribuição se expandiu a todo país, embora desigual. As taxas de detecção são crescentes em todas as regiões; exceto na região Sudeste, que apresentou tendência de queda nos últimos anos<sup>38</sup>.

Atualmente, observa-se que as regiões Sudeste e Sul possuem maior proporção de casos do que o Nordeste, Centro-Oeste e Norte. A maior concentração dos casos de AIDS está na região Sudeste (53,8%), seguida pela região Sul (20,0%), Nordeste (14,6%), Centro-Oeste (5,9%) e Norte (5,7%)<sup>38</sup>.

A distribuição dos casos por sexo, desde o início da epidemia até meados de 2015, é de 65% dos casos serem do sexo masculino e 35% do sexo feminino. Segundo o Ministério da Saúde<sup>38</sup>, até o ano de 2003, houve aumento no número de casos em mulheres, diminuindo a razão entre sexos (número de casos em homens/número de casos em mulheres). No período entre 2004 e 2008 esta proporção se manteve estável e a partir de 2009 observou-se redução no número de casos em mulheres e aumento no número de casos em homens, aumentando novamente a razão dos sexos<sup>38</sup>.

Esta variação da razão de sexo também pode ser observada nas diferentes faixas etárias. Nos jovens entre 13 a 19 anos, no ano de 2014, houve aumento do número de casos em homens; nos indivíduos com 20 anos ou mais houve aumento do número de casos em mulheres à medida que aumenta a idade. A faixa etária com maior número de casos, para ambos os sexos, é de 25 a 39 anos entre 1980 e meados de 2015<sup>38</sup>.

Em relação à categoria de exposição, a transmissão vertical foi a principal via de transmissão na última década em indivíduos menores de 13 anos. No mesmo período, em indivíduos com idade igual ou superior a 13 anos, a principal via de transmissão é a sexual, correspondendo a 95,4% entre os homens e 97,1% entre as mulheres, em 2014. Observa-se predomínio de exposição heterossexual na última década. A proporção de usuários de drogas injetáveis (UDI) vem diminuindo ao longo dos anos em todo o Brasil<sup>38</sup>, em consequência à redução da transmissão por compartilhamento de seringas.

A taxa de detecção também vem se modificando ao longo dos anos, pois o avanço da tecnologia permitiu detectar a infecção com maior precisão e menor tempo. Na última década houve aumento notável da taxa de detecção nas faixas etárias entre 15 a 19 anos, 20 a 24 anos e 60 anos ou mais, enquanto que na faixa etária de crianças até nove anos houve queda. De 2005 para 2014, a taxa de detecção na faixa etária entre 15 a 19 anos passou de 2,1 para 6,7 casos por 100 mil habitantes. Porém, neste mesmo período, nas faixas etárias entre 35 a 39 anos e 40 a 44 anos houve tendência de queda<sup>38</sup>. Nas demais faixas etárias observa-se estabilidade nesta taxa<sup>38</sup>.

O monitoramento da transmissão vertical do HIV tem sido feito através da taxa de detecção da infecção em menores de cinco anos, e observa-se uma tendência de queda para o Brasil, que foi de 33,3% nos últimos dez anos. No entanto, verificam-se diferenças importantes entre as regiões quanto a essa tendência, nas regiões Sudeste, Sul, Centro-Oeste e Nordeste observa-se tendência de queda, enquanto na região Norte, observa-se elevação<sup>38</sup>.

### 3.4. Diagnóstico

A resposta imune humoral é a base racional para o desenvolvimento de testes laboratoriais que classificam a infecção em recente ou crônica<sup>3,11</sup>.

O avanço tecnológico levou a modificações na forma de diagnóstico do HIV. A primeira geração de ensaios para o diagnóstico da infecção pelo HIV surgiu em 1985. Esses ensaios empregavam antígenos virais obtidos a partir da lise viral em cultura de células. A detecção de anticorpos era baseada na metodologia denominada ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) indireto<sup>3,6</sup>. Em 1986, o diagnóstico laboratorial começou a ser realizado no Brasil<sup>6</sup>.

A técnica de ELISA é um imunoensaio enzimático onde antígenos são aderidos à superfície de uma fase sólida. Esta aderência é uma adsorção inespecífica ou uma ligação química que facilita a separação dos reagentes marcados ligados ou livres. A amostra então é adicionada e caso haja anticorpos contra os antígenos pesquisados, estes se ligam à fase sólida. Após lavagem da microplaca, um anticorpo marcado com enzima (conjugado) é adicionado formando um complexo “sanduíche”. Os anticorpos não ligados são retirados por meio de lavagem e adiciona-se um substrato enzimático<sup>41</sup> (cromógeno e peróxido de hidrogênio-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) que produzirá cor e esta será medida por um espectrofotômetro<sup>40</sup>. Os resultados são determinados pela leitura da densidade óptica obtida no final do ensaio. Cada conjunto diagnóstico indica como calcular o ponto de corte (*cut-off*), a partir do qual as reações são interpretadas como reagentes, não reagentes ou indeterminadas<sup>40</sup>.

Nos ensaios de primeira geração o conjugado é constituído por um anticorpo anti-IgG humana e os antígenos da fase sólida são originados de um lisado viral de HIV, obtidos a partir de cultura do HIV em linhagens celulares humanas. Entretanto, as diferentes proteínas virais não são obtidas com a mesma eficiência e algumas sofrem degradação. Além disso, proteínas de origem celular e outras impurezas, provenientes do meio de cultura, também podem estar presentes na preparação antigênica final. Essas características tornam o ensaio pouco específico e, pelo fato de detectarem apenas IgG, também são menos sensíveis do que os ensaios de gerações posteriores. Em média, a janela de soroconversão dos ensaios de primeira geração é de seis a oito semanas<sup>3</sup>.

A segunda geração de ensaios, que empregava o mesmo formato indireto da primeira geração, surgiu em 1987. A diferença entre essas duas gerações foi a utilização de proteínas recombinantes e peptídeos sintéticos originados de regiões específicas de proteínas do vírus. A introdução de antígenos recombinantes aumentou a sensibilidade e a especificidade dos ensaios<sup>40</sup>. Essa evolução

dos testes só foi possível devido ao conhecimento de que existem regiões antigênicas em determinadas proteínas do HIV – epítomos imunodominantes – que são alvos preferenciais da resposta imune humoral. Quanto maior a quantidade de epítomos imunodominantes no ensaio, mais sensível esse ensaio se torna<sup>3</sup>. Em média, a janela de soroconversão dos ensaios de segunda geração é de 28 a 30 dias<sup>3</sup>.

No início da década de 1990, o problema da variabilidade do HIV tornou-se evidente. Surgiram então, em 1994, os ensaios de terceira geração que passaram a utilizar outro formato denominado ELISA sanduíche ou imunométrico<sup>40</sup>. A característica destes ensaios é utilizar antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos tanto na fase sólida quanto sob a forma de conjugado, assim como todos os anticorpos possuem mais de um sítios de ligação ao antígeno, um desses sítios liga-se ao antígeno adsorvido à fase sólida e o outro a antígenos solúveis conjugados à enzima<sup>3</sup>. Devido a isso, todas as classes de anticorpos anti-HIV (IgG, IgM, IgA ou IgE) passaram a ser detectadas<sup>3,13,40</sup>, além disso foram incluídos antígenos para o HIV-2, com o objetivo de possibilitar o reconhecimento de anticorpos anti-HIV-1 e anti-HIV-2, e novos antígenos do HIV-1, dos grupos M, N e O<sup>40</sup>. Os ensaios de terceira geração reduziram o período de janela imunológica para de 22 a 25 dias<sup>3</sup>.

Os ensaios de quarta geração, ou mistos, surgiram em 1997<sup>89</sup>. Estes apresentam as mesmas características dos ensaios da geração anterior, mas são capazes de detectar, além de anticorpos anti-HIV, o antígeno p24 numa mesma reação<sup>3,37</sup>. O componente de detecção do antígeno p24 é constituído por um anticorpo monoclonal na fase sólida (para capturar o antígeno p24 presente na amostra) e de um conjugado enzimático constituído por um anticorpo poliespecífico contra a proteína p24. A janela diagnóstica destes é de aproximadamente 15 dias<sup>13</sup>.

Outros imunoenaios foram desenvolvidos utilizando outros tipos de marcadores. O ELFA (*Enzyme Linked Fluorescent Assay*) tem o mesmo princípio do ELISA, mas utiliza um substrato fluorométrico ao invés do colorimétrico<sup>45</sup>, o que o torna mais sensível<sup>44</sup>. Os imunoenaios quimioluminescentes (do inglês, *chemiluminescence immuno assay* – CLIA) e eletroquimioluminescentes (do inglês, *electrochemiluminescence immuno assay* – ECLIA) têm vantagens em relação aos testes de ELISA, uma vez que são passíveis de automação completa, com sensibilidade e especificidade equivalentes<sup>41</sup>. A quimioluminescência é a emissão de luz produzida em uma reação química, neste tipo de imunoensaio uma molécula quimioluminescente é utilizada como marcador para detectar e quantificar as reações imunológicas. Já a

eletroquimioluminescência é a quimioluminescência produzida eletricamente, por precursores estáveis, na superfície de um eletrodo<sup>41</sup>.

Os testes rápidos (TR) são imunoensaios cromatográficos ou ensaios imunocromatográficos que empregam combinação de proteínas do HIV marcadas, conjugadas a ouro coloidal ou selênio e antígenos de HIV não marcados fixados em uma membrana ou tira de reação. A amostra do paciente é aplicada em local designado, o que propicia o fluxo de componentes da amostra ao longo da tira. Caso haja anticorpos anti-HIV na amostra, estes se ligam, inicialmente, aos antígenos do HIV marcados. O complexo anticorpos anti-HIV/antígenos marcados continua a migrar pela tira e é capturado pelos antígenos de HIV não marcados, fixados na membrana, produzindo uma linha colorida, visível a olho nu<sup>42,43</sup>.

Os imunoensaios descritos acima são classificados como testes de triagem, e mesmo sendo sensíveis e específicos podem apresentar resultados falso-positivos. Diante disso, testes complementares ou confirmatórios foram desenvolvidos<sup>3</sup>, sendo mais específicos que os testes de triagem mas igualmente sensíveis. Estes utilizam diferentes formatos e princípios, são eles: Western blot (WB), imunofluorescência indireta (IFI), Imunoblot (IB) ou imunoensaios em linha LIA (*Line Immuno Assay*), incluindo o Imunoblot Rápido (IBR), e o diagnóstico por detecção direta dos ácidos nucleicos do HIV (testes moleculares)<sup>3,11,12,13,37</sup>.

O teste de WB envolve o uso de tiras de membrana de nitrocelulose contendo proteínas nativas do HIV, que foram separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida<sup>3,37,41</sup>. As proteínas p17, p24, p31, gp41, p51, p55, p66, gp120 e gp160 do vírus, obtidas em cultura de linhagem celular ou sinteticamente, são separadas de acordo com seu peso molecular por eletroforese em gel de poliacrilamida. A transferência para uma membrana de nitrocelulose permite a reação entre os antígenos fixados na membrana e os anticorpos presentes no soro ou plasma de indivíduos infectados<sup>37</sup>. Os anticorpos presentes na amostra ligam-se especificamente às proteínas nas tiras de WB e o imunocomplexo formado é detectado por anti-imunoglobulinas humanas, conjugadas a uma enzima, seguido da adição de um substrato, que gera um produto colorido (uma banda). O WB é de custo elevado e requer interpretação subjetiva para estabelecer um diagnóstico com base em um padrão de reatividade definido<sup>3,41</sup>. O padrão mínimo aceitável de interpretação do WB como reagente (presença de bandas) é a reatividade em pelo menos duas das seguintes proteínas: p24; gp41; gp120/gp160<sup>3,37,41,46</sup>. A janela imunológica de detecção do vírus por WB é de aproximadamente 30 dias<sup>37</sup>.

O imunoblot é um teste igual ao WB, diferindo deste apenas quanto à obtenção das proteínas virais, nesse caso, recombinantes e fixadas diretamente sobre a tira reagente<sup>3</sup>.

A detecção direta de componentes do vírus (antígeno p24, RNA ou DNA pró-viral) desempenha um papel importante quando a detecção de anticorpos não é possível<sup>3,13</sup>. São especialmente úteis para o diagnóstico em crianças com idade inferior a 18 meses e na infecção aguda em adultos<sup>3,13,37</sup>. Além de permitir estabelecer o estágio da infecção viral e o risco de evolução à AIDS, permite indicar o início da terapia antirretroviral e monitorar a resposta à terapia<sup>37</sup>. Dependendo da fase da infecção, o HIV pode ser encontrado principalmente como DNA pró-viral em células infectadas ou como RNA no sangue, como componente da partícula viral livre ou RNA intracelular. Existem testes comerciais que detectam o DNA (qualitativo) e o RNA (qualitativo ou quantitativo). A detecção de infecção aguda por testes de amplificação de ácidos nucleicos (do inglês, *nucleic acid amplification tests* - NAT) é principalmente utilizada na triagem de doadores de sangue, com o objetivo de aumentar a segurança do sangue e de hemoderivados<sup>13</sup>.

Outra aplicação importante para os testes moleculares é o diagnóstico precoce da infecção pelo HIV em crianças com exposição perinatal. Crianças nascidas de mães soropositivas adquirem anticorpos anti-HIV passivamente inutilizando assim os ensaios baseados em anticorpos para confirmar ou descartar a infecção pelo HIV<sup>13</sup>.

Um estudo de Fiebig *et al* (2003)<sup>11</sup> classificou as etapas laboratoriais para diagnóstico da infecção do HIV-1 de acordo com as características cinéticas dos marcadores laboratoriais do HIV. São elas:

1. Apenas ensaio de RNA reativo;
2. Ensaios de RNA e de antígeno p-24 do HIV-1 reativos, anticorpos imunoenzimáticos (do inglês, *enzymatic immuno assay* - EIA) não reativos;
3. Ensaio de RNA, de antígeno p-24 do HIV-1 e testes sensíveis a anticorpos IgM-EIA reativos, mas testes de Western Blot (WB) sem bandas específicas;
4. Como na etapa 3, mas o padrão WB indeterminado (presença de bandas específicas mas que não cumprem os critérios interpretativos para reatividade de WB definidos pelo *Food and Drug Administration* (FDA), como reatividade para duas das três faixas seguintes: p24, gp41, gp120/160);
5. Como na etapa 4, mas o padrão WB reativo, exceto pela ausência da banda p31;
6. Como na etapa 5, mas o padrão de reatividade WB completo, incluindo a banda p31.

A partir da fase 6, um indivíduo infectado manterá RNA viral e anticorpos anti-HIV detectáveis, mas com antigenemia p24 negativa, embora esta proteína possa reaparecer na fase terminal da doença<sup>11</sup>. Este padrão permanecerá por toda a vida do indivíduo infectado<sup>11</sup>(Figura 6 e Tabela 2).

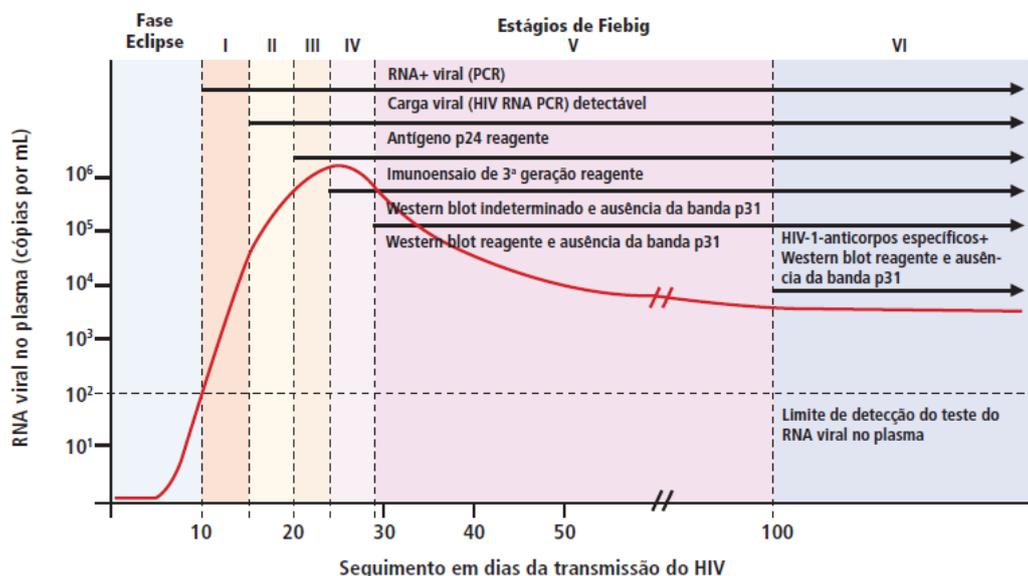


Figura 6 - Cinética dos marcadores laboratoriais. Fonte: McMichael<sup>90</sup> modificado, 2010

Após a transmissão do vírus, há um período de aproximadamente dez dias, denominado de janela imunológica (ou eclipse), que antecede a detecção do ácido ribonucleico (RNA) viral no plasma<sup>3</sup>. De acordo com Fiebig *et al*<sup>11</sup> e Vetter *et al*<sup>46</sup>, os primeiros marcadores virais detectáveis no soro ou plasma do paciente são de RNA viral e a proteína p24 (proteína do core viral), em uma média de nove e dezesseis dias após a infecção, respectivamente. Os anticorpos contra os componentes virais são detectáveis, em média, apenas de 22 dias após a infecção em diante<sup>46</sup>.

Tabela 2 – Classificação de Fiebig para diagnóstico da infecção do HIV-1 <sup>11,47</sup>

Estágio da infecção	Marcador				Intervalo de confiança 95% (dias)	
	RNA	Antígeno p24	IE*	Western Blot	Individual	Cumulativo
<b>0</b>	-	-	-	-	10 (7-21)	10
<b>I</b>	+	-	-	-	5 (3-8)	15
<b>II</b>	+	+	-	-	5 (4-8)	20
<b>III</b>	+	+	+	-	3 (2-5)	23
<b>IV</b>	+	+/-	+	Indeterminado	6 (4-8)	29
<b>V</b>	+	+/-	+	+(sem p31)	70 (40-122)	99
<b>VI</b>	+	+/-	+	+	Sem limite de detecção	Sem limite de detecção

\*Imunoensaios enzimáticos (IE) de terceira ou quarta geração

A partir do conhecimento gerado ao longo das três décadas sobre o HIV, o Ministério da Saúde<sup>66</sup>, conforme descrito anteriormente, publicou em 17 de dezembro de 2013 a Portaria de nº 29 a qual discorre sobre estratégias de testagem que visam melhorar a qualidade do diagnóstico e fornecer uma base racional para assegurar que o diagnóstico seja preciso e concluído em tempo hábil, priorizando a utilização dos testes rápidos no diagnóstico da infecção. Os fluxogramas das etapas laboratoriais para diagnóstico da infecção primária do HIV-1 foram baseados na classificação de Fiebig *et al* (2003)<sup>11</sup>.

### 3.5. Testes Rápidos (TR)

Os Testes Rápidos (TR), também conhecidos como testes laboratoriais remotos (TLR) do inglês *point-of-care testing* (POCT)<sup>49</sup>, são ideais para fornecer resultados no mesmo dia em uma variedade de situações e locais, podendo ser utilizados fora do ambiente de laboratório por pessoal capacitado<sup>13</sup>, permitindo ampliar o acesso ao diagnóstico em comunidades carentes de laboratório<sup>43</sup>.

Diferentemente dos testes de triagem, como os imunoenaios enzimáticos, e os testes confirmatórios, como o teste de WB, que são procedimentos relativamente lentos, trabalhosos e dependentes de laboratórios bem equipados e profissionais treinados<sup>99</sup>, estes ensaios têm como característica o baixo custo, a agilidade no resultado e o baixo grau de complexidade<sup>43,48</sup>. Em sua maioria, são kits pequenos e portáteis utilizados para uso diagnóstico de diversos tipos de análises, como por exemplo: glicose, coagulação, hormônios, agentes de doenças infecciosas, pH, gases sanguíneos, marcadores cardíacos, alergia, drogas, entre outros. Podem ser de uso único ou múltiplo, utilizam diferentes princípios analíticos<sup>41</sup> e podem ser realizados em até 30 minutos<sup>13</sup>. A sua forma de apresentação é variável, sendo as tiras a mais comum, além delas, tubos, cartões, cartuchos ou cassetes são outros kits utilizados, na maioria dos casos, estes kits são de fácil operação e leitura<sup>49</sup>.

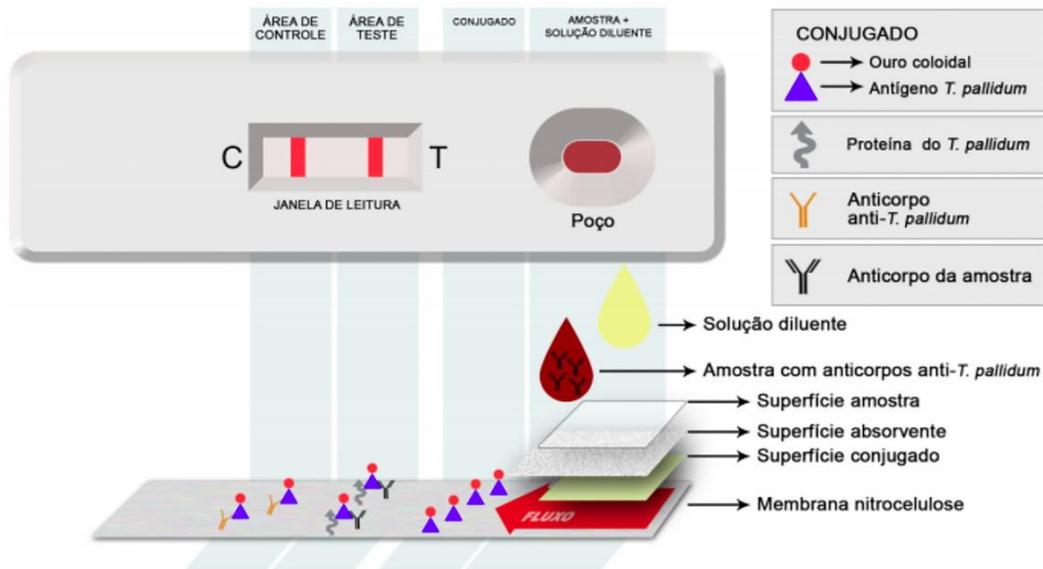
Segundo Andriolo *et al*<sup>49</sup> os métodos enzimáticos para diagnóstico rápido foram desenvolvidos em meados do século XX, a princípio para detecção de glicose em papel filtro<sup>49</sup>, ao mesmo tempo em que os métodos imunoenaios passaram a ser comercializados para o diagnóstico da gravidez, através da detecção da gonadotrofina coriônica humana (HCG) em urina, descritos em 1972<sup>48</sup>. Ao longo do tempo as técnicas foram sendo adaptadas e melhoradas para auxiliar o diagnóstico de doenças.

Os primeiros relatos sobre os TR para o diagnóstico do HIV mostraram o uso dos mesmos componentes utilizados em imunoenaios, embora, nos TR, o anticorpo/antígeno seja revestido sobre uma tira de papel cromatográfico<sup>43</sup>. Ao fazer isso, a tecnologia juntou o princípio cromatográfico ao princípio imunológico<sup>43</sup>. Atualmente, as tiras reagentes são impregnadas de indicadores químicos, e a reação ocorre em uma área específica, os kits são otimizados para acelerar a interação antígeno/anticorpo<sup>13</sup>.

Existem diversos TRs disponíveis para o diagnóstico do HIV, que utilizam diferentes metodologias (fase sólida, imunoensaio enzimático, dot-blot, biossensores, etc.) e antígenos (antígeno do HIV-1 e HIV-2; peptídeos sintéticos ou antígenos recombinantes; proteínas p24, gp41, gp120, gp160 /ou gp36)<sup>49, 69</sup>. Estes podem ser realizados com fluido oral, soro, plasma ou sangue total (o que permite o uso de amostras obtidas por punção digital)<sup>13,49</sup>. Destinam-se, em sua maioria, à detecção de anticorpos anti-HIV 1 e 2<sup>49,69</sup> e são primariamente recomendados para triagem presencial<sup>13</sup>.

Os formatos mais frequentemente utilizados para o diagnóstico do HIV são: kits (ou tiras) de imunocromatografia (ou fluxo lateral), imunocromatografia de dupla migração (do inglês, *Dual Path Platform* - DPP) e kits de imunocôncentração<sup>13, 49</sup>.

Os kits de ensaios imunocromatográficos empregam a combinação de proteínas do HIV marcadas, conjugadas a ouro coloidal ou selênio e antígenos de HIV não marcados fixados em uma membrana ou tira de reação. A amostra do paciente é aplicada em local designado, algumas vezes seguida de tampão de corrida, que propicia o fluxo de componentes da amostra ao longo da tira. Caso haja anticorpos anti-HIV na amostra, estes se ligam, inicialmente, aos antígenos do HIV marcados. O complexo anticorpos anti-HIV/antígenos marcados continua a migrar pela tira e é capturado pelos antígenos de HIV não marcados, fixados na membrana, produzindo uma linha colorida, visível a olho nu. Em todos os casos, a amostra continua a migrar na membrana, produzindo uma linha colorida na área de controle, demonstrando o funcionamento adequado do sistema<sup>41,42,43</sup>. A figura 7 mostra o funcionamento dos ensaios imunocromatográficos de fluxo lateral de um teste rápido para detecção de *Treponema pallidum*, de funcionamento igual ao TR para detecção do HIV.



**Figura 7 – Ensaio imunocromatográfico de fluxo lateral. Fonte: Cobra et al<sup>54</sup>, 2016**

Os ensaios imunocromatográficos de dupla migração (DPP) apresentam caminhos de migração independente para a amostra e conjugado, portanto oferecem vantagens significativas sobre um único caminho de fluxo lateral. Dentre as vantagens podemos destacar a capacidade de detectar múltiplos analitos num único kit, executar uma variedade de tipos de amostras, e oferecer maior sensibilidade e especificidade<sup>52,53</sup>. Estes ensaios utilizam a combinação de uma proteína de ligação específica do anticorpo, que é conjugado com partículas de ouro coloidal, e antígenos HIV 1/2, que estão ligados à fase sólida membrana<sup>53</sup>. A amostra é aplicada no poço específico e logo em seguida deve-se aplicar um tampão (de amostra), seguido de uma breve incubação para maximizar a eficiência de ligação antígeno/anticorpo<sup>52</sup>. Após migração para a tira teste, adiciona-se outro tampão (de corrida), no poço de tampão, que fará com que o conjugado (proteína A) chegue até o complexo antígeno/anticorpo. Esta abordagem sequencial se assemelha ao processo tradicional dos ensaios de ELISA e minimiza o potencial do pró-zona, ou efeito "gancho"<sup>52,53,54</sup>.

Em uma amostra reativa, o conjugado é capturado na área de teste, produzindo uma linha rosa / roxa, na ausência de anticorpos anti-HIV, não existe esta linha. Amostra e conjugado continuam migrando ao longo da tira para criar uma linha rosa/roxa na área de controle que contém anticorpos contra o antígeno<sup>52,53</sup>. Este controle serve para validar o teste<sup>52,53</sup> (Figura 8).

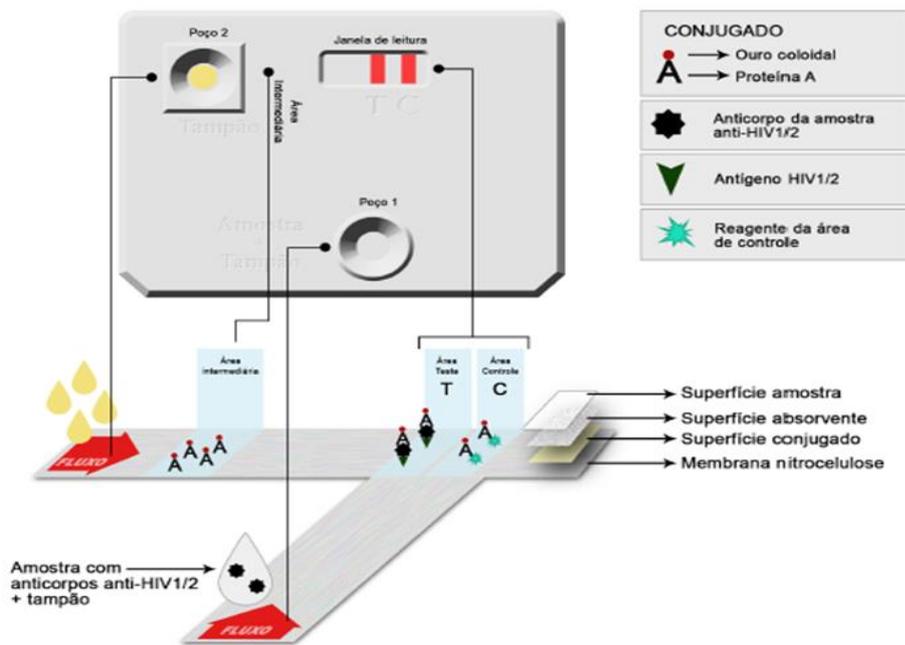


Figura 8 – Teste rápido DPP. Fonte: Brasil<sup>3</sup>, 2013

Os kits de imunoconcentração ou *flow-through* possuem antígenos covalentemente ligados a uma matriz porosa, quando a amostra é colocada sobre a membrana, os anticorpos presentes ligam-se a estes antígenos formando um complexo<sup>41,56</sup>. Em seguida, é adicionado o conjugado (proteína A) que se ligará ao complexo antígeno/anticorpo, a concentração do ouro coloidal permitirá a visualização de um ponto colorido. A reação será válida se houver o aparecimento de um círculo colorido na área de controle (Figuras 9 e 10).

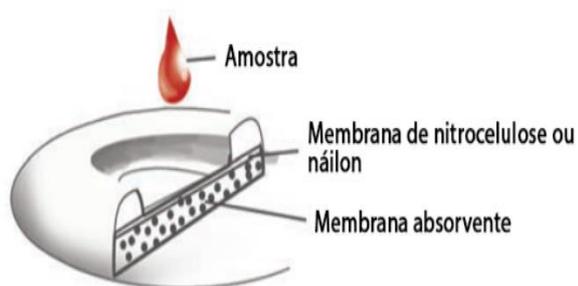


Figura 9 - Esquema teste rápido *flow-through*.  
Fonte: MedMira Laboratories Inc<sup>57</sup>, 2016



Figura 10 - Teste rápido *flow-through*.  
Fonte: Brasil<sup>56</sup>, 2016

Apesar de existirem várias marcas e metodologias de TR, até janeiro de 2017, o *Food and Drug Administration* (FDA)<sup>50</sup> recomenda apenas doze marcas para uso no diagnóstico da infecção pelo HIV nos Estados Unidos. Destes, quatro podem ser realizados com fluido oral (Tabela 3).

**Tabela 3 – Testes rápidos aprovados pelo FDA, em Janeiro de 2017**

TESTE	FABRICANTE
Alere Determine HIV 1 e 2	Alere Scarborough, Inc. - Scarborough, ME, Estados Unidos
Chembio DPP® HIV 1/2 Assay	Chembio Diagnostic Systems – Medford, NY, Estados Unidos
HIV 1/2 STAT-PAK ASSAY	Chembio Diagnostic Systems – Medford, NY, Estados Unidos
Home Access HIV-1 Test System	Home Access Health Corp. -Hoffman Estates, IL, Estados Unidos
INSTI HIV-1/HIV-2 Antibody Test	bioLytical Laboratories Inc. - British Columbia, Canada
Multispot HIV-1/HIV-2 Rapid Test	Bio-Rad Laboratories– Redmond, WA, Estados Unidos
OraQuick ADVANCE Rapid HIV-1/2 Antibody Test	OraSure Technologies – Bethlehem, PA, Estados Unidos
OraQuick In-Home HIV Test	OraSure Technologies – Bethlehem, PA, Estados Unidos
OraSure HIV-1 Oral Specimen Collection Device	OraSure Technologies – Bethlehem, PA, Estados Unidos
Reveal Rapid HIV-1 Antibody Test	MedMira Laboratories, Inc. - Halifax, Nova Scotia Canada
SURE CHECK HIV 1/2 ASSAY	Chembio Diagnostic Systems – Medford, NY, Estados Unidos
Uni-Gold™ Recombigen® HIV-1/2	Trinity Biotech - Jamestown, NY, Estados Unidos

No Brasil, até janeiro de 2017, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) licenciou 41 marcas, preconizadas pela Portaria 29 do Ministério da Saúde<sup>3,49, 51</sup> (Tabela 4). Para serem aprovados pela ANVISA, os ensaios devem ter uma sensibilidade de 99,5% ou superior e uma especificidade de 99,0% ou superior quando comparado com teste de triagem de quarta geração, em combinação com teste confirmatório<sup>3,47</sup>; além do bom desempenho do ensaio operacional<sup>40</sup>.

As situações nas quais o Ministério da Saúde<sup>3,47</sup> recomenda a utilização dos TR são as mais diversas, sendo elas:

- rede de serviços de saúde sem infraestrutura laboratorial ou localizada em regiões de difícil acesso;

- programas do Ministério da Saúde, tais como Rede Cegonha, Programa de Saúde da Família, Consultório na Rua, Quero Fazer, dentre outros programas;
- centros de Testagem e Aconselhamento – CTA e Unidade de Testagem Móvel;
- segmentos populacionais flutuantes;
- segmentos populacionais mais vulneráveis;
- parcerias de pessoas vivendo com HIV/AIDS;
- casos de acidentes biológicos ocupacionais;
- gestantes que não tenham sido testadas durante o pré-natal ou cuja idade gestacional não assegure o recebimento do resultado dos outros testes antes do parto;
- parturientes e puérperas que não tenham sido testadas no pré-natal ou quando não é conhecido o resultado do teste no momento do parto;
- abortamento espontâneo, independentemente da idade gestacional;
- laboratórios que realizam pequenas rotinas (rotinas com até 5 amostras diárias para diagnóstico da infecção pelo HIV);
- pessoas que sofreram violência sexual como prevenção das DST/AIDS;
- Em pacientes atendidos em prontos-socorros;
- outras situações especiais definidas pelo Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais (DDAHV) para ações de vigilância, prevenção e controle das doenças sexualmente transmissíveis e da AIDS.

De acordo com o Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV do Ministério da Saúde de 2016<sup>47</sup>, um único teste rápido não reagente é o suficiente para o diagnóstico e nos casos de amostras reagentes, deve ser realizado outro TR de marca diferente da primeira utilizada.

**Tabela 4 – Testes rápidos aprovados pela ANVISA, em Janeiro de 2017**

<b>TESTE</b>	<b>FABRICANTE</b>	<b>REGISTRO</b>
Abbott Test Pack HIV-1 / HIV-2	Abbott GMBH – Alemanha	10055310065
Alere Determine HIV 1 e 2	Alere Medical Co., Ltd. – Japão	10071770723
BD Chek HIV Multi-test	Becton-Dickinson – Estados Unidos	10033430515
Determine HIV-1/2 - Teste Rapido	Abbott Japan Co., Ltd – Japão	10055310807
Double Check Gold HIV 1 & 2	Orgenics Ltd – Israel	10348680048
Double Check HIV 1 & 2	Orgenics Israel	10294880014
DPP® Rapid Test HIV 1/ 2	Labtest Diagnostica SA – Brasil	10009010335
DS Rapid Test HIV	Labtest Diagnostica SA – Brasil	10009010324
Hema Strip HIV 1/ 2	Saliva Diag.Syst.- Singapura	10204440002
Hexagon HIV	In Vitro Diagnostica Ltda – Brasil	10303460191
Hexagon HIV 1+2	Human GMBH – Alemanha	10302240011
HIV 1 & 2 Teste Rapido	Core Diagnostics Limited - Reino Unido	10259610053
HIV 1 e 2	Katal Biotecnologica Indústria E Comércio Ltda – Brasil	10377390219
HIV 1&2	Doles Reagentes E Equipamentos para Laboratorios Ltda – Brasil	10231810109
HIV 1/2 3.0 Strip Test Bioeasy	Standard Diagnostics - Coréia do Sul	10374660068
HIV 1/2 HIV Rapid Test	Acon Biotech (Hangzhou) Co Ltd – China	80191100080
HIV 1/2/O Test Bioeasy	Abon Biopharm Co. Ltd. – China	10071770811
HIV 1/2/O Tri-line HIV Rapid Test Device	Abon Biopharm (Hangzhou) Co Ltd. – China	10071770815
HIV 1+2	Premier Medical Corporation Ltd – Índia	80213250458
HIV Rapid Spod Whole Blood	Zer Science Based Ind Ltda	10246310001
HIV Rapid-Check	NDI - Universidade Federal do Espírito Santo- Brasil	80123410001
HIV Sav 1 & 2 Rapid Sero Test	Savyon Diagnostics Ltd – Israel	10369460014

**Tabela 4 – Testes rápidos aprovados pela ANVISA, em Janeiro de 2017 (continuação)**

<b>TESTE</b>	<b>FABRICANTE</b>	<b>REGISTRO</b>
HIV Test 1/ 2	Orangelife Comércio E Indústria Ltda – Brasil	80535240026
HIV Test Biocon	Dialab – Áustria	80638720020
HIV Test Bioeasy	Standard Diagnostic, Inc - Coréia Do Sul	10071770701
HIV Tri Line	Quibasa Química Básica Ltda – Brasil	10269360148
HIV-1/HIV-2 Teste Rapido	Alamar Tecno Cientifica – Brasil	10252080014
HIV-EIC	Gold Analisa Diagnóstica Ltda – Brasil	80022230159
Imunocrom HIV 1/ 2	MBiolog Diagnosticos Ltda – Brasil	80047580174
Imunocrom HIV 1+2	AI de Diagnostic Co, Ltd – China	80348340008
Imuno-Rapido HIV 1&2	Wama Produtos Para Laboratorio Ltda – Brasil	10310030085
Medtest HIV	Hangzhou Biotest Biotech Co., Ltd – China	80560310010
Orange Dipstick HIV 1/ 2	Orangelife Comércio E Indústria Ltda – Brasil	80535240005
OraQuick <i>ADVANCE</i> ® Rapid HIV-1/2 Antibody Test	OraSure Technologies, Inc. – Estados Unidos	80686840002
Rapid Check HIV 1 E 2	NDI - Universidade Federal do Espírito Santo- Brasil	80123410003
Teste Rápido DPP Bio-Manguinhos HIV 1/ 2	Fundação Oswaldo Cruz – Brasil	80142170023
Teste Rapido Hiv-1/2 Bio Manguinhos	Fundação Oswaldo Cruz – Brasil	80142170019
Toyo HIV 1/ 2 Cassette Test Kit	Turklab Tibbi Malzemeler San. Tic. A.S. – Turquia	80721060026
Uni-Gold™ HIV	Trinity Biotech plc – Irlanda	80042910020
Vikia HIV-1/2	bioMerieux – França	10158120602
WL Check HIV 1+2	Wiener Laboratórios S.A.I.C. – Argentina	10268590307

Reações cruzadas em TR para outros agentes não-HIV também podem acontecer de forma imprevisível e são susceptíveis às variações de prevalência de outras doenças entre populações diferentes. As alterações na especificidade têm sido mais comumente atribuídas à exposição a agentes infecciosos únicos para cada região, como a malária, esquistossomose, entre outros<sup>61,62</sup>. Como consequência, Klarkowski *et al.*<sup>62</sup> propuseram inclusão de um teste de confirmação para todos os pacientes com resultados positivos e indeterminados, permitindo um desfecho final mais preciso quanto ao estado sorológico dos pacientes.

Para Masciotra *et al.*<sup>68</sup>, os TRs aumentaram o diagnóstico precoce do HIV e o encaminhamento para cuidados é uma estratégia para reduzir a transmissão do HIV de indivíduos com maior viremia, porém alguns testes atuais aprovados pela FDA e ANVISA não conseguem detectar algumas infecções precoces do HIV, mesmo quando os anticorpos deveriam estar presentes.

Por ser uma portaria recente, a literatura é carente de trabalhos que comparem e validem os testes rápidos disponíveis no Brasil entre si. Também há discordância a respeito da sensibilidade e especificidade das diferentes marcas de TR disponíveis pela ANVISA para uso na rotina assistencial.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1. Ética

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais (parecer CAAE 47246115.6.0000.5149 – ANEXO 1) e pela Gerência de Ensino e Pesquisa do Hospital das Clínicas da UFMG (ANEXO 2).

### 4.2. Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo observacional, analítico e de concordância, onde foi avaliado o desempenho analítico de oito diferentes kits comerciais de TR para detecção da infecção pelo HIV, em amostra de soro humano com padrão sorológico previamente definido.

Os kits utilizados foram:

#### 1. Alere Determine HIV 1 e 2 (Figura 11)

- Fabricante: Alere Medical– Japão
- Lote: 73530K001A
- Validade: 20/06/2017
- Registro ANVISA: 10071770723



Figura 9 – Alere Determine HIV 1 e 2

## 2. DPP Rapid Test HIV 1/2 (Figura 12)

- Fabricante: Labtest – Brasil
- Lote: 6001
- Validade: 25/02/2017
- Registro ANVISA: 10009010335



Figura 10 – DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest)

## 3. DS Rapid Test HIV (Figura 13)

- Fabricante: Labtest – Brasil
- Lote: 6001
- Validade: 03/03/2017
- Registro ANVISA: 10009010324



Figura 11 – DS Rapid Test HIV (Labtest)

#### 4. Imunocrom HIV 1/2 (Figura 14)

- Fabricante: MBIolog Diagnóstico – Brasil
- Lote: 1A15
- Validade: 31/05/2016
- Registro ANVISA: 80047580174



Figura 12 – Imunocrom HIV 1/2 (Mbiolog)

#### 5. Imuno-rápido HIV 1&2 (Figura 15)

- Fabricante: Wama Produtos Para Laboratorio Ltda - Brasil
- Lote: 15F090B
- Validade: 31/01/2017
- Registro ANVISA: 10310030085



Figura 13 – Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama)

## 6. Interkit HIV 1 e 2 (Figura 16)

- Fabricante: Katal Biotecnológica – Brasil
- Lote: 3006/16 000001
- Validade: 23/05/2018
- Registro ANVISA: 10377390219



Figura 14 – Interkit HIV 1 e 2 (Katal)

## 7. HIV 1/2/O Tri-line (Figura 17)

- Fabricante: Abon Biopharm (Hangzhou) Co Ltda.– China
- Lote: HIV5010019
- Validade: 31/12/2016
- Registro ANVISA: 10071770815



Figura 15 – HIV 1/2/O Tri-line (Abon)

## 8. HIV Test Bioeasy (Figura 18)

- Fabricante: Standard Diagnostic – Corea do Sul
- Lote: 03AD14035A
- Validade: 04/12/2016
- Registro ANVISA: 10071770701



Figura 16 – HIV Test Bioeasy (Bioeasy®)

Também foi feita cotação do custo unitário dos kits, diretamente com os fabricantes. Os valores foram apresentados em reais e em dólares, considerando o câmbio \$1.00 = R\$3,1819 (cotação do dia 20/01/2017).

Foram convocados representantes de todas as empresas que já tinham aprovação da ANVISA para comercialização do TR para HIV em território nacional. O contato foi feito diretamente com os fornecedores e formalizado por carta. Concordaram em participar da pesquisa seis empresas, totalizando oito diferentes TR.

O critério de inclusão dos oito kits de TR avaliados no presente estudo se baseou na aceitação voluntária dessas empresas em participar da pesquisa. Nenhum kit foi adquirido com recursos financeiros. Todos os oito kits foram recebidos via doação. Não houve conflito de interesse entre pesquisadores e as empresas.

### 4.3. Amostras

Foram utilizadas amostras provenientes de indivíduos acima de 18 meses de idade, de ambos os sexos, que realizaram os testes sorológicos para detecção da infecção pelo HIV na rotina assistencial do Instituto Hermes Pardini (IHP).

Foram utilizadas 228 amostras de soro humano definidas como reagentes (n=100), não reagentes (n=100) e indeterminadas (n=28) para o HIV, de acordo com o fluxograma de número 6, descrito na Portaria 29 de 17 de dezembro de 2013 do Ministério da Saúde<sup>66</sup> - Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV<sup>47</sup>. As amostras reagentes foram utilizadas para cálculo de sensibilidade e as não reagentes, para especificidade.

Todas as amostras foram oriundas das sorotecas do IHP e foram separadas no momento do seu descarte, decorridos 75 dias após a última análise realizada no IHP, por um período de dois anos. Elas foram conservadas sob refrigeração a -20°C, até o momento da realização dos testes laboratoriais da presente pesquisa. As amostras foram alíquotadas em *ependorfs* contendo 100 µL de soro cada. Foi utilizada uma alíquota para cada kit. Foram excluídas amostras cujo volume de soro foi inferior a 1.000 µl.

As amostras foram escolhidas aleatoriamente e foram incluídas aquelas que preenchiam os critérios definidos pelo trabalho: idade acima de 18 meses, de ambos os sexos, com resultados prévios sabidamente conhecidos.

Foram consideradas reagentes as amostras que obtiverem resultados acima do valor de corte (1,00) da metodologia de triagem (eletroquimioluminescência - HIV *Combi* - Antígeno do HIV-1 e anticorpos totais anti-HIV-1 e anti-HIV-2 - *Roche Diagnostics*, Mannheim, Alemanha) e no WB (*New Lav Blot I*, *BioRad*, *Marnes la Coquette*, França) a presença de pelo menos uma das combinações das bandas: p24; gp41; gp120/gp160, conforme o fluxograma número 6 da Portaria 29 de 17 de dezembro de 2013<sup>66</sup>.

Foram consideradas não reagentes as amostras que obtiverem resultados abaixo do valor de corte da metodologia de triagem (ECLIA < 1,0) e ausência de bandas no WB.

Foram consideradas indeterminadas as amostras que obtiverem resultado acima do valor de corte na metodologia de triagem (ECLIA ≥ 1,0) e presença de bandas que não as combinações: p24, gp42, gp120/160 no WB.

#### 4.4. Processamento das amostras

Cada amostra foi aliqüotada em 10 frascos de *ependorf*, contendo 100µL cada.

Os testes foram realizados no Laboratório Multiusuário do Departamento de Propedêutica Complementar da Faculdade de Medicina da UFMG, pelos pesquisadores e colaboradores. Foram descongeladas bateladas de 100 amostras por dia, sendo estas executadas em dois testes rápidos de marcas distintas.

O processamento das amostras ocorreu conforme a descrição exata dos procedimentos informados na bula por cada fabricante (ANEXO 3).

1) **Alere Determine HIV 1 e 2 (Alere)<sup>73</sup>:**

- a) Remover a cobertura protetora de lâmina metálica de cada teste;
- b) Aplicar 50 µL de amostra (soro, plasma ou sangue) na almofada absorvente de amostra (marcado por símbolos de seta);  
Caso a amostra seja sangue, um minuto aplicar uma gota da solução tampão;
- c) Aguardar no mínimo 20 minutos (até 30 minutos) e ler o resultado.

2) **DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest)<sup>74</sup>:**

- a) Dispense 10 µL da amostra (soro, plasma, sangue ou fluido oral) no frasco contendo Diluente de amostra e homogeneíze.  
Caso a amostra seja fluido oral, introduza a Haste coletora – Swab no frasco contendo Diluente de amostra, dobre a haste até que ela se quebre, tampe o frasco e homogeneíze.
- b) Identificar com informações do paciente a placa de reação a ser utilizada.
- c) Remova a tampa preta do frasco com Diluente de amostra, posicione o frasco perpendicularmente à placa e dispense duas gotas do diluente de amostra + amostra no poço 1. Permita que cada gota seja completamente absorvida antes da adição da próxima.
- d) Aguarde 5 minutos e verifique se as linhas azul (linha teste) e verde (linha controle) desapareceram.
- e) Aplique 4 gotas do tampão de corrida na posição 2;
- f) Realize a leitura dos resultados entre 10 e 25 minutos após adição do tampão de corrida.

3) **DS Rapid Test HIV (Labtest)**<sup>75</sup>:

- a) Destacar a quantidade de suportes para Tira de reação que serão utilizados e identificá-los com informações do paciente;
- b) Retirar do frasco de armazenamento a quantidade de tiras de reação que serão utilizadas. Evitar contato com a membrana de nitrocelulose e região de aplicação da amostra. Fechar o frasco imediatamente após retirar as tiras;
- c) Remover os protetores do adesivo no verso da tira de reação e colá-la no suporte;
- d) Pipetar 5 µL de amostra (soro, plasma ou sangue) no local destinado à aplicação da amostra (identificado pelas setas na tira e pela letra S no suporte);
- e) Logo em seguida, adicione 3 gotas do tampão de corrida no local de aplicação de amostra (S). Espere que cada gota seja completamente absorvida para aplicação da próxima. Caso o líquido não se mova pela membrana em 2 minutos, aplicar uma gota adicional do tampão de corrida;
- f) Realizar a leitura dos resultados entre 15 e 20 minutos após a adição do tampão de corrida. Não realizar a leitura após 20 minutos.

4) **Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog)**<sup>76</sup>:

- a) Abrir o sachê e remover o kit de reação;
- b) Identificar o paciente no kit de reação;
- c) Pipetar 10 µL de amostra (soro, plasma ou sangue total) na cavidade Teste do kit de reação;
- d) Dispensar 2 gotas da solução diluente na mesma cavidade;
- e) Aguardar 10 a 15 minutos para leitura dos kits. Não interpretar após este período.

5) **Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica)**<sup>77</sup>:

- a) Retirar a placa-teste do envelope laminado;
- b) Pipetar 10 µL de amostra (soro, plasma ou sangue) na cavidade da amostra na placa-teste;
- c) Dispensar 3 gotas da solução diluente na cavidade da amostra na placa-teste;
- d) Fazer a leitura dos resultados entre 10 e 15 minutos. Não considerar resultados lidos após 20 minutos.

6) **Interkit HIV 1 e 2** (Interteck Katal)<sup>78</sup>:

- a) Abra a embalagem e remova o kit de teste colocando-o sobre uma superfície plana e limpa.
- b) Identificar o kit com o número e ou nome do paciente.
- c) Aplicar com a micropipeta 20 µL de sangue total, soro ou plasma na cavidade destinada à amostra. Para melhor precisão, utilizar uma pipeta graduada de 20 µL. Certificar que não há bolhas de ar.
- d) Em seguida, adicionar, imediatamente, 2 gotas (cerca de 60-80µL) de diluente de amostras, na mesma cavidade
- e) Cronometrar o tempo.
- f) Os resultados devem ser lidos em 15 minutos. Resultados positivos podem ser observados com 1 minuto. Não ler o resultado após 20 minutos, para evitar resultados imprecisos. Descartar o kit de teste após interpretar o resultado.

7) **HIV 1/2/O Tri-line** (Abon)<sup>71</sup>:

- a) Remover o kit e a solução tampão da embalagem;
- b) Dispensar a amostra de sangue, soro ou plasma (25µL) no poço da amostra (S) do kit teste;
- c) Acrescente 1 gota (se amostra for soro ou plasma) ou 2 gotas (se amostra for sangue) da solução tampão também no poço da amostra (S);
- d) Aguarde 10 minutos para que as linhas coloridas apareçam. Não interprete os resultados após 20 minutos.

8) **HIV Test Bioeasy** (Bioeasy)<sup>72</sup>:

- a) Remover o kit da embalagem.
- b) Dispensar 10 µL de plasma ou soro (ou 20 µL de sangue) na cavidade de amostra (S);
- c) Imediatamente após a colocação da amostra, adicionar 4 gotas do diluente de ensaio na mesma cavidade de amostra (S);
- d) Observar no início da reação uma cor roxa em toda janela de resultado;
- e) Interpretar o resultado entre 10 e 20 minutos. Não interpretar antes de 10 minutos ou depois de 20 minutos.

#### **4.5. Qualidade das informações das instruções de uso**

A RDC nº 185/2001, é norma regulamenta o registro, cadastramento, alteração, revalidação e cancelamento do registro de produtos médicos, e determina informações mínimas que devem estar presentes nas instruções de uso de produtos médicos. O presente trabalho avaliou da qualidade das informações apresentadas nas instruções de uso - disponibilizadas na íntegra no ANEXO 3. A análise das informações foi conduzida por um único pesquisador, após discussão por toda a equipe dos critérios e itens a serem pesquisados.

Nessa análise, foram avaliados a apresenta e grau de compreensão das seguintes informações:

- a) Dados clínicos (informações gerais sobre a infecção do HIV);
- b) Apresentação do kit;
- c) Princípio do Método;
- d) Anticorpos e/ou antígenos detectáveis;
- e) Fase sólida utilizada;
- f) Interferentes analíticos e pré-analíticos;
- g) Limitações do teste;
- h) Acurácia (sensibilidade, especificidade, reprodutibilidade e precisão);
- i) Temperatura de armazenamento;
- j) Natureza e volume da amostra;
- k) Forma de coleta e descarte das amostras;
- l) Procedimentos de execução do teste (passo a passo);
- m) Tempo de leitura;
- n) Interpretação dos resultados;
- o) Ilustrações dos procedimentos de execução e interpretação;
- p) Dados do Fabricante e Importação;
- q) Referências bibliográficas;
- r) Clareza/compreensão das informações;
- s) Idioma da bula (português e outros).

Os resultados foram compilados em tabelas.

#### **4.6. Qualidade do padrão de leitura das bandas dos TR**

Em relação à qualidade do padrão de leitura dos dispositivos, os testes foram classificados inicialmente como reagentes ou não reagentes, de acordo com a presença ou ausência de banda na

área do teste. Foram considerados reagentes os resultados que apresentaram formação de banda de coloração visível, mesmo nos casos onde a intensidade desta coloração foi mínima.

Apenas visando comparar a qualidade do padrão de leitura dos dispositivos, foi feita a seguinte classificação dos resultados:

- Não reagentes: não se observou formação de banda na área do teste;
- Reagente “forte”: a banda na área teste apresentou coloração de intensidade igual ou superior à da banda controle;
- Reagente “fraco”: a banda na área teste apresentou coloração de intensidade inferior à da banda controle, mas de fácil visualização;
- Reagente “muito fraco”: a banda na área teste apresentou coloração muito inferior à da banda controle, de difícil visualização (presença de uma “sombra”).

Os casos de resultados “reagente fraco” e “reagente muito fraco” foram repetidos e os que geraram dúvida foram discutidos com os demais pesquisadores, sendo que o resultado foi obtido através da concordância dos três pesquisadores envolvidos.

#### **4.7. Custo financeiro de cada teste**

O levantamento do custo financeiro de cada kit foi conduzido por um único pesquisador, mediante contato direto com os fabricantes.

O valor unitário do kit foi avaliado em reais e em dólares, levando-se em consideração o valor do câmbio do dólar comercial, cotado dia 20/01/2017, correspondente a R\$ 3,1819. Considerou-se nesse cálculo o número de TR presentes em cada caixa, conforme a apresentação do fabricante.

Os kits disponibilizados pelo fabricante Labtest (DPP Rapid Test HIV 1/2 e DS Rapid Test HIV) não entraram nesta avaliação, pois até essa data eles ainda não estavam disponíveis para comercialização.

#### **4.8. Concordância pareada entre os resultados dos testes rápidos**

O grau de concordância entre os desempenhos analíticos dos oito TR testados foi conduzido por comparação pareada, ou seja, combinação de resultados entre dois kits, conforme preconizado no

fluxograma n.1 da Portaria n.29 do MS, que visa o diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV com dois TR de marcas distintas.

Os resultados foram avaliados estatisticamente e apresentados em tabela. Considerou-se boa correlação quando  $\kappa < 0,85$ .

#### **4.9. Avaliação de desempenho com base na data de validade de um kit**

A avaliação da eficácia dos kits fora do prazo de validade foi conduzida em uma única marca de TR, Alere Determine HIV 1 e 2 de lote 100722X, cuja data de validade informada pelo fabricante foi expirada há mais de cinco anos, em 18/05/2011.

Esse kit foi doado pela empresa Alere ao Departamento de Propedêutica Complementar da Faculdade de Medicina da UFMG para fins exclusivos de ensino e pesquisa, sendo proibida a sua utilização para fins diagnósticos.

Os ensaios do kit vencido foram conduzidos conforme as recomendações descritas na bula do fabricante. A sensibilidade, especificidade, os valores preditivos positivo e negativo, as razões de verossimilhança positiva e negativa e a acurácia do teste foram calculados utilizando as mesmas amostras biológicas dos ensaios anteriores, ou seja: 100 amostras sanguíneas humanas sabidamente reagentes e 100 amostras não reagentes para infecção do HIV.

Os resultados foram comparados com o desempenho analítico obtido pelo kit da mesma empresa, mas dentro do prazo de validade.

#### **4.10. Estatística**

O tamanho amostral foi calculado para um estudo descritivo de uma variável dicotômica. A fórmula empregada foi  $n = P(1-P)(z_{1-\alpha/2})^2/d^2$ , onde P é a proporção esperada para a variável de interesse, d é a amplitude total do intervalo de confiança e z é a distribuição normal para um  $\alpha$  unidirecional. As proporções esperadas utilizadas foram extraídas do Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde de 2015<sup>38</sup> (prevalência de 5,5%). Considerando um nível de confiança de 95%, e a amplitude total do intervalo de confiança de  $p < 0,05$ , o “n” amostral deveria variar entre 227 e 260 pacientes.

Os resultados dos TR foram variáveis categóricas nominais, do tipo “reagente” ou “não reagente”, e foram apresentadas como porcentagem. Foi realizada uma análise estatística descritiva das variáveis categóricas e o teste Kappa foi aplicado para avaliar a intensidade da concordância entre os kits. Segundo Landis e Koch (1977)<sup>96</sup> os índices Kappa apresentam os seguintes graus de concordância: inferior a zero: sem concordância, de zero a 0,19 baixíssima concordância, de 0,20 a 0,39 baixa concordância, de 0,40 a 0,59 concordância moderada, de 0,60 a 0,79 boa concordância e de 0,80 a 1,00 perfeita concordância. O nível de significância estatística adotado foi de 95% ( $p < 0,05$ ).

O grau de concordância entre os desempenhos analíticos dos oito TR testados foi conduzido por comparação pareada, ou seja, combinação de resultados entre dois kits, conforme preconizado no fluxograma n.1 da Portaria n.29 do MS, que visa o diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV com dois TR de marcas distintas. Os resultados foram avaliados estatisticamente e apresentados em tabela.

Considerando verdadeiro positivo (VP) como amostras reagentes nos testes de triagem, WB e TR; verdadeiro negativo (VN) como amostras não reagentes nos testes de triagem, WB e TR; falso positivo (FP) como amostras não reagentes nos testes de triagem e WB, mas reagentes nos TR e falso negativo (FN) amostras reagentes nos testes de triagem e WB e não reagentes nos TR, as seguintes medidas de acurácia diagnóstica, com os respectivos intervalos de confiança (IC) de 95%, foram calculadas para cada teste:

- Sensibilidade: total de amostras verdadeiro positivas dividido pela soma do total de amostras positivas nos TR e o total de amostras falsos negativos  $[VP/(P+FN)]$ .
- Especificidade: total de amostras verdadeiro negativas dividido pela soma do total de amostras negativas nos TR e o total de amostras falsos positivos  $[VN/(N+FP)]$ .
- Valor preditivo positivo: número total de amostras verdadeiro positivas dividido pelo total de amostras positivas nos TR  $[VP/(VP + FP)]$ .
- Valor preditivo negativo: número total de amostras verdadeiro negativas dividido pelo total de amostras negativas nos TR  $[VN/(VN+FN)]$ .
- Razão de verossimilhança positiva (RV+): sensibilidade do teste dividida pelo número de resultados falsos positivos.
- Razão de verossimilhança negativa (RV-): resultados falsos negativos do teste dividido pela especificidade.

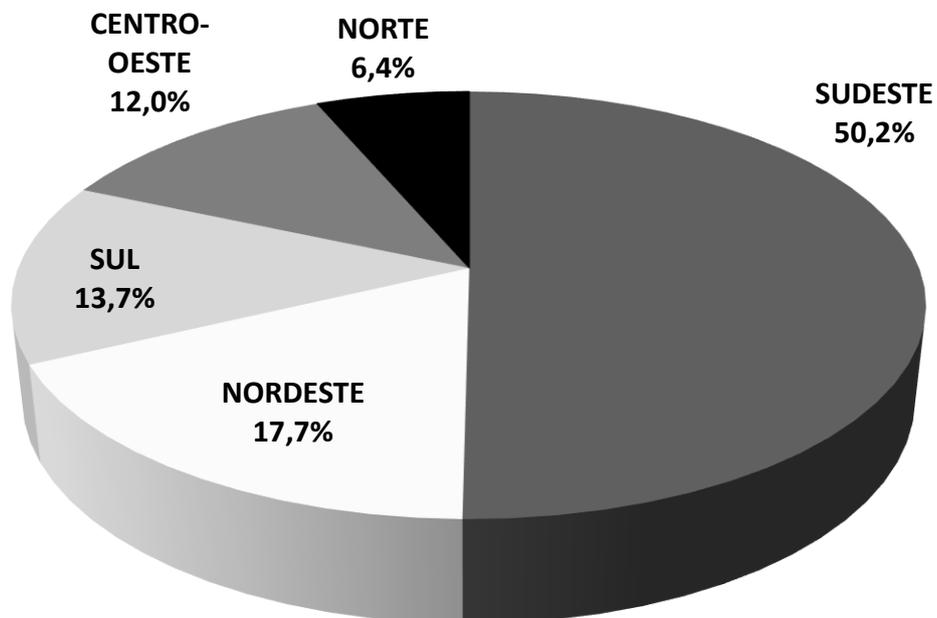
- Acurácia: soma do número total de amostras verdadeiro positivas e o número total de amostras verdadeiro negativas dividida pela soma do total de amostras positivas e negativas  $[(VP+VN)/(P+N)]$ .

A análise estatística foi executada pelo programa estatístico IBM SPSS *Statistics for Windows*, versão 19.0<sup>79</sup>.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Amostras

Foram analisadas 228 amostras séricas, oriundas de todo o território nacional, sendo 100 pacientes reagentes para HIV, 100 pacientes não reagentes para HIV, e 28 pacientes indeterminados para HIV. Destes, 131 eram do sexo masculino (57,5%) e 97 do sexo feminino (42,5%). Em relação à região de origem da amostra (Figura 19), houve predomínio da região Sudeste (50,2%), sede dos laboratórios.

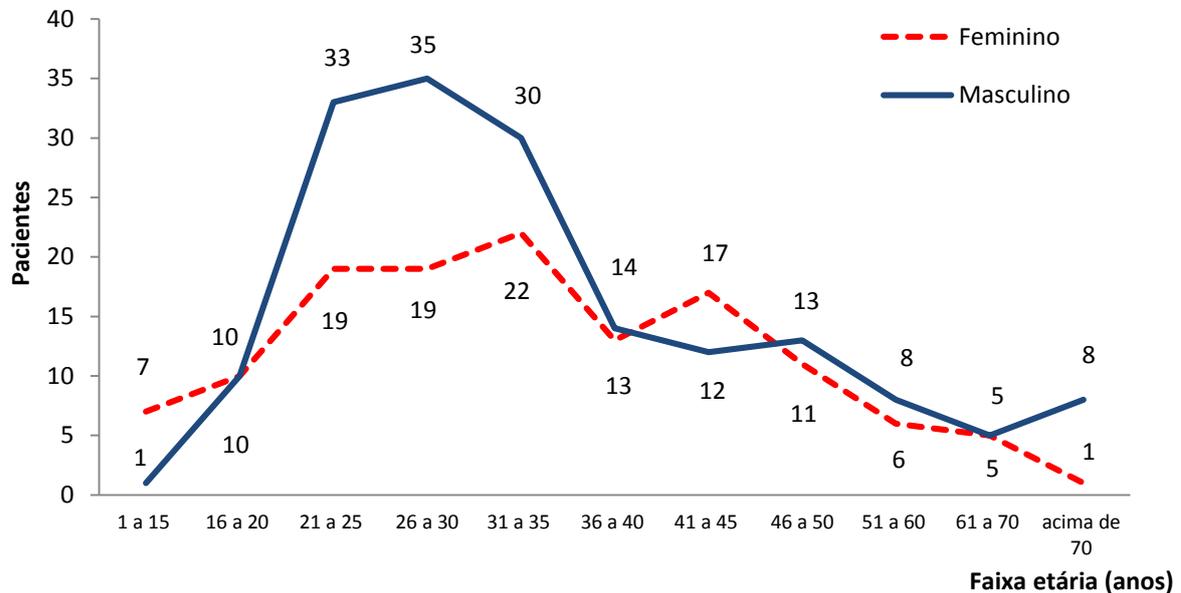


**Figura 17 - Gráfico de distribuição da região de origem das amostras**

A Figura 20 representa esta distribuição de acordo com o sexo e idade.

A média da idade dos pacientes foi de 34,28 (32,75 – 35,81) anos, distribuídos nas seguintes faixas etárias: 2,7% pacientes entre 1 a 15 anos; 6,7% entre 16 a 20 anos; 17,4% entre 21 a 25 anos; 18,1% entre 26 e 30 anos; 17,4% entre 31 e 35 anos; 9,0% entre 36 a 40 anos; 9,7% entre 41 a 45 anos; 8,0% entre 46 e 50 anos; 4,7% entre 51 a 60 anos; 3,3% entre 61 e 70 anos; e 3,0% acima de

70 anos. Destes, 46,49 % erma do sexo masculino, 35,12% do sexo feminino e 18,39% não informaram.



**Figura 18 - Gráfico de distribuição da amostra por faixa etária de acordo com o sexo**

## 5.2. Avaliação dos kits utilizados

Em relação aos kits utilizados, foram feitas avaliações sobre a execução do teste e sobre as informações da bula.

No que se refere à execução do teste, foram avaliados: o volume de amostra utilizada (considerando amostras de soro), número de reagentes utilizados, quantidade de etapas de execução, tempo de execução e temperatura de armazenamento do kit (Tabela 5).

**Tabela 5 - Avaliação das características de execução de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV**

<b>KIT</b>	<b>VOLUME DA AMOSTRA (µL)</b>	<b>NÚMERO DE REAGENTES</b>	<b>NÚMERO DE ETAPAS</b>	<b>TEMPO DE EXECUÇÃO (MINUTOS)</b>	<b>TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO (°C)</b>
<b>Alere Determine HIV 1 e 2 (Alere)</b>	50	1	1	20 – 30	2-30
<b>DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest)</b>	10	3	5	10 – 25	2-30
<b>DS RAPID TEST HIV (Labtest)</b>	5	2	2	15 – 20	8-30
<b>IMUNOCROM HIV 1+2 (MBiolog)</b>	10	2	2	10 – 15	15-30
<b>Imuno-rápido HIV 1&amp;2 (Wama Diagnóstica)</b>	10	2	2	10 – 15	2-30
<b>Interkit HIV 1 e2 (Interteck Katal)</b>	20	2	2	15 – 20	15-30
<b>HIV 1/2/O Tri-line (ABON)</b>	25	2	2	10 – 20	2-30
<b>HIV Test Bioeasy (Bioeasy)</b>	10	2	2	10 – 20	1-30

A maioria dos dispositivos utilizaram volumes reduzidos de amostra biológica (mediana = 10 µL), dois reagentes e duas etapas. O tempo de leitura final do teste variou de 10 a 30 minutos. Quanto à temperatura de armazenamento dos kits, a maioria pode permanecer sob refrigeração ou à temperatura ambiente de até 30°C.

Os demais dados de composição das instruções de uso dos 8 TR testados estão compilados na Tabela 6.

**Tabela 6 - Verificação da composição das instruções de uso de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV**

<b>INFORMAÇÕES DAS INSTRUÇÕES DE USO</b>	<b>Alere Determine HIV 1 e 2</b>	<b>DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest)</b>	<b>Ds Rapid Test HIV (Labtest)</b>	<b>Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog)</b>	<b>Imuno-rápido HIV 1&amp;2 (Wama Diagnóstica)</b>	<b>Interkit HIV 1 e2 (Inter-teck Katal)</b>	<b>HIV 1/2/O Tri-line (ABON)</b>	<b>HIV Test Bioeasy (Bioeasy)</b>
Informações clínicas	√	√	√	-	√	√	√	-
Apresentação do kit	√	-	-	√	√	√	-	-
Princípio do Método	√	√	√	√	-	√	√	-
Anticorpos anti-HIV-1	√	√	√	√	√	√	√	√
Anticorpos anti-HIV-2	-	-	-	-	-	√	√	√
Fase sólida	-	-	-	-	-	√	√	-
Tipo de amostra	√	√	√	√	√	√	√	√
Informações sobre a coleta	√	√	√	√	√	√	√	√
Armazenamento da amostra	√	√	√	√	√	√	-	√
Procedimentos do teste	√	√	√	√	√	√	√	√
Precauções/cuidados em relação aos reagentes	√	√	√	√	√	√	-	√
Materiais fornecidos	√	√	√	√	√	√	√	√
Materiais necessários mas não fornecidos	√	√	√	√	√	√	-	-
Armazenamento do Kit	√	√	√	√	-	√	√	√
Interferentes	√	√	√	-	-	√	√	-
Limitações	√	-	-	-	-	√	√	√
Características do teste (sensibilidade/especificidade)	√	√	√	√	√	√	√	√
Imagem exemplificando os resultados	√	√	√	√	√	√	√	√
Interpretação dos resultados	√	√	√	√	√	√	√	√
Referências bibliográficas	√	√	√	√	√	√	√	√
Idioma das Instruções de uso (além do português)	√	-	-	-	√	-	-	-
Informações do fabricante	√	√	√	√	√	√	√	√

A comparação entre fabricantes, importadoras, metodologias, antígenos, fases sólidas e tipos de amostras estão na Tabela 7.

**Tabela 7 – Dados analíticos apresentados nas instruções de uso de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV**

<b>KIT</b>	<b>FABRICANTE</b>	<b>IMPORTADORA</b>	<b>MÉTODO</b>	<b>ANTÍGENOS</b>	<b>FASE SÓLIDA</b>	<b>AMOSTRA</b>
Alere Determine HIV 1 e 2	Alere	Alere	Imunocromatografia	HIV 1 e 2 (não discrimina)	Não informado	Soro, plasma ou sangue total
DPP Rapid Test HIV 1/2	Labtest	Não se aplica	Imunocromatografia	HIV1 (gp41, gp120) e HIV2 (gp36)	Não informado	Soro, plasma, sangue total ou fluido oral
DS Rapid Test HIV	Labtest	Não se aplica	Imunocromatografia	HIV1 (gp41, gp120) e HIV2 (gp36)	Não informado	Soro, plasma ou sangue total
Imunocrom HIV 1+2	MBiolog Diagnósticos	Não se aplica	Imunocromatografia	HIV1 (gp41) e HIV2 (gp36)	Não informado	Soro, plasma ou sangue total
Imuno-rápido HIV 1&2	Wama / Obelis	Wama Diagnóstica	Não informado	HIV1 (gp41) e HIV2 (gp36)	Não informado	Soro, plasma ou sangue total
Interkit HIV 1 e 2	Katal Biotecnológica	Não se aplica	Imunocromatografia de fluxo lateral	HIV 1 e 2 (não discrimina)	Membrana de nitrocellulose	Soro, plasma ou sangue total
HIV 1/2/O Tri-line	Abon Biopharm (Hangzhou)	Alere	Imunocromatografia	HIV1 (gp41) e HIV2 (gp36)	Membrana de nitrocellulose	Soro, plasma ou sangue total
HIV Test Bioeasy	Standard Diagnostic	Alere	Não informado	HIV1 (p 24 e gp41) e HIV2 (gp36)	Não informado	Soro, plasma ou sangue total

As informações nas instruções de uso relacionadas a: forma de coleta, dados sobre a infecção, janela imunológica, forma de descarte, data de revisão da bula, referências bibliográficas (quantidade e datas de publicação) e disponibilidade de contato do fabricante, estão descritos na Tabela 8.

**Tabela 8 – Avaliação de informações apresentadas nas instruções de uso de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV**

KIT	INFORMAÇÕES SOBRE COLETA	INFORMAÇÕES SOBRE A INFECÇÃO	JANELA IMUNOLÓGICA	DESCARTE	DATA DE REVISÃO DA BULA	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	CONTATO - SAC
Alere Determine HIV 1 e 2	Presente	Presente	Não informado	Não informado	Out/2015	13 estudos (1981 – 2011)	Disponível
DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest)	Presente	Presente	Não informado	Não informado	Dez/2015	8 estudos (1983-2013)	Disponível
DS Rapid Test HIV (Labtest)	Não informado	Presente	Não informado	Não informado	Nov/2015	8 estudos (1983 – 2013)	Disponível
Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog)	Presente	Não informado	Não informado	Presente	Ago/2014	4 estudos (1984-1988)	Disponível
Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica)	Não informado	Presente	Não informado	Não informado	Set/2008	7 estudos (1990 – 1999)	Disponível
Interkit HIV 1 e2 (Intertek Katal)	Presente	Presente	Não informado	Não informado	Jul/2016	10 estudos (1987 – 2008)	Disponível
HIV 1/2/O Tri-line (ABON)	Presente	Presente	Não informado	Presente	Jan/2015	6 estudos (1987 – 1998)	Não possui telefone apenas endereço do fabricante
HIV Test Bioeasy (Bioeasy)	Presente	Não informado	Não informado	Presente	Jul/2014	7 estudos (2002 – 2008)	Disponível

As informações nas instruções de uso referentes aos possíveis interferentes e reações cruzadas de cada kit encontram-se na Tabela 9.

**Tabela 9 – Interferentes e reações cruzadas informados nas instruções de uso de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV**

<b>KIT</b>	<b>INTERFERENTES</b>	<b>REAÇÕES CRUZADAS</b>
Alere Determine HIV 1 e 2	Não informado	Não informado
DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest)	Hemoglobina, Bilirrubina, Triglicérides, Colesterol, Proteína, EDTA, Heparina lítica e Heparina sódica abaixo do limite superior de detecção não interferem nos testes.	Não encontrada reação cruzada com: Fator Reumatóide, HTLV I/II, Hepatite B, Hepatite C, Citomegalovírus (IgM), Epstein Barr (IgG) e Sífilis
DS Rapid Test HIV (Labtest)	Fator reumatóide até 80 UI/mL e hCG até 550 UI/mL podem interferir nos testes. Hemólise, lipemia e icterícia não interferem no resultado	Não observadas reações cruzadas com: Citomegalovírus (IgM), Epstein Barr (IgG), hepatite B, Hepatite C, Herpes Simples, Varicella Zoster, Rubéola, Anticorpo Anti-nuclear, HTLV I/II, Sífilis e Tuberculose
Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog)	Não informado	Não informado
Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica)	Não informado	Não informado
Interkit HIV 1 e2 (Intertek Katal)	Anticoagulantes e componentes do sangue podem afetar o comportamento de alguns testes. Albumina 50 g/L, glicose 55mmol/L, hemoglobina 2g/L, EDTA 3,4 µmol/L e heparina 3U/L não afetam o desempenho do teste	Amostras contendo alto título de anticorpos heterofilos ou fator reumatoide podem fornecer resultados imprecisos Apesar da intensidade não ter nenhuma correlação linear com os títulos de anticorpos presentes na amostra, amostras com alta concentração de HIV-1 podem apresentar positividade para HIV-2, para diferenciar e solucionar areação cruzada diluir a amostra.
HIV 1/2/O Tri-line (ABON)	Não informado	Não informado
HIV Test Bioeasy (Bioeasy)	Anticoagulantes tais como Heparina, EDTA e citrato de sódio não afetam o resultado do teste.	Amostras hemolíticas, lipídicas, ictéricas, contendo fator reumatóide podem afetar o resultado do teste.

Informações nas instruções de uso sobre sensibilidade, especificidade, reprodutibilidade/precisão e controle de qualidade estão compiladas na Tabela 10.

**Tabela 10 – Dados referentes à sensibilidade, especificidade, reprodutibilidade/precisão e controle de qualidade informados nas instruções de uso de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV**

KIT	SENSIBILIDADE	ESPECIFICIDADE	REPRODUTIBILIDADE E PRECISÃO	CONTROLE DE QUALIDADE
Alere Determine HIV 1 e 2	99,9%	99,7%	Não informado	Presença da linha controle no kit
DPP Rápido Test HIV 1/2 (Labtest)	100%	99,9%	Não informado	Presença da linha controle no kit. Sugere-se utilização de um sistema associado, utilizando uma amostra sabidamente não reagente e uma reagente
DS Rápido Test HIV (Labtest)	100%	99,7%	100% para ambos os parâmetros	Presença da linha controle no kit. Sugere utilização de um sistema associado, utilizando uma amostra sabidamente não reagente e uma reagente
Imunocrom HIV 1+2 (Mbiolog)	98,7%	99,9%	100% para ambos os parâmetros	Presença da linha controle no kit. Sugere a utilização de controles externos
Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica)	100%	99,9%	Não informado	Presença da linha controle no kit, possui guia de cores para resultados
Interkit HIV 1 e2 (Intertek Katal)	100%	99,9%	100% para ambos os parâmetros	Presença da linha controle no kit
HIV 1/2/O Tri-line (ABON)	100%	99,8%	Não informado	Presença da linha controle no kit. Sugere testar controles positivos e negativos
HIV Test Bioeasy (Bioeasy)	100%	99,8%	100% para ambos os parâmetros	Presença da linha controle no kit

Os resultados das cotações (em reais e em dólares) dos preços de cada kit, obtidos diretamente com os fabricantes dos mesmos, estão apresentados na Tabela 11.

**Tabela 11 – Custo unitário dos kits (em reais e em dólares) de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV**

<b>Kit</b>	<b>Valor por unidade (em Dólar \$)*</b>	<b>Valor por unidade (em Reais R\$)</b>
Alere Determine HIV 1 e 2 (Alere)	1,03	3,27
DPP Rapid Test HIV ½ (Labtest)**	-	-
DS RAPID TEST HIV (Labtest)**	-	-
Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog)	1,04	3,30
Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica)	1,40	4,45
Interkit HIV 1 e2 (Interteck Katal)	2,19	6,96
HIV 1/2/O TRI-LINE (ABON)	1,29	4,11
HIV Test Bioeasy (Bioeasy)	1,06	3,36

\*\$1.00 = R\$3,1819 (cotação do dia 20/01/2017)

\*\* testes ainda não disponíveis para comercialização

### 5.3. Estatística

A sensibilidade dos kits foi calculada considerando n=100 amostras, os pacientes classificados como reagentes no padrão ouro foram utilizados no cálculo (Tabela 12).

**Tabela 12 - Sensibilidade de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV**

KIT	REAGENTE			NÃO REAGENTE	SENSIBILIDADE encontrada (IC 95%)	SENSIBILIDADE da bula (%)
	Forte	Fraco	Muito fraco			
Alere Determine HIV 1 e 2	100	0	0	0	100 (-)	99,9
DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest)	84	16	0	0	100 (-)	100
DS RAPID TEST HIV (Labtest)	99	1	0	0	100 (-)	100
Imunocrom HIV 1+2 (Mbiolog)	48	25	19	8	92,0 (84,8 – 96,5)	98,7
Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica)	18	58	16	8	92,0 (84,8 – 96,5)	100
Interkit HIV 1 e2 (Interteck Katal)	96	4	0	0	100 (-)	100
HIV 1/2/O TRI-LINE (ABON)	92	6	1	1	99,0 (94,6 – 100)	100
HIV Test Bioeasy (Bioeasy)	93	7	0	0	100 (-)	100

Dos oito kits testados, cinco obtiveram 100% de sensibilidade, sendo a sensibilidade dos kits HIV 1/2/O TRI-LINE (ABON), Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica) e Imunocrom HIV 1+2 (Mbiolog) de 99%, 92% e 92%, respectivamente. Para o intervalo de confiança estabelecido, o kit HIV 1/2/O TRI-LINE (ABON) está de acordo com o fabricante, ao contrário dos kits Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica) e Imunocrom HIV 1+2 (Mbiolog).

Algumas reações que apresentaram resultado discordante do padrão-ouro foram repetidas. Em todas essas repetições os resultados foram semelhantes, ou seja, os kits demonstraram boa reprodutibilidade.

Para o cálculo da especificidade o n foi de 100 amostras sendo as classificadas como não reagentes pelo padrão ouro (Tabela 13). O intervalo de confiança utilizado para estes cálculos foi de 95%.

**Tabela 13 - Especificidade de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV**

KIT	REAGENTE			NÃO REAGENTE	ESPECIFICIDADE encontrada (IC 95%)	ESPECIFICIDADE da bula (%)
	Forte	Fraco	Muito fraco			
Alere Determine HIV 1 e 2	2	4	0	94	94,0 (87,4 – 97,8)	99
DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest)	0	1	3	96	96,0 (90,1 – 98,9)	99,9
DS RAPID TEST HIV (Labtest)	0	0	1	99	99,0 (94,6 – 100)	99,7
Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog)	0	0	0	100	100 (-)	99,9
Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica)	0	0	1	99	99,0 (94,6 – 100)	99,9
Interkit HIV 1 e2 (Interteck Katal)	0	2	0	98	98,0 (93,0 – 99,8)	99,9
HIV 1/2/O TRI-LINE (ABON)	0	1	2	97	97,0 (91,5 – 99,4)	99,8
HIV Test Bioeasy (Bioeasy)	1	2	1	96	96,0 (90,1 – 98,9)	99,8

A especificidade dos kits variou de 94 a 100%, os valores preditivos positivos (VPP) variaram de 90,7 a 100% e os valores preditivos negativos (VPN) variaram de 95,5 a 100 % (Tabela 14). O kit que obteve melhor especificidade e melhor VPP foi Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog), mas também foi o que apresentou pior VPN.

Em relação à qualidade do padrão de leitura das bandas, as tabelas 12 e 13 também demonstram o quantitativo de resultados reagentes classificados como “forte”, “fraco” e “muito fraco”. Para fins de ilustração, a Figura 13 demonstra a variação do padrão de visualização das bandas em uma mesma amostra sanguínea, sabidamente reagente. Nessa amostra, os resultados variaram entre reagente (classificados didaticamente em “forte”, “fraco”, “muito fraco”) e não reagente.

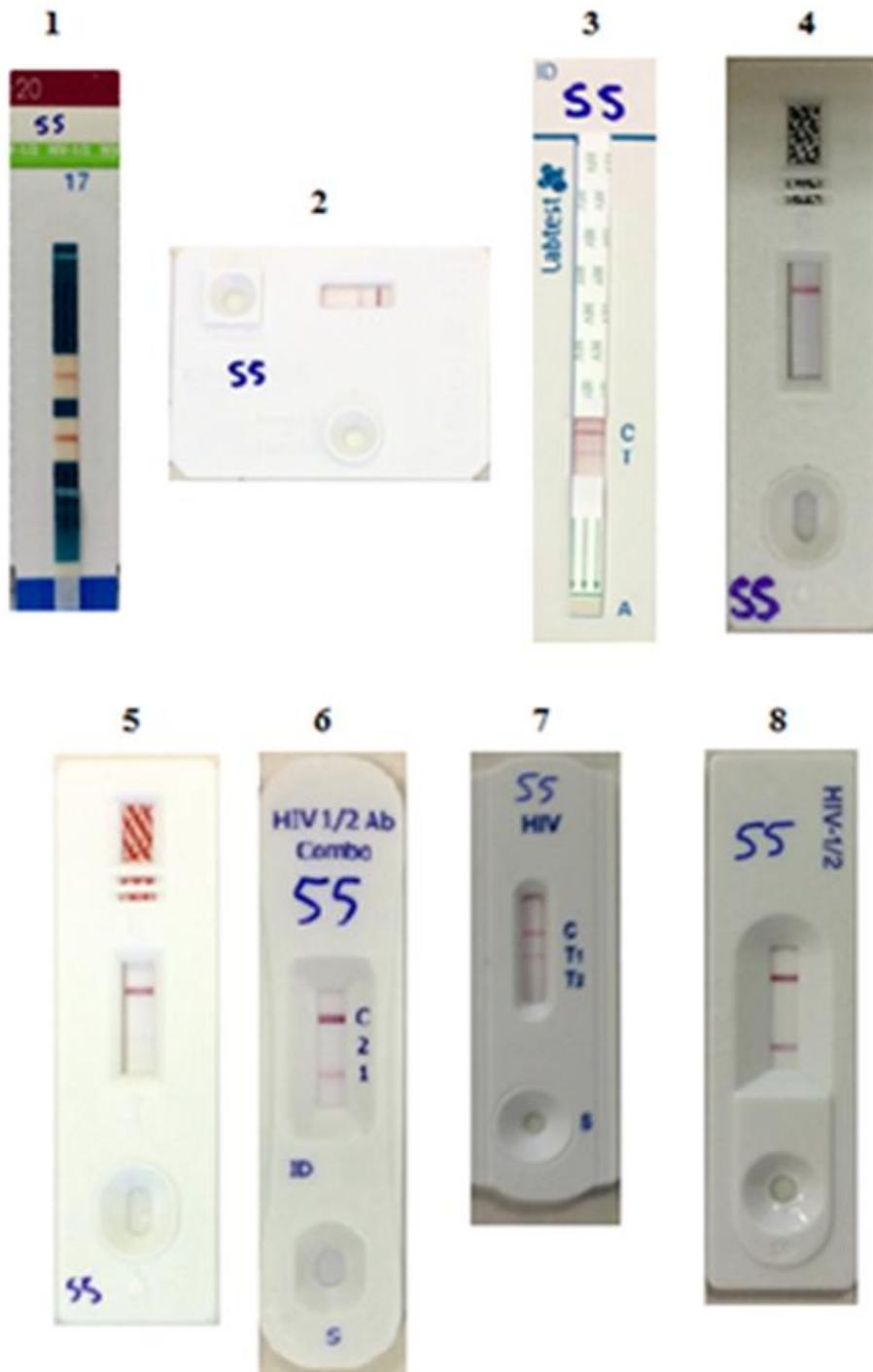


Figura 19 – Variação no padrão de leitura das bandas em uma mesma amostra sanguínea sabidamente reagente (n°55). Observam-se alterações de intensidade de coloração das bandas, nos oito dispositivos testados. 1 – Alere Determine HIV 1 e 2 (reagente “forte”); 2 - DPP Rapid Test HIV 1/ 2 (reagente “fraco”); 3 - DS RAPID TEST HIV (reagente “fraco”); 4 - Imunocrom HIV 1+2 (não reagente); 5 - Imuno-rápido HIV 1&2 (reagente “muito fraco”); 6 - Interkit HIV 1 e 2 (reagente “fraco”); 7 - HIV 1/2/O Tri-line (reagente “fraco”); 8 - HIV Test Bioeasy (reagente “forte”).

Os kits Imunocrom HIV 1+2 (Mbiolog) e Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica) apresentaram número considerável de amostras sabidamente positivas com resultados classificados como “reagente fraco” e “reagente muito fraco”, dada a dificuldade de leitura da coloração das bandas na área do resultado, em comparação com a banda na área do controle, o que influenciou a menor sensibilidade dos mesmos.

Os Valores Preditivos Positivo e Negativo dos testes rápidos testados estão na Tabela 14.

**Tabela 14 – Valores preditivos positivo e negativo de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV**

<b>KIT</b>	<b>VALOR PREDITIVO POSITIVO (%) (IC 95%)</b>	<b>VALOR PREDITIVO NEGATIVO (%) (IC 95%)</b>
Alere Determine HIV 1 e 2	90,7 (87,4 - 94,0)	100,0 (-)
DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest)	93,6 (90,8 - 96,4)	100,0 (-)
DS RAPID TEST HIV (Labtest)	98,3 (96,8 - 99,8)	100,0 (-)
Imunocrom HIV 1+2 (Mbiolog)	100,0 (-)	95,6 (91,6 – 99,6)
Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica)	98,2 (96,1 - 99,5)	95,5 (91,4 – 99,6)
Interkit HIV 1 e2 (Interteck Katal)	96,7 (94,7 - 98,7)	100,0 (-)
HIV 1/2/O TRI-LINE (ABON)	95,1 (90,9 – 99,3)	99,4 (97,9 - 100)
HIV Test Bioeasy (Bioeasy)	93,6 (90,8 - 96,4)	100,0 (-)

A menor especificidade (94%) e menor VPP (90,7%) foram observados no kit Alere Determine HIV 1 e 2, porém este kit apresentou VPN de 100% assim como DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest), DS RAPID TEST HIV (Labtest), Interkit HIV 1 e2 (Interteck Katal) e HIV Test Bioeasy (Bioeasy).

As razões de verossimilhança e acurácia dos testes rápidos testados estão na Tabela 15.

**Tabela 15 – Razões de Verossimilhança e Acurácia de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV**

KIT	RAZÃO DE VEROSSIMILHANÇA POSITIVA (RV+) (IC 95%)	RAZÃO DE VEROSSIMILHANÇA NEGATIVA (RV-) (IC 95%)	ACURÁCIA % (IC 95%)
Alere Determine HIV 1 e 2	0,17 (0,12 - 0,22)	0,00 (-)	97,0 (94,6 - 99,4)
DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest)	1,00 (-)	0,00 (-)	98,0 (96,1 - 99,9)
DS RAPID TEST HIV (Labtest)	0,00 (-)	0,00 (-)	99,5 (98,5 - 100)
Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog)	0,00 (-)	8,00 (4,24 - 11,76)	86,5 (81,8 - 91,2)
Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica)	0,00 (-)	8,08 (4,30 - 11,86)	87,5 (82,9 - 92,1)
Interkit HIV 1 e2 (Interteck Katal)	0,50 (0,43 - 0,57)	0,00 (-)	99,0 (97,6 - 100)
HIV 1/2/O TRI-LINE (ABON)	0,98 (0,96 - 1,00)	1,03 (0,00 - 2,43)	97,5 (95,3 - 99,7)
HIV Test Bioeasy (Bioeasy)	0,33 (0,27 - 0,40)	0,00 (-)	98,0 (96,1 - 99,9)

Apenas o kit DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest) obteve razão de verossimilhança positiva de 1,0 (Tabela 15) enquanto os kits DS RAPID TEST HIV (Labtest), Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog), Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica) obtiveram RV+ de 0,0. Em relação à razão de verossimilhança negativa os kits que tiveram melhor desempenho foram Alere Determine HIV 1 e 2, DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest), DS RAPID TEST HIV (Labtest), Interkit HIV 1 e2 (Interteck Katal) e HIV Test Bioeasy (Bioeasy), com índice de 0,0, e o que obteve o pior RV- foi o kit Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica) (8,08). Já a melhor acurácia foi observada no kit DS RAPID TEST HIV (Labtest) (99,5%) e a pior observada no kit Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog) (86,5%).

Os percentuais de verdadeiro positivo e verdadeiro negativo encontrados em cada kit estão expostos na Tabela 16.

**Tabela 16 – Verdadeiro positivo e negativo, falso positivo e negativo de oito marcas de teste rápido para detecção da infecção pelo HIV**

KIT	VERDADEIRO POSITIVO	VERDADEIRO NEGATIVO	FALSO POSITIVO	FALSO NEGATIVO
Alere Determine HIV 1 e 2	100	94	6	0
DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest)	100	96	1	0
DS RAPID TEST HIV (Labtest)	100	99	0	0
Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog)	73	100	0	8
Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica)	76	99	0	8
Interkit HIV 1 e2 (Interteck Katal)	100	98	2	0
HIV 1/2/O TRI-LINE (ABON)	98	97	1	1
HIV Test Bioeasy (Bioeasy)	100	96	3	0

Os kits Alere Determine HIV 1 e 2, DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest), DS Rapid Test HIV (Labtest), Interkit HIV 1 e2 (Interteck Katal) e HIV Test Bioeasy (Bioeasy) não apresentaram nenhum resultados falso negativo. Por outro lado, os kits Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog) e Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica) apresentaram, ambos, oito destes resultados. Todos os kits tiveram um elevado número resultados de verdadeiro negativos, o que reforça os valores de especificidade encontrados.

Os kits que apresentaram mais resultados falso positivos foram o Alere Determine HIV 1 e 2 e DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest), ao passo que o único kit que não apresentou estes resultados foi o Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog). O número de resultados verdadeiro positivos ratifica os valores de sensibilidade encontrados.

A concordância (índice Kappa) entre as oito marcas de testes rápidos para detecção da infecção pelo HIV estão listados na Tabela 17.

**Tabela 17 – Concordância - índice Kappa (IC 95%) entre as oito marcas de testes rápidos para detecção da infecção pelo HIV**

	<b>Alere Determine HIV 1 e 2</b>	<b>DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest)</b>	<b>DS Rapid Test HIV (Labtest)</b>	<b>Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog)</b>	<b>Imuno-rápido HIV 1&amp;2 (Wama Diagnóstica)</b>	<b>Interkit HIV 1 e2 (Interteck Katal)</b>	<b>HIV 1/2/O TRI-LINE (ABON)</b>
Alere Determine HIV 1 e 2	-	-	-	-	-	-	-
DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest)	0,73 (0,68 - 0,78)	-	-	-	-	-	-
DS Rapid Test HIV (Labtest)	0,79 (0,74 - 0,84)	0,86 (0,82 - 0,90)	-	-	-	-	-
Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog)	0,63 (0,57 - 0,68)	0,60 (0,55 - 0,66)	0,67 (0,62 - 0,72)	-	-	-	-
Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica)	0,59 (0,53 - 0,65)	0,61 (0,56 - 0,67)	0,66 (0,61 - 0,71)	0,51 (0,45 - 0,57)	-	-	-
Interkit HIV 1 e2 (Interteck Katal)	0,87 (0,83 - 0,91)	0,82 (0,78 - 0,86)	0,86 (0,82 - 0,90)	0,70 (0,65 - 0,75)	0,67 (0,62 - 0,72)	-	-
HIV 1/2/O Tri-line (ABON)	0,80 (0,75 - 0,84)	0,73 (0,68 - 0,78)	0,82 (0,78 - 0,86)	0,63 (0,57 - 0,68)	0,58 (0,52 - 0,64)	0,87 (0,83 - 0,91)	-
HIV Test Bioeasy (Bioeasy)	0,81 (0,77 - 0,85)	0,73 (0,68 - 0,78)	0,75 (0,70 - 0,80)	0,62 (0,57 - 0,68)	0,57 (0,51 - 0,63)	0,88 (0,84 - 0,92)	0,85 (0,81 - 0,89)

Considerando uma boa correlação ( $kappa > 0,85$ ), os kits que tiveram melhor índice foram:

- Interkit HIV 1 e 2 (Interteck Katal) e HIV Test Bioeasy (Bioeasy) - índice de 0,88;
- Alere Determine HIV 1 e 2 e Interkit HIV 1 e 2 (InterteckKatal) - índice de 0,87;
- Interkit HIV 1 e 2 (InterteckKatal) e HIV 1/2/O TRI-LINE (ABON) - índice de 0,87;
- DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest) e DS Rapid Test HIV (Labtest) - índice 0,86;
- DS Rapid Test HIV (Labtest) e Interkit HIV 1 e 2 (InterteckKatal) - índice 0,86;
- HIV 1/2/O TRI-LINE (ABON) e HIV Test Bioeasy (Bioeasy) - índice de 0,85.

Das 99 amostras previamente selecionadas como indeterminadas de acordo com o padrão-ouro, apenas 28 pacientes retornaram ao IHP e obtiveram desfechos diagnósticos. Foram realizados os TR destas 28 amostras, as quais 11 (39,3%) obtiveram resultado posterior reigente no padrão-ouro e 17 (60,7%) obtiveram resultado posterior não reigente no padrão-ouro, os resultados dos TR foram comparados ao desfecho diagnóstico encontrado posteriormente (Tabela 18).

**Tabela 18 – Desempenho analítico dos oito testes rápidos nas 28 amostras indeterminadas**

PACIENTE	Desfecho diagnóstico (Padrão ouro)	Determine HIV 1 e 2 (Alere)	DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest)	DS RAPID TEST HIV (Labtest)	Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog)	Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica)	Interkit HIV 1 e2 (Interteck Katal)	HIV 1/2/O TRI-LINE (ABON)	HIV Test Bioeasy (Bioeasy)
204	-	-	-	-	-	-	-	-	-
205	-	-	-	-	+	-	-	-	-
221	-	-	-	-	-	-	-	-	-
224	-	+	-	-	-	-	-	-	-
234	-	-	-	-	-	-	-	-	-
236	-	-	-	-	-	-	-	-	-
252	-	+	-	-	-	-	+	+	+
255	-	+	-	-	-	-	-	-	-
265	-	-	-	-	-	-	-	-	-
269	-	-	-	-	-	-	-	-	-
270	-	-	-	-	-	-	-	-	-
275	-	+	-	-	-	-	-	-	+
283	-	+	-	-	-	-	-	-	-
285	-	-	-	-	-	-	-	-	-
295	-	+	-	-	-	-	-	-	-
296	-	+	-	-	+	-	-	-	+
297	-	-	-	-	-	-	-	-	-
210	+	+	+	+	+	-	+	+	+
230	+	+	+	+	-	-	+	+	+
235	+	+	+	+	-	-	+	+	+
237	+	+	+	+	+	-	+	+	+
244	+	+	-	-	+	-	+	+	+
258	+	+	+	+	+	+	+	+	+
262	+	+	+	+	-	-	+	+	+
266	+	+	+	+	+	-	+	+	+
272	+	+	-	-	-	-	+	+	+
287	+	-	-	-	-	-	-	-	-
294	+	+	-	-	-	-	+	-	+

Reigente (+) e Não reigente (-)

Dos 11 pacientes indeterminados que se confirmaram como “reagentes” posteriormente no padrão ouro, 90,9% foram corretamente identificados nos kits Alere Determine HIV 1 e 2, Interkit HIV 1 e 2 e HIV Test Bioeasy. O kit HIV 1/2/O Tri-line foi capaz de predizer 81,8% dos resultados reagentes e enquanto os kits DPP Rapid Test HIV 1/ 2 e DS Rapid Test HIV apenas 63,6%. Os kits Imunocrom HIV 1+2 e Imuno-rápido HIV 1&2 foram os menos sensíveis a esta avaliação e identificaram apenas 45,5% e 9,1% dos resultados reagentes, respectivamente.

Em relação aos 17 pacientes indeterminados que se confirmaram como “não reagentes” posteriormente no padrão ouro, 100% foram corretamente identificados nos kits DPP Rapid Test HIV 1/ 2, DS Rapid Test HIV e Imuno-rápido HIV 1&2. Os kits Interkit HIV 1 e 2 e HIV 1/2/O Tri-line foram capazes de predizer corretamente 94,12% dos resultados não reagentes, já os kits Imunocrom HIV 1+2, HIV Test Bioeasy e Alere Determine HIV 1 e 2 foram os menos sensíveis a esta avaliação, tendo identificado apenas 88,23%, 82, 35% e 58,82% destes resultados, respectivamente.

Os kits Interkit HIV 1 e 2 (Interteck Katal), HIV 1/2/O Tri-line (ABON) e HIV Test Bioeasy (Bioeasy) se propuseram a distinguir as infecções de HIV-1 e HIV-2, de forma que os antígenos pesquisados encontram-se dispostos em locais diferentes na tira de reação. Para estes kits, foram observadas reatividade para ambos os vírus em 36%, 17% e 6% das amostras, respectivamente.

#### 5.4. Avaliação de desempenho com base na data de validade de um kit

Os resultados da eficácia do kit Alere Determine HIV 1 e 2 de lote 100722X, com data de validade expirada em 18/05/2011, estão apresentados nas Tabelas 19 e 20.

**Tabela 19 - Comparação de sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo entre kits Alere Determine HIV 1 e 2, de acordo com a data de validade (IC 95%)**

KIT	SENSIBILIDADE	ESPECIFICIDADE	VPP (%)	VPN (%)
	(%)	(%)		
<b>Válido</b>	99,10 (97,34 – 100,86)	70,74 (64,24 - 77,24)	66,67 (61,33 - 72,01)	99,25 (98,27 - 100,23)
<b>Vencido</b>	99,10 (97,34 – 100,86)	67,55 (60,86 - 74,24)	64,33 (58,90 - 69,76)	100 (-)

**Tabela 20 - Comparação das razões de verossimilhança e acurácia entre kits Alere Determine HIV 1 e 2, de acordo com a data de validade (IC 95%)**

<b>KIT</b>	<b>RV+</b> <b>(IC 95%)</b>	<b>RV-</b> <b>(IC 95%)</b>	<b>ACURÁCIA</b> <b>(IC 95%)</b>
<b>Válido</b>	1,80 (0,29 - 3,31)	0,01 (-0,10 - 0,12)	81,27 (76,85 - 85,69)
<b>Vencido</b>	1,62 (0,19 - 3,05)	0,00 (-)	79,26 (74,66 - 83,86)

Os resultados comparados entre o kit vencido e o kit da mesma empresa dentro do prazo de validade demonstraram que houve semelhança entre a acurácia dos testes, traduzindo em bom desempenho do kit, que se mostrou “estável”, mesmo após a expiração do seu prazo de validade.

Em relação às informações contidas nas instruções de uso, a do kit vencido foi revisada em outubro de 2009, enquanto a do kit dentro da validade foi revisada em outubro de 2015. A primeira foi apresentada em seis idiomas enquanto a segunda em quatro idiomas, mas a essência do conteúdo foi mantida e as referências bibliográficas foram substituídas e ampliadas de 8 para 13 referências.

## 6. DISCUSSÃO

No presente trabalho, todas as amostras testadas foram oriundas de pacientes com idade acima de dois anos. Estes foram excluídos, pois, de acordo com a Portaria 29 do Ministério da Saúde<sup>3,66</sup>, o diagnóstico de crianças menores de 18 meses só é possível através de testes moleculares realizados em dois momentos diferentes. Isso ocorre principalmente pelo fato de que anticorpos maternos anti-HIV do tipo IgG ultrapassam a barreira transplacentária, especialmente no terceiro trimestre de gestação, e atingem a corrente sanguínea fetal, onde podem persistir até os 18 meses de vida da criança, interferindo assim no diagnóstico sorológico preconizado<sup>66</sup>.

Todos os pacientes incluídos no presente estudo vieram do Instituto Hermes Pardini (IHP), devido ao vínculo de um pesquisador com essa instituição. Pelo fato do IHP ser laboratório de apoio, a amostragem selecionada foi oriunda de todo o território nacional. O cálculo amostral, que delimitou número mínimo de amostra em 227, também foi importante para garantir a representatividade da pesquisa.

Na busca ativa da soroteca do IHP, foram excluídas amostras sanguíneas com volume de soro inferior a 1000 µL. Embora o volume total necessário para realização dos oito TR seria 140 µL de soro, optou-se por maior volume visando as possíveis perdas e repetições. Tomou-se o cuidado de fracionar as amostras em alíquotas, contendo 100 µL cada, a fim de se evitar que as mesmas fossem congeladas e descongeladas várias vezes, mantendo a estabilidade das amostras, ou seja, a integridade de antígenos e anticorpos anti-HIV nas mesmas.

Existem inúmeros testes rápidos disponíveis no mercado mundial, entretanto são poucos os aprovados pelos órgãos competentes para utilização. Destes apenas doze marcas são aprovadas pela FDA, enquanto 41 marcas são aprovadas pela ANVISA. Infelizmente a literatura é carente de trabalhos que poderiam explicar essa discrepância. Uma possível explicação poderia estar relacionada ao maior rigor da agência americana na liberação dos dispositivos diagnósticos para uso na rotina assistencial do seu país.

Todas as empresas que comercializam os TR aprovados pelo MS foram convidadas a participar da presente pesquisa. Dos 41 TR registrados e aprovados pela ANVISA, oito (19,5%) foram avaliados no presente estudo. Na literatura, poucos são os trabalhos que compararam diferentes marcas de TR para HIV. Até então, o número máximo de dispositivos diferentes testados em um mesmo trabalho foi o de Ferreira *et al.*, em 2005, que avaliou sete marcas distintas de TR para HIV.

Entre os kits utilizados no presente estudo, o Alere Determine HIV 1 e 2 também esteve presente na maior parte dos trabalhos da literatura<sup>15,62,68,91, 95,100,101,102</sup>. Os kits HIV 1/2/O Tri-line e HIV Test Bioeasy foram gentilmente doados pela Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte. A importância desse fato foi a possibilidade de se poder testar os dispositivos que já estão sendo utilizados na rotina assistencial do município. Cabe aqui ressaltar o importante papel social das prefeituras, incentivadas pelo Ministério da Saúde, na distribuição gratuita de TR para diagnóstico de diferentes doenças infecciosas, dentre elas, o HIV, a todos os serviços de saúde pública.

Além de kits já consagrados na rotina assistencial, o presente trabalho também testou três kits recém liberados pela ANVISA, que foram os kits DPP Rapid Test HIV 1/2 e DS RAPID TEST HIV, ambos da empresa Labtest e o kit Interkit HIV 1 e 2 (Interteck Katal).

Pelo fato do TR possibilitar execução em um ambiente externo ao laboratório, mas por pessoal devidamente treinado, as informações existentes nas instruções de uso devem ser claras e objetivas. Embora a carência de estudos qualitativos que avaliam a presença e a clareza das informações apresentadas nas instruções de uso dos dispositivos de diagnóstico, o presente trabalho procurou analisar detalhadamente essa questão. Todas as empresas apresentarem nas instruções de uso de seus kits as informações mínimas necessárias para a sua execução. O kit que atendeu ao maior número de parâmetros avaliados foi o Interkit HIV 1 e 2 (Interteck Katal). Já as informações mais claras em relação aos dados analíticos foi o HIV 1/2/O TRI-LINE (ABON). Entretanto, muitos parâmetros que julgamos também importantes deixaram de ser informados, principalmente em relação à: composição da fase sólida, antígenos detectáveis, interferentes analíticos e reações cruzadas. Tais informações são úteis para possível explicação de resultados falso-positivos, principalmente, e também os falso-negativos. Outras informações sobre a reprodutibilidade, precisão e forma de descarte do material também deveriam estar presentes em todas as instruções de uso. Diante da heterogeneidade entre as informações contidas nas instruções de uso e a ausência informações clínicas e técnicas importantes, sugerimos que houvesse uma legislação ou maior vigilância dos órgãos liberadores para padronização das mesmas.

Outra informação extremamente importante que não estava presente em boa parte das instruções de uso dos kits avaliados é o período da janela imunológica. Tal informação é fundamental para o paciente, principalmente o leigo, que recebe um resultado negativo. Delaney *et al*<sup>69</sup> já alertaram que pessoas com uma recente exposição potencial e aquelas com alto risco para a infecção pelo HIV que obtiveram resultados não reagente de testes rápidos devem ser aconselhadas a repetir o teste posteriormente. O mesmo seria importante também para os resultados reagentes. Para

Ribeiro-Rodrigues *et al*<sup>95</sup>, resultados reativos em um único TR já seria suficiente para o aconselhamento e adoção de comportamentos de redução de risco, mesmo sem o diagnóstico definitivo.

O único kit utilizado no presente estudo, que informa ter como antígeno a proteína p24, foi o HIV Test Bioeasy, mas como o seu desempenho, de uma maneira geral, foi superado por outros como o Interkit HIV 1 e 2, que não informa quais os antígenos utilizados, não há como inferir a respeito da influência desta proteína ou de outro antígeno/epítipo sobre os kits testados.

Avaliando as características físicas dos TR, todos estavam em embalagem apropriada e com reagentes identificados. Além dos dispositivos de leitura e reagentes, algumas marcas acompanharam também outros materiais no kit, como dispositivos que auxiliam na coleta e aplicação das amostras, como lancetas (encontradas nos kits Interkit HIV 1 e 2, HIV Test Bioeasy e HIV 1/2/O Tri-line), lençinhos com álcool para higienização (HIV 1/2/O Tri-line) e alças coletoras (DPP Rapid Test HIV 1/ 2 e DS RAPID TEST HIV).

Quanto ao nível de dificuldade de execução dos testes, todos os TR avaliados foram simples, com poucas etapas. O kit DPP Rapid Test HIV 1/2 foi o que apresentou maior grau de complexidade, pois envolveu maior número etapas, tornando-o mais trabalhoso que os demais TR. Já o kit Alere Determine HIV 1 e 2 foi o que apresentou maior simplicidade de execução.

Em todos os testes realizados seguiu-se o tempo para leitura final recomendado por cada fabricante, que variou entre 10 a 30 minutos. Em vários casos, a leitura da reatividade das linhas de teste e controle já era possível na metade do tempo recomendado ou menos, como o DS Rapid Test HIV (Labtest) cujas bandas foram reativas antes de cinco minutos de execução do teste. Entretanto, o tempo de leitura final de cada teste foi baseado conforme descrição das instruções de uso.

A leitura de cada um dos testes foi feita inicialmente pelos três pesquisadores a fim de se padronizar os critérios visuais de leitura. Nessa etapa, também foi padronizada uma classificação semi-quantitativa dos resultados reagentes em “forte”, “fraco” e “muito fraco”, apenas no intuito de avaliar a qualidade de leitura dos resultados, pois é notório que os resultados dos TR são qualitativos e não quantitativos. Todos os resultados reagentes “fracos” e reagentes “muito fracos” foram considerados “reagentes”. Após consenso e padronização, todas as demais leituras foram conduzidas por único pesquisador, profissional de laboratório experiente em soro-imunologia.

Apenas em três casos houve dúvidas na leitura, cujos resultados foram discutidos entre todos os pesquisadores, que entraram em consenso.

Os kits Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog) e Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica) apresentaram muitos resultados como reagente “fraco” e “muito fraco”, dada a coloração discreta ou “tipo sombra” na banda do resultado. Esses casos, que inicialmente causaram incômodo aos pesquisadores, foram interpretados como reagentes, conforme o gabarito de escalas de cores que acompanhava os kits da Wama Diagnóstica. Nesse gabarito, que mostrava seis bandas com tonalidades crescentes, sendo as duas primeiras de visualização muito difícil (semelhante aos resultados do presente trabalho que foram classificados como reagente “muito fraco”), informava que qualquer tonalidade de banda deveria ser considerado reagente. Pelo fato do TR ser um resultado qualitativo, o padrão de leitura das bandas não pode gerar dúvidas. Considerar uma banda de difícil identificação, tipo “sombra” como reagente é, no mínimo questionável e, portanto, inapropriado para sua utilização na rotina assistencial. Mesmo apresentando sensibilidade maior que 90%, consideramos preocupante a utilização desses dois dispositivos de TR na prática clínico-laboratorial.

A semelhança do desempenho analítico, dos kits Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog) e Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica) é notória. A semelhança física também é notável. Acredita-se que, apesar de serem importados por empresas diferentes, provavelmente foram oriundos do mesmo fabricante.

Os kits que apresentaram melhor desempenho, com base na análise da sensibilidade, especificidade e acurácia foram o DS RAPID TEST HIV (Labtest) e o Interkit HIV 1 e 2 (Interteck Katal). Já os kits que apresentaram menor desempenho e eficácia foram Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog) e Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica).

Segundo Louie *et al*<sup>67</sup> e Motta *et al*<sup>94</sup>, as diferenças encontradas na sensibilidade e especificidade entre os kits, podem ser devido também a utilização de diferentes antígenos/epítomos ou ainda pelo tamanho da amostra e a população estudada<sup>67,94</sup>. Constantine *et al*.<sup>59</sup> relataram identificação bem sucedida de todos os HIV-1 grupo M em sete marcas de TR testadas. Por outro lado, Engelbrecht *et al*.<sup>60</sup> avaliando também sete marcas de TR para HIV, concluíram que elas não foram capazes de detectar anticorpos de pacientes infectados com o subtipo C ou D.

Para Delaney *et al.*<sup>69</sup>, os TR de HIV apresentam sensibilidade mais baixa do que alguns ensaios convencionais, principalmente durante a fase inicial da infecção. Resultados falso-negativos também foram observados em indivíduos com doença em estágio avançada e em alguns pacientes em tratamento com anti-retroviral (ART). De forma diferente, no presente estudo, todas as amostras submetidas a testagem dos kits de TR foram previamente avaliadas utilizando o padrão-ouro, um algoritmo de um teste de triagem (eletroquimioluminescência) e um resultado de teste complementar (WB). Portanto, tanto a sensibilidade quanto a especificidade puderam ser comparadas a este algoritmo<sup>69</sup>.

Segundo Portaria 29 do Ministério da Saúde<sup>3,66</sup>, para amostras com resultados reagentes, um diagnóstico mais preciso ocorre quando dois TR de marcas diferentes são realizados. No presente estudo, dos seis TR que apresentaram desempenho analítico adequado quando avaliados isoladamente, os kits que apresentaram melhor correlação pareada dos resultados foram Interkit HIV 1 e2 (Interteck Katal) e HIV Test Bioeasy (Bioeasy). Os kits que atualmente são utilizados pela Prefeitura Municipal de Belo Horizonte também tiveram uma boa correlação ( $\kappa = 0,85$ ), além de terem boa sensibilidade, especificidade e valores preditivos positivo e negativo, uma das maiores razões de verossimilhança positiva e baixa razão de verossimilhança negativa e boa acurácia. Entretanto, achamos prudente que novos trabalhos sejam replicados, principalmente em campo, para que esses resultados possam validar o fluxograma n.1 dessa portaria<sup>3,66</sup>.

Dos oito kits testados, três permitiam também o diagnóstico diferencial entre HIV-1 e HIV-2, apresentando os diferentes antígenos pesquisados dispostos em locais diferentes na tira de reação. O kit Interkit HIV 1 e 2 (Interteck Katal), apresentou reatividade para HIV-1 e HIV-2 em 37%. Já os kits HIV 1/2/O Tri-line (ABON) e HIV Test Bioeasy (Bioeasy) apresentaram reatividade dupla em 17% e 6% das amostras, respectivamente. Comparando os resultados dos TR com o resultado do teste WB destas amostras, apenas uma não apresentou reatividade contra a proteína gp41 do HIV-1, análoga a gp36 do HIV-2, proteínas essas de grande importância no diagnóstico do HIV. Todas as 100 amostras sanguíneas humanas reagentes no presente trabalho são sabidamente reagentes para HIV, conforme os testes confirmatórios empregados. Pela raridade de casos de soropositividade para o HIV-2<sup>12</sup> em nossa população, acredita-se que tais achados nos TR sejam sugestivos de reação cruzada entre os antígenos/epítomos utilizados na fabricação dos kits.

Segundo Machado *et al.*<sup>61</sup>, a utilização de um TR em uma área geográfica específica deve ser validado para assegurar que o teste seja adequadamente sensível aos tipos de HIV circulantes, pois

o valor preditivo positivo e o valor preditivo negativo podem ser afetados pela distribuição relativa dos vários subtipos virais em uma determinada região.

De acordo com Klarkowski *et al.*<sup>62</sup>, a especificidade do teste pode variar conforme a localização (dentro e entre os países), ao longo do tempo, e estas variações não são características de um único teste. As possíveis explicações para tal variabilidade são, principalmente, as mudanças no desempenho do teste (sensibilidade ou especificidade) ou a qualidade do teste. Alterações na sensibilidade, seja devido às variações na capacidade do teste para detectar soroconversão precoce, ou devido à diversidade genética viral do HIV, são outras causas potenciais para discordância.

Quanto às amostras indeterminadas, que inicialmente foram selecionadas 99, apenas 28 se tornaram significativas no presente estudo, pois os pacientes retornaram à rede assistencial a fim de concluir o diagnóstico. Foi realizada uma busca de resultados posteriores de todos os 99 pacientes, através da consulta por nome e idade dos mesmos, como para os demais 71 pacientes não foram encontrados registros posteriores à data da coleta da amostra selecionada, os resultados destas amostras não estão descritos de forma detalhada no presente estudo. Nessas amostras indeterminadas, o kit que foi capaz de prever maior número de resultados foi o Interkit HIV 1 e 2 (92,9% dos resultados). E o kit que teve menor concordância com os resultados encontrados posteriormente no padrão-ouro foi o Imuno-rápido HIV 1&2 (64,3% dos resultados).

Não foram encontrados trabalhos na literatura que avaliaram o custo dos testes rápidos no mercado nacional. O preço médio dos testes avaliados no presente estudo variou de R\$3,20 a 7,00/teste, valor acessível em relação aos demais testes sorológicos, tendo como principal vantagem a possibilidade de uso em locais que independem da complexidade do ambiente laboratorial. O kit Alere Determine HIV 1 e 2 foi o que apresentou menor custo, provavelmente porque se tratar de um produto de tradição internacional e bastante utilizado no mercado. Por outro lado, o kit Interkit HIV 1 e 2 apresentou o maior custo, provavelmente por ser um produto recém apresentado ao mercado, fabricado por empresa nacional. Os kits DPP Rapid Test HIV 1/ 2 e DS Rapid Test HIV não participaram desta análise por ainda não estarem disponíveis para comercialização.

A legislação brasileira, seguindo as recomendações internacionais, proíbe a utilização de reagentes e produtos relacionados à saúde após vencimento da data de validade. Por outro lado, os desempenhos analíticos observados em produtos vencidos, utilizados habitualmente para fins didáticos, demonstram que muitos apresentam desempenho e estabilidade adequados. Foi com esse intuito que se buscou avaliar o desempenho analítico de um TR após expiração da data de

validade. Utilizou-se no presente estudo o kit Alere Determine HIV-1/2, expirado há cinco anos, devido à sua disponibilidade e quantidade, pois havia sido doado há alguns anos pela empresa Alere para as aulas práticas do Departamento de Propeleutica Complementar da Faculdade de Medicina da UFMG. Os resultados observados nesse kit foram superiores aos de outras marcas de TR testadas no presente trabalho, ainda que dentro do prazo de validade. Mesmo tendo avaliado um único kit, seria plausível pressupor também a preservação do desempenho analítico das demais marcas de TR após data de vencimento. Portanto, sem querer entrar no mérito financeiro ou até mesmo que de segurança ao paciente, fica a sugestão para as empresas em reavaliar a estabilidade de seus produtos, para quem sabe, prorrogar seus prazos de validade.

Se levarmos em consideração os critérios do MS<sup>3,47</sup> para uso diagnóstico dos TR (sensibilidade igual ou superior a 99,5% e especificidade igual ou superior a 99,0%), nenhum dos kits avaliados no presente estudo obteve sensibilidade e especificidade suficientes, mesmo diante de excelentes resultados analíticos. Lamentavelmente, o Manual é falho na descrição dos estudos utilizados para a padronização destes valores<sup>51</sup>. Do mesmo modo, nem todas as instruções de uso de TR relatam informações sobre quais testes de referência foram utilizados para calcular sensibilidade e especificidade de seus kits, nem mesmo a descrição da população em que o TR foi testado.

Diante de tudo isso acredita-se que o fluxograma 1 da Portaria 29 do MS<sup>3,66</sup>, ainda não deve ser utilizado para diagnóstico da infecção pelo HIV sem que haja um teste confirmatório, como a carga viral ou até mesmo WB e IB, independentemente se utilizados em combinações, conforme propõe a portaria. Verificou-se que os testes rápidos foram muito sensíveis, o que já era esperado para um teste de triagem, mas eles foram pouco específicos, quando comparados aos testes confirmatórios disponíveis. Isso porque, embora o número de 228 amostras utilizadas foi compatível com o cálculo amostral, se projetarmos o percentual de resultados falso-positivos e falso-negativos encontrados nos kits avaliados para a população geral, haveria centenas ou milhares de pacientes com resultados incorretos, sem o tratamento adequado e transmitindo a infecção para outros milhares. Logo, novos estudos são necessários para avaliar não apenas outras marcas de TR, mas também com volume populacional distintos para que se possa comprovar possível segurança diagnóstica da infecção pelo HIV apenas com TR, sem exames confirmatórios.

Ferreira Junior *et al*<sup>91</sup>, em 2005, avaliaram sete diferentes TR comercialmente disponíveis no Brasil e verificaram que destes, apenas quatro foram considerados aceitáveis para diagnóstico. No presente estudo, dos oito kits avaliados, consideraram-se aceitáveis seis dispositivos.

Finalmente, como há diferenças de desempenho entre os TR já disponíveis e validados pela ANVISA é importante que os médicos saibam que tais discrepâncias são passíveis de ocorrer e que os resultados conflitantes com a clínica devem ser interpretados com cautela. Nos casos de dúvida, recomenda-se sempre a realização dos testes convencionais de imunoensaio e confirmatório. Além disso, vale ressaltar que todo ensaio, seja ele rápido ou convencional, necessita de validação interna, conforme descrevem as boas práticas de laboratório clínico.

O presente estudo apresentou algumas limitações, sendo duas dignas de nota:

- outros TR de fabricantes importantes no território nacional deixaram de ser avaliados. Não obtivemos resposta de vários fabricantes, mesmo após constantes tentativas de contato;
- número reduzido de amostras indeterminadas avaliadas. Tivemos dificuldades na obtenção de amostras indeterminadas com desfecho sorológico conhecido.

Dando continuidade a essa linha de pesquisa, propõem-se os seguintes estudos futuros:

- avaliar o desempenho analítico e possíveis reações cruzadas na presença de outros agentes infecciosos (como HTLV, vírus da Hepatite, entre outros);
- pesquisar o desempenho analítico dos TRs em gestantes e em imunossuprimidos;
- comparar diferenças de desempenho dos TRs conforme a natureza da amostra: soro, plasma, sangue total e fluido oral.

## 7. CONCLUSÕES

- Houve diferenças de sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo, razões de verossimilhança positiva e negativa e acurácia entre os oitos testes rápidos avaliados, sendo que seis apresentaram desempenho analítico adequados.

- O padrão de leitura dos kits Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog) e Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica) foi inadequado, pela baixa qualidade do padrão de leitura dos resultados. Portanto, a utilização desses kits na rotina assistencial deveria ser avaliada com cautela. Já os demais kits apresentaram qualidade adequada, sem prejuízos no padrão de leitura de seus resultados.

- A maioria das instruções de uso apresentaram informações de fácil compreensão relacionadas principalmente aos procedimentos de execução do teste. Por outro lado, boa parte delas deixou de apresentar importantes questões sobre a composição da fase sólida, antígenos detectáveis, interferentes analíticos, reações cruzadas, reprodutibilidade, precisão e forma de descarte do material.

- Em relação ao preço dos testes rápidos, o valor médio dos kits mostrou-se acessível, comparado aos demais imunoenaios automatizados, levando-se em consideração a relação custo/benefício.

- Na avaliação pareada dos TR, os kits que apresentaram melhor concordância entre os resultados foram: Interkit HIV 1 e 2 e HIV Test Bioeasy; Alere Determine HIV 1 e 2 e Interkit HIV 1 e 2 e HIV 1/2/O Tri-line e Interkit HIV 1 e 2.

- A estabilidade do desempenho analítico do kit Alere Determine HIV-1/2 cinco anos após expiração da validade foi satisfatória. Sugere-se à empresa avaliar possível revisão do prazo de validade deste produto, sem prejuízo ao seu desempenho analítico.

Concluindo, as diferenças no desempenho analítico dos oito diferentes TR pesquisados para detecção da infecção pelo HIV reforçam a ideia de que eles possam ser utilizados ainda apenas como testes de triagem, sendo necessária a realização de testes confirmatórios para um diagnóstico definitivo. Quanto à qualidade das instruções de uso, observou-se adequação da parte operacional, mas há necessidade de padronização de informações do ponto de vista técnico-científico.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Correia CMBO. **Caracterização genético vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 (HIV-1), na zona de influencia do Hospital Geral de Santo Antonio, S.A.** Tese de mestrado. Universidade do Minho, Dep. Biologia. Braga, Portugal. 2005.
2. Silva, RM. **Algoritmo genético e kernel discriminante de fisher aplicado a identificação de mutações de resistência do hiv-1 aos inibidores antiretrovirais da protease.** Tese de Doutorado da Universidade Federal do Rio de Janeiro, jan, 2009.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. HIV/Aids, hepatites e outras DST. **Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV.** Brasília: Ministério da Saúde, 2013.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Histórias da luta contra a AIDS.** Brasília : Ministério da Saúde, 2015.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. HIV/Aids, hepatites e outras DST. Regulamentação de testes. **Portaria 488.** Brasília: Ministério da Saúde, 1998.
6. Ferreira Jr, OC; Motta, LR. **Três Décadas de Diagnóstico de HIV: A Experiência Brasileira.** Diretora do CRT de São Paulo. São Paulo, 2016.
7. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação Nacional de DST e Aids. **Recomendações para a profilaxia da transmissão materno-infantil do HIV e terapia anti-retroviral.** Brasília: 29. Ministério da Saúde, 2001.
8. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. HIV/Aids, hepatites e outras DST. Regulamentação de testes. **Portaria 59.** Brasília: Ministério da Saúde, 2003.

9. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. HIV/Aids, hepatites e outras DST. Regulamentação de testes. **Portaria 34**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.
10. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. HIV/Aids, hepatites e outras DST. **Portaria 151**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.
11. Fiebig EW, Wright DJ, Rawal DB, Garrett PE, Schumacher RT, Peddada L, Heldebrant C, Smith R, Conrad A, Kleinman SH, Busch MP. **Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection**. AIDS 2003, 17:1871–1879.
12. Kummar V, Abbas AK, Fauto N, Robbins SL, Contran RS. **Patologia: Bases patológicas das doenças**. Rio de Janeiro: Elsevier, 7ª edição. 2005. p.257-72.
13. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, **Imunologia celular e molecular**. Rio de Janeiro: Elsevier, 6ª edição. 2008. p.476-87.
14. Figura Estrutura do HIV. Disponível em: [http://telelab.aids.gov.br/moodle/pluginfile.php/22163/mod\\_resource/content/1/HIV%20-%20Manual%20Aula%201.pdf](http://telelab.aids.gov.br/moodle/pluginfile.php/22163/mod_resource/content/1/HIV%20-%20Manual%20Aula%201.pdf) . Acesso: 18/08/2016.
15. Menacho I, Sequeira E, Muns M, Barba O, Leal L, Clusa T, Fernandez E, Moreno L, Raben D, Lundgren J, Gatell JM, Garcia F, Cayuelas L, Aragunde V, Vergara M, Catalan M, Moreno MA, Hormigo G, Siso A, Herreras Z, Sebastian L, Benito L, Picas A, Hoyo J, Giner MJ, Cararach D, Moles E, Moro ML, Arrabal P, Roca D, Prego S, Ferrer X, Egado A, Ventosa C, Garcia S, Muñoz S, Massana A, Sole J, Curiel M, Heras F, Leon A. **Comparison of two HIV testing strategies in primary care centres: indicator-condition-guided testing vs. testing of those with non-indicator conditions**. British HIV Association Medicine. 2013. 14 (Suppl. 3), 33–37.

16. Ayinde D, Maudet C, Transy C, Margottin-Goguet F. **Limelight on two HIV/SIV accessory proteins in macrophage infection: Is Vpx overshadowing Vpr?** *Retrovirology* 2010, 7:35
17. Brito AM, Castilho EA, Szwarcwald CL. **AIDS e infecção pelo HIV no Brasil: uma epidemia multifacetada.** *Rev Soc Bras Med Trop* 34(2): 207-217, mar-abr, 2000.
18. Sousa CIC. **Diversidade genética e resistência natural ao Maraviroc em estirpes do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (hiv-1) em circulação em utilizadores de drogas por via endovenosa na grande Lisboa.** Unidade de Microbiologia Médica - Grupo de Virologia, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa. Lisboa, Portugal. Setembro 2012
19. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. HIV/Aids, hepatites e outras DST. **Boletim Epidemiológico AIDS.** Brasília. Ministério da Saúde, Ano XVII, n.1.2003.
20. Hahn BH, Shaw GM, De Cock KM, Sharp PM. **AIDS as a Zoonosis: Scientific and Public Health Implications.** *Science.* 2000. 287: 607-614.
21. Pinto ME, Struchiner CJ. **A diversidade do HIV-1: uma ferramenta para o estudo da pandemia.** *Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro,* 22(3):473-484, mar, 2006
22. Gürtler L, Hauser PH, Eberle J, von Brunn A, Knapp S, Zekeng L, et al. **A new subtype of human immunodeficiency virus type 1 (MVP-5180) from Cameroon.** *J Virol* 1994; 68:1581-5.
23. Simon F, Maucière P, Roques P, Loussert-Ajaka I, Müller-Trutwin MC, Saragosti S, et al. **Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O.** *Nat Med* 1998; 4:1032-7.
24. Vallari A, Holzmayer V, Harris B, Yamaguchi J, Ngansop C, Makamche F, Mbanya D, Kaptue L, Ndambi N, Gürtler L, Devare S, Brennan CA. **Confirmation of Putative HIV-1 Group P in Cameroon.** *J Virol.* 2011, p. 1403–1407

25. Osmanov S, Pattou C, Walter N, Schwartänder B, Esparza J; **WHO-UNAIDS Network for HIV Isolation and Characterization. Estimated global distribution and regional spread of HIV-1 genetic subtypes in the year 2000.** J Acquir Immune Defic Syndr 2002; 29:184-90.
26. Grotto RMT, Pardini MIMC. **Biologia molecular do HIV-1 e genética da resistência humana à AIDS.** Arq Ciênc Saúde 2006;13(3): 1-5.
27. Hu WS, Temin HM. **Retroviral recombination and reverse transcription.** Science 1990; 250:1227-33.
28. Janini LM, Tanuri A, Schechter M, Peralta JM, Vicente ACP, Torre ND, et al. **Horizontal and vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1 dual infections caused by viruses of subtypes B and C.** J Infect Dis 1998; 177:227-31.
29. Overbaugh J, Bangham CRM. **Selection forces and constrains on retroviral sequence variation.** Science 2001; 292:1106-9.
30. Quiñones-Mateu ME, Arts EJ. **Fitness: implications for drug resistance, disease progression, and global epidemic evolution.** In: Kuiken CL, Foley B, Hahn B, Korber B, Marx PA, McCutchan F, et al. editors. HIV sequence compendium. Los Alamos: Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory; 2001. p. 134-70.
31. Brasileiro Filho G. **Bogliolo, Patologia Geral.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 5ª edição. 2013. p.318-322.
32. Junqueira DM. **Disseminação do HIV-1 subtipo B nas Américas.** Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brasil. 2011.
33. Rambaut A, Posada D, Crandall KA *et al.* **The causes and consequences of HIV evolution.** Nature Reviews Genetics 5, 52-61. 2004 citado por Junqueira DM. **Disseminação do HIV-1 subtipo B nas Américas.** Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular,

Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brasil. 2011.

34. Kalil RS, Bauer PG, Santoro GMR, Espíndola-Pereira IA, Ferry FRA, Motta RN, Lopes JRRA, Sá CAM. **Infecção HIV no Cérebro: as Bases Biológicas da Neuropsicologia**. DST – J Bras Doenças Sex Transm 2005.17(1): 71-75.
35. Ikarimoto BM, Gonçalves M. **Transtornos Psiquiátricos em Pacientes Portadores do HIV e AIDS**. International Journal of Psychiatry. 2014.19(5). Disponível em: <http://www.polbr.med.br/ano14/prat0514.php>. Acesso em : 24/08/2016.
36. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. HIV/Aids, hepatites e outras DST. **Avaliação neuropsiquiátrica**. Brasília. 2014. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pcdt/4>. Acesso em: 24/08/2016.
37. Ferreira AW, Moares SL. **Diagnóstico Laboratorial das principais doenças infecciosas e autoimunes: correlações clínico-laboratoriais**. Guanabara-Koogan. 3ª edição. Rio de Janeiro, 2013. p.97-112.
38. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. HIV/Aids, hepatites e outras DST. **Boletim Epidemiológico AIDS**. Brasília. Ministério da Saúde, Ano IV, n.1.2015.
39. UNAIDS. **Aids by the Numbers**. Joint United Nations. Programme on HIV/AIDS.2016
40. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. HIV/Aids, hepatites e outras DST. **HIV - Estratégias para diagnóstico no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.
41. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. **TIEZ Fundamentos de Química Clínica**. Elsevier, 6ª edição. 2008. p.81-82, 170-172, 193-204.

42. Kakehasi JM, Romeiro JR, Silva, ML Elói-Santos, SM. **Investigação laboratorial do paciente com infecção pelo HIV**. In: Erichsen ES, Viana RMD, Santos SME, Medicina Laboratorial para o clínico. Coopmed Editora Médica. 1ª edição. 2009, 559-575.
43. Posthuma-Trumpie GA, Van Amerongen A. **Lateral Flow Assays**. *Antib App. N Develop.* 2012. 175-183
44. Yolken RH, Stopa PJ. **Enzyme-Linked Fluorescence Assay**: Ultrasensitive Solid Phase Assay for Detection of Human Rotavirus. *Journal of Clinical Microbiology*, Sept. 1979, p. 317-321 Vol. 10, No. 3
45. Shekarchi IC, Sever JL, Nerurkar L, Fuccillo D. **Comparison of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with EnzymeLinked Fluorescence Assay with Automated Readers for Detection of Rubella Virus Antibody and Herpes Simplex Virus**. *Journal of Clinical Microbiology*, Jan. 1985, p. 92-96. Vol. 21, No. 1
46. Vetter BN, Orłowski V, Fransen K, Niederhauser C, Aubert V, Brandenberger M, Ciardo D, Dollenmaier G, Klimkait T, Regenass S, Schmid P, Schottstedt V, Suter-Riniker F, Yerly S, Shah C, Böni J, Schüpbach J. **Generation of a Recombinant Gag Virus-Like-Particle Panel for the Evaluation of p24 Antigen Detection by Diagnostic HIV Tests**. *PLoS One*. 2014; 24;9:e111552.
47. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. HIV/Aids, hepatites e outras DST. **Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV**. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.
48. Ngom B, Guo Y, Wang X, Bi D. **Development and application of lateral flow test strip technology for detection of infectious agents and chemical contaminants: a review**. *Anal. Bio. Ch.*2010, 397: 1113-1135
49. Andriolo A, *et al.* **Diretriz para a gestão e garantia da qualidade de Testes Laboratoriais Remotos (TLR) da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial**

- (SBPC/ML). 2ª edição. Barueri, SP: Minha Editora, 2016. p.25-32, 329-332, 343-350, 517-530.
50. U.S. Food and Drug Administration. Complete List of Donor Screening Assays for Infectious Agents and HIV Diagnostic Assays. Disponível em: [http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/BloodBloodProducts/ApprovedProducts/LicensedProductsBLAs/BloodDonorScreening/InfectiousDisease/ucm080466.htm#anti\\_HIV\\_CollectionTestingHomeUseKits](http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/BloodBloodProducts/ApprovedProducts/LicensedProductsBLAs/BloodDonorScreening/InfectiousDisease/ucm080466.htm#anti_HIV_CollectionTestingHomeUseKits). Acesso em: 04/09/2016
51. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. HIV/Aids, hepatites e outras DST. **Testagem para HIV**. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pagina/testagem-para-hiv>. Acesso em: 04/09/2016.
52. AACC. **Chembio's Dual Path Platform (DPP®) Enables Multiplex Biomarker Detection**. 2015. Disponível em: <https://www.aacc.org/publications/cln/articles/2015/july/tech-talk.aspx>. Acesso em: 04/09/2016.
53. Seibert LA. **Dual Path Platform Technology: A Basis for Next-Generation Rapid Diagnostic Testing**. 2010. Disponível em : <https://www.mdtmag.com/article/2010/09/dual-path-platform-technology-basis-next-generation-rapid-diagnostic-testing>. Acesso em 04/09/2016.
54. Cobra D, Costa ADT. **Tecnologia para diagnóstico no ponto de atendimento**. 2016. Disponível em: <http://www.polyteck.com.br/posts/tecnologia-para-diagnostico-no-ponto-de-atendimento/>. Acesso em: 04/09/2016.
55. Brasil. Ministério da Saúde. Telelab. **Aula 8 - Teste rápido para investigação da infecção pelo HIV por meio do kit TR DPP® HIV 1/2 Bio-Manguinhos com amostra de fluido oral (FO)**. 2016. Disponível em: [http://telelab.aids.gov.br/moodle/pluginfile.php/22170/mod\\_resource/content/1/HIV%20-%20Manual%20Aula%208.pdf](http://telelab.aids.gov.br/moodle/pluginfile.php/22170/mod_resource/content/1/HIV%20-%20Manual%20Aula%208.pdf). Acesso em: 04/09/2016.

56. Brasil. Ministério da Saúde. Telelab. **Aula 6 – Testes rápidos**. 2016. Disponível em:  
[http://telelab.aids.gov.br/moodle/pluginfile.php/22168/mod\\_resource/content/1/HIV%20-%20Manual%20Aula%206.pdf](http://telelab.aids.gov.br/moodle/pluginfile.php/22168/mod_resource/content/1/HIV%20-%20Manual%20Aula%206.pdf). Acesso em : 04/09/2016.
57. MedMira Laboratories Inc. Disponível em: <http://medmira.com/products>. Acesso em: 04/09/2016.
58. Arroyo AG, Paro D, Malerba FL. **Teste sorológico Rápido para Vírus da Hepatite C**. Disponível em: <http://www.ibene.net/578/35101.html>. Acesso em: 04/09/2016.
59. Constantine NT, Zekeng L, Sangare AK, Gurtler L, Saville R, Anhary H, Wild C. **Diagnostic challenges for rapid human immunodeficiency virus assays: performance using HIV-1 group O, HIV-1 group M, and HIV-2 samples**. J. Human Virol., 1997. 1: 45-51.
60. Engelbrecht S, De Jager GJ, Van Rensburg J. **Evaluation of commercially available assays for antibodies to HIV-1 in serum obtained from South African patients infected with HIV-1 subtypes B, C and D**. J. Med. Virol., 1994; 44: 223- 228.
61. Machado AA, Martinez R, Haikal AA, Silva, MCVR. **Advantages of the rapid HIV-1 test in occupational accidents with potentially contaminated material among health workers**. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo, 2001; 43:199-201.
62. Klarkowski D, Glass K, O'Brien D, Lokuge K, Piriou E, Shanks L. **Variation in Specificity of HIV Rapid Diagnostic Tests over Place and Time: An Analysis of Discordancy Data Using a Bayesian Approach**. PLoS ONE 2013 8(11): e81656..
63. Agustí C, Mascort J, Carrillo R, Aguado C, Montoliu A, Puigdangolas X, De la Poza M, Rifà B, Casabona J. **Attitudes to rapid HIV testing among Spanish General Practitioners**. British HIV Association. 2013. 14(3): 53-56.
64. Melvin AJ, Alarcon J, Velásquez C, Rodriguez C, Piscocoya J, Giraldo A, Dinh P and Frenkel LM. **Rapid HIV type 1 testing of women presenting in late pregnancy with unknown HIV status in Lima, Peru**. AIDS Res Hum Retroviruses 2004. 20:1046- 52.

65. Wade NA, Birkhead GS, Warren BL, Charbonneau TT, French T, Wang L, Baum JB, Tesoriero JM, and Savicki R. **Abbreviated regimens of zidovudine prophylaxis and perinatal transmission of the human immunodeficiency virus.** *Lancet* 1998. 339:1409-1414.
66. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. HIV/Aids, hepatites e outras DST. **Portaria 29.** Brasília: Ministério da Saúde, 2013.
67. Louie B, Wong E, Klausner JD, Liska S, Hecht F, Dowling T, Obeso M, Phillips SS, Pandori MW. **Assessment of Rapid Tests for Detection of Human Immunodeficiency Virus-Specific Antibodies in Recently Infected Individuals.** *Journal of Clinical Microbiology*, 2008. p. 1494–1497.
68. Masciotra S, Luo W, Youngpairoj AS, Kennedy MS, Wells S, Ambrose K, Sprinkle P, Owen SM. **Performance of the Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo Rapid Test with specimens from HIV-1 seroconverters from the US and HIV-2 infected individuals from Ivory Coast.** *Journal of Clinical Virology* 58S (2013) e54–e58.
69. Delaney KP, Branson BM, Uniyal A, Phillips S, Candal D, Owen SM, Kerndt PR. **Evaluation of the Performance Characteristics of 6 Rapid HIV Antibody Tests.** *Clinical Infectious Diseases*. 2011.52(2):257–263
70. Wesolowski LG, Delaney KP, Hart C, Dawsona C, Owena SM, Candal D, Meyer III WA, Ethridgea SF, Bransona BM. **Performance of an alternative laboratory-based algorithm for diagnosis of HIV infection utilizing a third generation immunoassay, a rapid HIV-1/HIV-2 differentiation test and a DNA or RNA-based nucleic acid amplification test in persons with established HIV-1 infection and blood donors.** *Journal of Clinical Virology*. 52S. 2011. S45-S49.
71. HIV 1/2/O Tri-line [Instrução de uso]. Abon Biopharm (Hangzhou) Co., Ltd. – Hangzhou, 2015. Referência: 1156104301

72. HIV Test Bioeasy [Instruções de uso]. Standard Diagnostic Inc – Yongin-Si. 2014. Referência: 03FK10-04-En-0
73. Alere Determine HIV 1 e 2 [Instruções de uso]. Alere Medical Co., Ltd. – Chiba, 2015. Referência:7D2342, 7D2343
74. DPP Rapid Test HIV 1/ 2 [Instruções de uso]. Labtest Diagnóstica S.A. – Lagoa Santa, 2015. Referência: 708
75. DS Rapid Test HIV [Instruções de uso]. Labtest Diagnóstica S.A. – Lagoa Santa, 2015. Referência: 711
76. Imunocrom HIV 1+2 [Instruções de uso]. MBiolog Diagnósticos – Contagem, 2014. Referência: PA012TR
77. Imuno-rápido HIV 1&2 [Instruções de uso]. Wama Diagnóstica – São Carlos, 2008. Referência: 622040-R
78. Interkit HIV 1 e 2 [Instruções de uso]. Katal Biotecnológica Ind. Com. Ltda. – Belo Horizonte, 2016 Referência: 80IM
79. IBM Corp. Released 2010. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0. Armonk, NY: IBM Corp.
80. CDC. **Kaposi's sarcoma and Pneumocystis Pneumonia Among Homosexual Men – New York City and California.** MMWR. 1981. 30: 305-308.
81. CDC. **Pneumocystis Pneumonia – Los Angeles.** MMWR. 1981. 30: 250-252.
82. CDC. **Possible transfusion-associated acquired immune deficiency syndrome (AIDS) – California.** MMWR. 1982.31: 652-654.
83. CDC. **Epidemiologic Notes and Reports Persistent, Generalized Lymphadenopathy among Homosexual Males.** MMWR. 1982. 31: 249-251.
84. CDC. **Opportunistic Infections and Kaposi's Sarcoma, among Haitians in the United States.** MMWR. 1982. 31: 353-354.

85. CDC. **Unexplained Immunodeficiency and Opportunistic Infections in Infants – New York, New Jersey, California.** 1982.31: 665-667.
86. Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, Dauguet C, Axler-Blin C, Vézinet-Brun F, Rouzioux C, Rozenbaum W, Montagnier L.. **Isolation of a T-Lymphotropic Retrovirus from a Patient at Risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS).** Science. 1983.220: 868-871.
87. Gonçalves AP, De Sa CA, Rubini N. **HIV/AIDS infection. The Brazilian view. AIDS in Brazil.** An R Acad Nac Med (Madr). 1996.:145-56
88. Viegas C. **A SIDA.** 2007. Disponível em: [http://www.notapositiva.com/trab\\_estudantes/trab\\_estudantes/biologia/biologia\\_trabalhos/sida.htm](http://www.notapositiva.com/trab_estudantes/trab_estudantes/biologia/biologia_trabalhos/sida.htm). Acesso em:23 de outubro de 2016.
89. Obenauer-Kutner LJ, Jacobs SJ, Kolz K, Tobias LM, Bordens RW. **A highly sensitive electrochemiluminescence immunoassay for interferon alfa-2b in human serum.** Journal of Immunological Methods. 1997.206(1–2): 25–33.
90. McMichael A, Borrow P, Tomaras GD, Goonetilleke N, Haynes BF. **The immune response during acute HIV-1 infection: clues for vaccine development.** Nat Rev Immunol. 2010.10(1): 11–23.
91. Ferreira Junior OC, Ferreira C, Riedel M, Widolin MRV, Barbosa Júnior A. **Avaliação de testes rápidos para detecção anti-HIV no Brasil.** AIDS 2005, 19 (suppl 4):S70–S75.
92. Girardi SB, Barreto AMEC, Barreto CC, Proietti AB, Carvalho SMF, Loureiro P, Sabino EC. **Evaluation of rapid tests for human immunodeficiency virus as a tool to detect recent seroconversion.** Braz J Infect Dis. 2012;16(5):452–456.
93. Arora DR, Maheshwari M, Arora B. **Rapid Point-of-Care Testing for Detection of HIV and Clinical Monitoring.** Hindawi Publishing Corporation. ISRN AIDS. 2013,1-5. Article ID 287269.

94. Motta LR, Vanni AC, Kato SK, Borges LGA, Sperhackle RD, Ribeiro RMM, Inocência LA, The HIV Rapid Test Evaluation Group. **Evaluation of five simple rapid HIV assays for potential use in the Brazilian national HIV testing algorithm.** Journal of Virological Methods. 2013. 194.132– 137.
95. Ribeiro-Rodrigues R, Pinto Neto LFS, Cunha CB, Cabral VP, Dietze R. **Performance Characteristics of a Rapid New Immunochromatographic Test for Detection of Antibodies to Human Immunodeficiency Virus.** Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2003, 303–307.
96. Landis JR, Koch GG. **The measurement of observer agreement for categorical data.** Biometrics 1977; 33: 159-174.
97. Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson J. **Harrison's: Principles of Internal Medicine.** Amgh Editora. 19ª Ed. 2016.
98. Erichsen ES, Viana LG, Faria RMD, Santos SME. **Medicina Laboratorial para o Clínico.** Coopmed. 2009.559-575.
99. Neves SPF, Bastos A, Barros MT, Lino V. **Avaliação de um Imunoensaio Cromatográfico Rápido na Detecção de Anticorpos contra o Vírus da Imunodeficiência Humana** Rev Med Minas Gerais 2003; 13(3):160-3.
100. Loukou YG, Cabran MA, Yessé ZN, Adouko BMO, Lathro SJ, Agbessi-Kouassi KBT. **Performance of Rapid Tests and Algorithms for HIV Screening in Abidjan, Ivory Coast.** Journal of the International Association of Providers of AIDS Care 2014, Vol 13(1) 35-39.
101. Arai H, Petchclai B, Khupulsup K, Kurimura T, Takeda K. **Evaluation of a Rapid Immunochromatographic Test for Detection of Antibodies to Human Immunodeficiency Virus.** Journal of Clinical Microbiology. 1999, p. 367–370.

102. Melo J, Nilsson C, Mondlane J, Osman N, Biberfeld G, Folgosa E, Andersson S. **Comparison of the Performance of Rapid HIV Tests Using Samples Collected for Surveillance in Mozambique.** *Journal of Medical Virology*. 2009. 81:1991–1998.

## ANEXOS

### Anexo 1 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE – 47246115.6.0000.5149

Interessado(a): **Prof. Leonardo de Souza Vasconcellos**  
**Departamento de Propedêutica Complementar**  
**Faculdade de Medicina- UFMG**

#### DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 05 de agosto de 2015, o projeto de pesquisa intitulado "**Avaliação da eficácia dos testes rápidos para o diagnóstico da infecção pelo vírus do HIV em humanos**"

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto através da Plataforma Brasil.

Prof. Dra. Telma Campos Medeiros Lorentz  
Coordenadora do COEP-UFMG

## Anexo 2 – Aprovação da Gerência de Ensino e Pesquisa do HC-UFMG



*Universidade Federal de Minas Gerais  
Hospital das Clínicas  
Gerência de Ensino e Pesquisa*

### **DECLARAÇÃO**

Declaramos para fins de comprovação no Comitê de Ética e pesquisa em seres humanos – COEP/UFMG que o projeto de pesquisa intitulado, “**Avaliação da eficácia dos testes rápidos para o diagnóstico da infecção pelo vírus do HIV em humanos**”, de responsabilidade do Prof. Leonardo de Souza Vasconcellos, foi recebido na Gerência de Ensino e Pesquisa/HC-UFMG, para registro e avaliação.

Belo Horizonte, 01 de julho de 2015.

*Elisa Maria Teixeira Silveira*  
Elisa Maria Teixeira Silveira

Secretaria Gerência de Ensino e Pesquisa  
HC/UFMG

### **Anexo 3 – Instruções de uso dos testes rápidos avaliados**

## INSTRUÇÕES DE USO (Versão Jul/16)

### HIV 1 e 2

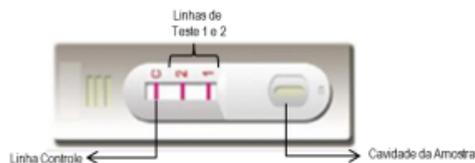
#### Método Imunocromatografia

##### FINALIDADE

O kit HIV 1 e 2 é um teste rápido imunocromatográfico de fluxo lateral para detecção e diferenciação simultânea de anticorpos anti-HIV-1 e anti-HIV-2 em soro, plasma ou sangue total humano. Seu uso destina-se como um teste de triagem e como um auxílio no diagnóstico de infecção por HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana). Qualquer amostra reativa com o kit de HIV 1 e 2 deve ser confirmada com método alternativo de teste(s) e achados clínicos. Exclusivo para uso em diagnóstico "in vitro".

##### PRINCÍPIO DE AÇÃO

O Kit HIV 1 e 2 é um teste imunocromatográfico de fluxo lateral. O dispositivo de teste é constituído por: 1) um suporte de conjugado contendo antígeno de HIV-1 recombinante conjugado com ouro coloidal (HIV-1 conjugado), antígeno de HIV-2 recombinante conjugado com ouro coloidal (HIV-2 conjugado) e um anticorpo controle conjugado com ouro coloidal; 2) uma tira de membrana de nitrocelulose contendo duas linhas de teste (1 e 2) e uma linha de controle (linha C). A linha de teste 1 é revestida por antígeno de HIV-1 para a detecção de anticorpos para HIV-1, a linha de teste 2 é revestida por antígeno de HIV-2 para a detecção de anticorpos para HIV-2 e na linha C anticorpo controle imobilizado.



Quando um volume suficiente de amostra é dispensado na cavidade de amostra do dispositivo, a amostra migra por capilaridade através do mesmo. Anticorpos de HIV-1, caso presentes na amostra, se ligarão aos antígenos de HIV-1 conjugados, onde o imunocomplexo é então capturado pelos antígenos HIV-1 imobilizados na membrana formando uma linha de cor avermelhada na linha do teste, o que indica um resultado de teste positivo para HIV-1. Ausência de cor na linha 1 sugere um resultado negativo ou não reativo para HIV-1. Anticorpos de HIV-2, caso presentes na amostra, se ligarão aos antígenos de HIV-2 conjugados, onde o imunocomplexo é então capturado pelos antígenos HIV-2 imobilizados na membrana formando uma linha de cor avermelhada na linha do teste, o que indica um resultado de teste positivo para HIV-2. Ausência de cor na linha 2 sugere um resultado negativo ou não reativo para HIV-2. O teste contém um controle interno (linha C) que deve apresentar uma linha de cor avermelhada através da formação de um imunocomplexo entre o conjugado e os anticorpos imobilizados independentemente do desenvolvimento de cor das linhas de teste. Se a linha C não se desenvolve, o resultado do teste é inválido e a amostra deve ser testada novamente com outro dispositivo.

##### SIGNIFICADO CLÍNICO

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) é o agente causador da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). A AIDS é caracterizada pela imunossupressão profunda associada a infecções oportunistas, tumores malignos, perda de peso e degeneração do sistema nervoso central. A doença apresenta mudança significativa na população de linfócitos T (CD4), que possui um papel importante no sistema imunológico. O indivíduo com HIV não é capaz de produzir anticorpos em resposta aos antígenos mais comuns que nele penetram, levando a uma imunidade debilitada onde a pessoa torna-se suscetível a diversos micro-organismos. O HIV é um retrovírus com genoma RNA, são encontrados 2 tipos de HIV (HIV-1 e HIV-2), sendo o HIV-1 mais predominante. A AIDS pode ser transmitida através do contato sexual, da transfusão de sangue contaminado, da mãe para o bebê durante a gravidez ou na amamentação e ainda pela reutilização de seringas e agulhas entre os usuários de drogas injetáveis. O teste rápido HIV 1 e 2 é uma ferramenta de diagnóstico rápida e eficiente para auxiliar na detecção e diferenciação de anticorpos contra HIV (HIV-1 e HIV-2) em soro, plasma e sangue total.

##### REAGENTES

Apresentação 25 testes:

1. Dispositivo de Teste (cassete): 25 embalagens individualmente lacradas, contendo 1 dispositivo de teste cada.
2. Diluente de Amostras: 1 frasco com 5 mL.
3. Tubo Capilar

##### MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

Relógio ou cronômetro.

##### CUIDADOS NO ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DOS REAGENTES

1. As datas de fabricação e validade aparecem no rótulo da embalagem.
2. Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.
3. Todos os reagentes estão prontos para uso e devem ser transportados e armazenados entre 15-25°C.
4. O dispositivo de teste é estável até a data de validade impressa na embalagem. Não congelar o kit ou expor a temperatura acima de 30°C.

##### PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

1. A instrução de uso (IU) deve ser lida completamente antes de realizar o teste.
2. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
3. Falha ao seguir a IU pode resultar em um teste impreciso.
4. Abrir a embalagem somente no momento da realização do ensaio.
5. Não utilizar dispositivos com data de validade expirada.
6. Deixar todos os reagentes à temperatura ambiente (15-25°C) antes do uso.
7. Não usar componentes de outro kit como um substituto para os componentes deste kit.
8. Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes.
9. Não usar amostras de sangue hemolisadas para os testes.
10. Usar roupas de proteção e luvas descartáveis ao manusear os reagentes, controles e amostras clínicas.
11. Lave bem as mãos após a realização do teste.
12. Os usuários deste teste devem seguir as precauções de acordo com a legislação vigente para a prevenção da transmissão do HIV, HBV e outros patógenos transmissíveis pelo sangue.
13. Não comer, beber, fumar, armazenar, preparar alimentos ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados.
14. As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos.
15. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou na rede de água e esgoto.
16. Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante.
17. A interpretação dos resultados do teste deve ocorrer no prazo de até 15 minutos depois que a amostra é aplicada ao poço.
18. Não ler após 20 minutos, para evitar resultados imprecisos.
19. Não realizar o teste em uma sala com o fluxo de ar forte como ventilador ou ar condicionado forte.

##### AMOSTRA

Soro ou plasma (EDTA, citrato ou heparina) e sangue total.

##### Soro ou Plasma

Separar em outro tubo o soro ou plasma logo após a centrifugação. Após a coleta da amostra, testar o espécime tão logo possível.

Sob refrigeração (2-8°C), as amostras de soro ou plasma são estáveis por 5 dias. Para um armazenamento prolongado, as amostras deverão ser congeladas a -20°C. Evitar múltiplos ciclos de congelamento e descongelamento. Antes do teste, as amostras congeladas devem ser deixadas em temperatura ambiente para o descongelamento lento e agitação suave. As amostras contendo partículas visíveis devem ser clarificadas por centrifugação antes dos testes. Não utilizar amostras com lipemia, hemólise ou turbidez, a fim de evitar a interferência na interpretação dos resultados.

##### Sangue total

Gotas de sangue total podem ser obtidas por punção na ponta do dedo ou punção venosa. Não use nenhum sangue hemolisado para testes.

Amostras de sangue total devem ser armazenadas sob refrigeração (2-8°C) caso não sejam testadas imediatamente. As amostras devem ser testadas no prazo de 24 horas após a coleta.

##### PROCEDIMENTO

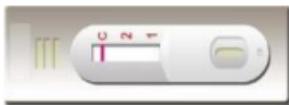
1. Deixar a amostra estabilizar à temperatura ambiente se refrigerada ou congelada. Homogeneizar bem a amostra antes do ensaio, uma vez descongelado.
2. Quando estiver pronto para testar, abra a embalagem e remova o dispositivo de teste colocando-o sobre uma superfície plana e limpa.
3. Identificar o dispositivo com o número e ou nome do paciente.
4. **Dosagem sangue total, soro ou plasma:**  
Aplicar com a micropipeta 20 µL de sangue total, soro ou plasma na cavidade destinada à amostra. Para melhor precisão, utilizar uma pipeta graduada de 20 µL. Certificar que não há bolhas de ar.  
Em seguida, adicionar, imediatamente, 2 gotas (cerca de 60-80µL) de diluente de amostras, na mesma cavidade.



5. Cronometrar o tempo.
6. Os resultados devem ser lidos em 15 minutos. Resultados positivos podem ser observados com 1 minuto. Não ler o resultado após 20 minutos, para evitar resultados imprecisos. Descartar o dispositivo de teste após interpretar o resultado.

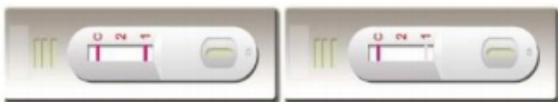
## INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

**1. RESULTADO NEGATIVO:** Se apenas a linha C aparecer no dispositivo, o ensaio indica que os níveis de anti-HIV-1 e anti-HIV-2 na amostra não foi detectado. O resultado é negativo ou não reativo para HIV-1 e HIV-2.



## 2. RESULTADO POSITIVO:

**2.1. Se ambas as linhas C e linha de teste 1 aparecerem no dispositivo, o ensaio indica a presença de anticorpos anti-HIV-1. O resultado é HIV-1 positivo ou reativo.**



**2.2. Se ambas as linhas C e linha de teste 2 aparecerem no dispositivo, o ensaio indica a presença de anticorpos anti-HIV-2. O resultado é HIV-2 positivo ou reativo.**



**2.3. Se aparecerem as linhas C e ambas as linhas de teste (1 e 2) no dispositivo, o ensaio indica que a amostra contém anticorpos anti-HIV-1 e anti-HIV-2. O resultado é HIV-1 e HIV-2 positivos ou reativos. Para diferenciação do tipo de infecção pelo vírus HIV, vide tópico Limitações do Teste, nesta instrução de uso.**



**Amostras com resultados reativos devem ser confirmadas com métodos alternativos, tais como PCR ou ELISA e achados clínicos, antes de um diagnóstico definitivo.**

**3. INVÁLIDO:** Se a linha C não aparecer no dispositivo, o ensaio é inválido independentemente do desenvolvimento de cor nas linhas de teste, como indicado abaixo. Repita o teste com um novo dispositivo.



## DADOS ESTATÍSTICOS DE DESEMPENHO DO TESTE

**Sensibilidade:** A sensibilidade relativa do teste é de 100%.

**Exatidão:** 99,9%.

**Precisão:**

**Repetibilidade:** Realização de 5 determinações de uma mesma amostra sabidamente positiva e outra negativa, obtendo-se os seguintes resultados:

Amostra	Referência	Resultado
AM1	Positivo	100% Positivo
AM2	Negativo	100% Negativo

**Reprodutibilidade:** Realização de 5 determinações de uma mesma amostra, sabidamente positiva e outra negativa, realizada por operador diferente, obtendo-se os seguintes resultados:

Amostra	Referência	Resultado
AM1	Positivo	100% Positivo
AM2	Negativo	100% Negativo

## INTERFERENTES

Substâncias comuns (como anticoagulantes e componentes do sangue) podem afetar o comportamento de alguns testes. Estudos demonstraram que Albumina 50 g/L, Glicose 55 mmol/L, hemoglobina 2 g/L, EDTA 3,4 µmol/L e heparina 3 U/L não afetam o desempenho do teste.

## LIMITAÇÕES DO TESTE

- O Procedimento Técnico e a Interpretação do Resultado devem ser rigorosamente seguidos para detectar e acompanhar a presença de anticorpos para HIV em soro, plasma ou sangue de um paciente. Não seguir o procedimento pode fornecer resultados imprecisos.
- O Kit de HIV 1 e 2 é limitado à detecção qualitativa de anticorpos para HIV (HIV-1 e HIV-2) em soro, plasma e sangue total humano. A intensidade da linha de ensaio não tem nenhuma correlação linear com os títulos de anticorpos na amostra.
- Um resultado negativo pode indicar que o nível de anticorpos para HIV-1 e HIV-2 não é detectável. No entanto, um resultado negativo não exclui a possibilidade de exposição ou infecção por HIV-1 e/ou HIV-2.
- Como ilustrado no tópico interpretação do resultado, as três linhas de teste (C, 1 e 2) podem desenvolver quando testadas com amostras contendo concentração elevada de anticorpos de HIV-1. Para diferenciar e solucionar a reação cruzada, diluir a amostra 1:50 ou 1:100 com diluente de amostra, em seguida, realizar um novo teste com novo dispositivo de teste. Apenas a linha C e a linha de teste 1 aparecerá caso a amostra seja positiva para HIV-1. Neste caso, se aparecerem as linhas C, 1 e 2 o teste indica a presença de anticorpos para HIV-1 e HIV-2.
- Se os sintomas persistirem mesmo com o resultado do teste sendo não reativo, é recomendando coletar nova amostra do paciente e realizar novo teste alguns dias depois ou testar com um método alternativo.
- Algumas amostras contendo altos títulos de anticorpos heterofílicos ou fator reumatóide podem fornecer resultados imprecisos.
- Os resultados obtidos com este teste só devem ser interpretados em conjunto com outros procedimentos de diagnóstico e achados clínicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas Abul K, et al. *Imunologia Celular e Molecular*. Elsevier (2008) 476:488.
- Adams JE, et al. *Circulation*, Vol. 88, 101-106 (1993).
- Adams JE, et al. *N. Eng. J. Med.* Vol. 330, 670-674 (1994).
- Arya, SK, Beaver, B, Jagodzinski, L, Ensofi, B, Kanki, PJ, Albert, J, Fenyó, EM, Biberfeld, G, Zagury, JF and Laure, F. New human and simian HIV-related retroviruses possess functional transactivator (tat) gene. *Nature* (1987) 328:548-550.
- Bodor GS, et al. *Clin. Chem.* Vol. 41, 1710-1715 (1995).
- Brogan GX, et al. *Academic Emerg. Med.* Vol. 4, 6-12 (1997).

7. Caetano JA. Immunologic aspects of HIV infection. *Acta Med Port* (1991) 4 Suppl 1:52S-58S.

8. Chang, SY, Bowman, BH, Weiss, JB, Garcia, RE and White, TJ. The origin of HIV-1 isolate HTLV-III-B. *Nature* (1993) 3/363:466-9.

9. Janssen, RS, Satten, GA, Stramer, SL, Rawal, BD, O'Brien, TR, Weiblen, BJ, Hecht, FM, Jack, N, Cleghorn, FR, Kahn, JO, Chesney, MA and Busch MP. New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes. *JAMA* (1998) 280(1): 42-4.

10. Tucker JF, et al. *Academic Emerg. Med.* Vol. 4, 13-21(1997).

## APRESENTAÇÃO

25 Testes	
Dispositivo de Teste	25 unidades
Diluyente de Amostras	1 x 5mL

## ASSESSORIA TÉCNICA

Para esclarecimentos de dúvidas e Assessoria Técnica ligue:

(11) 3429-2555/ 3883-2777

e-mail: [assessoria@interteck.com.br](mailto:assessoria@interteck.com.br)

Katal Biotecnológica Ind. Com. Ltda.  
Rua: Leiria, 1.160 - CEP 31255-100.

Belo Horizonte - MG - Brasil - CNPJ: 71.437.917/0001-04  
Responsável Técnico: Dr. Marcos Brito Salvador. CRBM 7475  
Distribuição: Intertek Internacional Imp. Exp. Ltda.

R. Sabarabuçu, 149 - CEP: 04755-080  
São Paulo - SP - CNPJ: 02.668.836/0001-94

MS: 10377390219

Data da última revisão: 06/07/2016

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA PRODUTOS DIAGNÓSTICOS "IN VITRO"	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Código do Produto
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Fabricado por
	Número de Lote

## Instruções de Uso

### DS Rapid Test HIV - Ref. 711

#### ANVISA XXXXXXXXXXXX

#### FINALIDADE

Sistema para detecção qualitativa rápida de anticorpos anti-HIV-1/2 em amostras de soro, plasma ou sangue total. Uso profissional.  
[Somente para diagnóstico *in vitro*.]

#### PRINCÍPIO

DS Rapid Test HIV - Labtest consiste de uma membrana com antígenos sintéticos de HIV 1 e 2 (HIV 1A - peptídeo gp41; HIV 1B - peptídeo gp120 e HIV 2A peptídeo - gp36) imobilizados na linha teste e proteína A imobilizada na linha controle. A proteína A apresenta elevada afinidade por imunoglobulina (Ig) G humana e moderada afinidade por IgM, IgA e IgE humanas. Durante a execução do teste a amostra é colocada em contato com nanopartículas de ouro, conjugadas com proteína A, que capturam as imunoglobulinas. Após a adição do Tampão de Corrida, as nanopartículas de ouro ligadas às imunoglobulinas se movem cromatograficamente através da membrana por ação capilar. Na existência de anticorpos anti HIV1/2 na amostra, uma linha de cor rosa ou roxa se forma na região teste, onde os antígenos de HIV estão imobilizados, significando que a amostra é reativa. Na ausência de anticorpos anti-HIV, não há formação de linha rósea/roxa na região teste, indicando que a amostra é não reativa. As nanopartículas de ouro com as imunoglobulinas continuam a migração pela membrana e são capturadas na posição controle, levando a formação de uma segunda linha rosa ou roxa, confirmando que o teste se processou de maneira adequada.

A formação de duas linhas róseas/roxas indicam que a amostra é reativa, e a formação de uma só linha na posição controle indica que a amostra é não reativa.

A ausência da linha rósea/roxa na posição controle indica que o teste não se processou adequadamente e que deve ser repetido.

#### CARACTERÍSTICAS DO SISTEMA

O DS Rapid Test HIV - Labtest foi desenvolvido para detectar anticorpos anti-HIV-1/2 em amostras de soro, plasma ou sangue total, utilizando antígenos sintéticos do vírus, com elevadas sensibilidade e especificidade. A possibilidade do uso de diferentes tipos de amostra confere versatilidade ao sistema.

O sistema não necessita de equipamento especial para a realização dos testes, o que torna extremamente prática sua utilização.

#### METODOLOGIA

Imunocromatografia.

#### Reagentes e materiais auxiliares

##### 1. Tiras de Reação - Armazenar entre 8 – 30 °C.

Contém conjugado ouro coloidal-Proteína A, antígenos sintéticos de HIV 1/2 e Proteína A imobilizados em membrana de nitrocelulose. Não congelar. No momento da realização do teste, as tiras de reação deve estar entre 18 - 30 °C.

##### 2. | | | |---|---| | R | 2 | |---|---| Tampão de Corrida – Armazenar entre 8 - 30 °C

Contém tampão pH 9,5, tensoativo não iônico 0,1%, estabilizantes e azida sódica 0,20%. Não congelar. No momento da realização do teste, o Tampão de Corrida deve estar entre 18 – 30 °C.

##### 3. Alça Coletora de Amostra – O volume coletado é igual a 5 µL.

##### 4. Suporte para Tira de Reação

Os reagentes não abertos, quando armazenados nas condições indicadas são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo. Após abertos, os reagentes devem ser manuseados de acordo com as boas práticas de laboratório para evitar contaminações de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

#### PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação de amostras e reagentes.

Se o produto estiver armazenado em local refrigerado, deve-se esperar que ele atinja a temperatura ambiente (18 – 30 °C) antes de ser manuseado. Não abrir o recipiente de armazenamento das tiras ou Tampão de Corrida antes que atinjam a temperatura ambiente.

Abrir o recipiente contendo as tiras reativas imediatamente antes do uso. Selecionar a quantidade a ser utilizada e, em seguida, fecha-lo. Certificar-se que o recipiente está bem vedado.

As Tiras de Reação devem ser utilizadas para a realização dos testes imediatamente após a sua remoção do recipiente de armazenamento.

Não misturar reagentes de lotes diferentes e não utilizar reagentes vencidos<sup>1</sup>.

Utilizar somente ponteiros descartáveis para pipetar cada amostra.

O Tampão de Corrida (R2) contém azida sódica, que é tóxica. Não ingerir e, no caso de contato com os olhos, lavar imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. A azida pode formar compostos altamente explosivos com tubulações de chumbo ou cobre. Portanto, utilizar grandes volumes de água para descartar os reagentes.

Para descartar os reagentes e o material biológico, sugerimos aplicar as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

#### MATERIAL NECESSÁRIO E NÃO FORNECIDO

Micropipetas e ponteiros descartáveis para medir amostras, caso não seja utilizado a Alça Coletora de Amostra. Material para realização de punção transcutânea. Cronômetro.

#### AMOSTRA

Usar soro, plasma (citrato, heparina ou EDTA) ou sangue total. O analito é estável por 3 dias se mantido entre 2 – 8 °C. Armazenar a amostra de soro ou plasma em temperatura igual ou inferior a 20 °C negativos por até 6 meses em recipiente hermeticamente fechado para evitar evaporação. A amostra de sangue total não deve ser congelada. Assegurar que as amostras estejam descongeladas e homogeneizadas antes da sua utilização. Partículas em suspensão devem ser eliminadas por centrifugação. As amostras não devem ser inativadas pelo calor, pois podem produzir resultados incorretos. Não usar amostras com sinais de contaminação ou amostras congeladas e descongeladas repetidas vezes.

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para colheita, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros devidos à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos no procedimento analítico.

Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitem infecções, todas elas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las, deve-se seguir as normas de biossegurança.

#### INTERFERÊNCIAS

##### Reatividade cruzada

Para as condições médicas avaliadas, citadas na tabela abaixo, não foram observadas reações cruzadas com o DS Rapid Test HIV – Labtest.

Condição Médica
CMV IgM
EBV IgG
HBV
HCV
HSV
VZV
Rubéola
Anticipo Anti-nuclear (ANA)
HTLV-I/II
Sífilis
Tuberculose

Outros interferentes:

Fator reumatoide até 80 UI/mL, hCG até 550 UI/mL. Não foi observada interferência para amostras lipêmicas, ictericas ou hemolisadas.

Pacientes sob tratamento com Terapia Antiretroviral Altamente Ativa (HAART) podem apresentar resultado falso negativo.

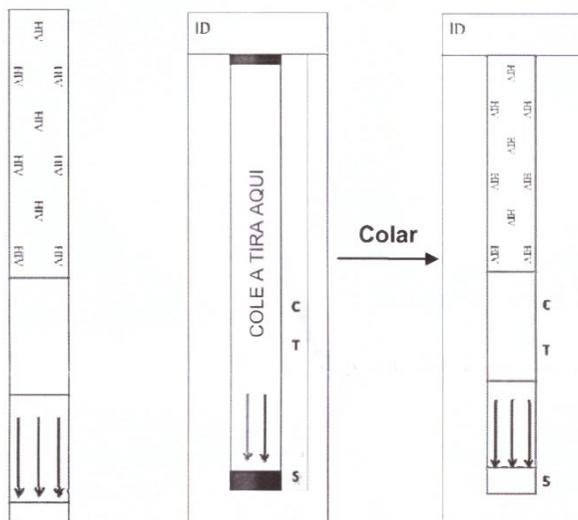
## PROCEDIMENTO

As amostras e o produto devem estar entre 18-30 °C antes de iniciar o ensaio.

Os ensaios devem ser realizados sobre uma superfície plana e em local bem iluminado.

### Procedimento do teste

1. Destacar a quantidade de Suportes para Tira de Reação que serão utilizados. Identificá-los com informações do paciente
2. Retirar do frasco de armazenamento a quantidade de Tiras de Reação que serão utilizadas para a realização dos testes. Evitar contato com membrana de nitrocelulose e região de aplicação de amostra. Fechar o frasco imediatamente após retirar as Tiras de Reação.
3. Remover os protetores do adesivo no verso da Tira de Reação e colá-la no Suporte para Tira de Reação.



### 4. Coleta de amostra

#### Punção transcutânea:

Seguindo as boas práticas laboratoriais, punção o dedo do paciente e limpe a primeira gota de sangue.

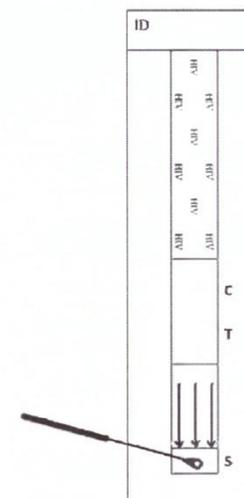
Posicione o anel da Alça Coletora de Amostra sobre a segunda gota de sangue, permitindo que se forme uma camada de sangue dentro do anel do coletor. Não pressione o dedo do paciente durante a punção, a pressão exercida pode promover a liberação de líquido intersticial além do sangue.

#### Soro, Plasma e Sangue Total

Pipete 5,0 µL de soro, plasma ou sangue total ou utilize a Alça Coletora de Amostra.

Dispense 5,0 µL da amostra no local destinado à aplicação da amostra (identificado pelas setas na Tira Reativa e a letra S no Suporte da Tira de Reação).

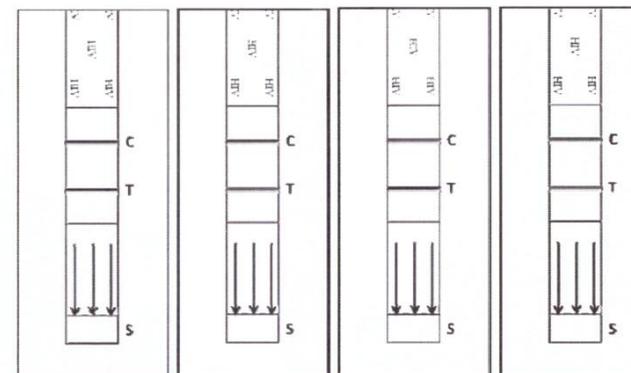
Para utilizar a Alça Coletora de Amostra, introduza o anel do coletor de amostra no tubo de coleta, permitindo que se forme uma camada de amostra dentro do anel do coletor e encoste o anel da Alça Coletora de Amostra no local destinado à aplicação da amostra. Retire a Alça Coletora de Amostra somente após a amostra ter sido completamente absorvida. Descarte a Alça Coletora de Amostra



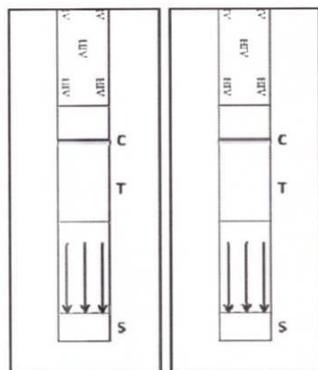
5. Logo em seguida, adicione 3 gotas do Tampão de Corrida no local de aplicação de amostra. Espere que a gota aplicada seja completamente absorvida antes da aplicação da próxima. Caso o líquido não se mova pela membrana em 2 minutos, aplicar uma gota adicional do Tampão de Corrida.

6. Realizar a leitura dos resultados entre 15 e 20 minutos após a adição do Tampão de Corrida. **Não realizar leitura dos resultados após 20 minutos.**

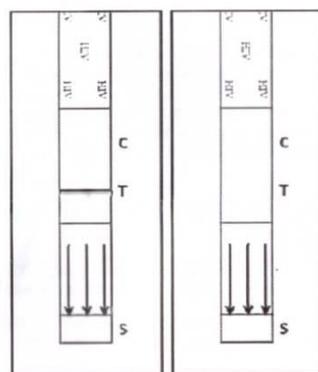
Observação. Após a aplicação do Tampão de Corrida pode ocorrer delaminação da membrana para aplicação da amostra, o que não afeta o desempenho do teste.



AMOSTRA REATIVA



AMOSTRA NÃO REATIVA



TESTE INVÁLIDO

## INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

**Não reativo:** ocorre a formação de uma linha rósea/roxa na posição controle e ausência de linha colorida na posição de teste.

**Reativo:** ocorre a formação de uma linha rósea/roxa na posição teste e outra linha rósea/roxa na posição controle. Mesmo quando a linha da posição teste apresentar fraca intensidade, a amostra deve ser considerada reativa.

**Não considerar qualquer resultado após decorridos 20 minutos do início do teste.**

**Inválido:** a ausência de formação da linha controle após 15 minutos indica um erro de procedimento ou deterioração do sistema e o teste deve ser considerado como inadequado.

Todas amostras que forem reativas em um teste rápido, devido a este ser um ensaio auxiliar no diagnóstico pela infecção do HIV, devem ser analisadas por um ensaio complementar, como Western Blot ou imunofluorescência indireta. Testes rápidos podem ser utilizados como única metodologia para diagnóstico de infecção pelo HIV desde que atendam os requisitos definidos pela portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013<sup>3</sup>.

## CONTROLE DA QUALIDADE

A formação de uma linha rósea/roxa na posição controle é indicativa de um desempenho adequado do procedimento. Além disso, o campo de reação pode apresentar fundo com aspecto levemente róseo, de forma que não interfira na leitura do resultado do teste. Para assegurar que o sistema não foi adversamente afetado e que mantém os níveis estabelecidos de desempenho, sugerimos associar um sistema de controle da qualidade, usando duas amostras conhecidas, sendo uma negativa e outra positiva.

## CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO<sup>10</sup>

### Estudos de Comparação

Os estudos de comparação de métodos foram realizados utilizando 1079 amostras positivas e negativas ensaiadas com o sistema DS Rapid Test HIV - Labtest e plataforma similar como método comparativo, obtendo-se sensibilidade relativa de 100% e especificidade relativa de 99,7%.

Método Comparativo	DP Rapid Test HIV	
	Positivo	Negativo
Positivos	421	0
Negativos	2	656

Adicionalmente foram realizados estudos comparativos utilizando painel de soro comercial. O sistema DS Rapid Test HIV – Labtest apresentou desempenho semelhante a testes imunoenzimáticos e Western Blot.

### Repetitividade - Imprecisão intra-ensaio

A imprecisão intra-ensaio foi verificada pela avaliação de 10 replicatas de duas amostras reativas, utilizando três lotes do produto. A concordância entre os resultados obtidos foi de 100% em todos os testes.

### Reprodutibilidade - Imprecisão inter-ensaio

A imprecisão total foi verificada pela avaliação de 24 painéis sorológicos, utilizando dois lotes do produto. A concordância entre os resultados obtidos foi de 100% em todos os testes.

## SIGNIFICADO CLÍNICO

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) pertence ao gênero *Lentivirus* da família *Retroviridae* e foi descoberto em 1983<sup>1</sup>. Existem dois tipos de HIV: o HIV-1 e o HIV-2. O HIV-1 é mais virulento e é o tipo predominante no mundo enquanto que HIV-2 está restrito à África ocidental<sup>2</sup>. Dentro desses dois tipos de vírus existem vários subtipos. O HIV-1 se divide em subtipos M e O. O HIV-2 se divide em subtipos A, B, C, D e E. Apesar das diferenças biológicas, sorológicas e genômicas, os vários subtipos de HIV-1/2 apresentam uma reatividade antigênica cruzada<sup>3</sup>.

O vírus infecta células do sistema imune humano, como linfócitos, macrófagos e células dendríticas. A entrada do vírus na célula é mediada pela interação da proteína gp120 do vírus com a molécula CD4 e com o receptor CCR5<sup>4</sup>. À medida que se multiplica, o HIV mata os linfócitos T CD4+, que têm papel central na resposta imune celular. Com a baixa dos linfócitos T CD4+, a resposta imune celular deixa de funcionar adequadamente. Esse quadro é conhecido como síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS)<sup>5</sup>. Durante a AIDS, diversas infecções oportunistas se instalam, inclusive de microrganismos que, em pessoas saudáveis, não causam doenças. Um indivíduo pode ficar infectado décadas com o HIV, porém, ao desenvolver a AIDS, a sobrevida média gira em torno de 9 meses<sup>7</sup>.

A transmissão do HIV se dá por três vias principais: contato sexual sem proteção, contato com sangue contaminado (incluindo transfusões de sangue e uso de seringas contaminadas) e transmissão de mãe para filho durante a gravidez, o parto ou o aleitamento materno.

## REFERÊNCIAS

- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre regulamento técnico para funcionamento de laboratórios clínicos. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 14 out. 2005. Disponível em <[www.anvisa.gov.br/e-legis/](http://www.anvisa.gov.br/e-legis/)>.
- Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, Dauguet C, Axler-Blin C, Vezinet-Brun F, Rouzioux C, Rozenbaum W, Montagnier L. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome. *Science* 1983; 220 (4599): 868-871.
- Kandathil AJ, Ramalingam S, Kannangai R, David S, Sridharan G. Molecular epidemiology of HIV. *Indian Journal of Medical Research* 2005; 121 (4): 333-344.
- Travers K, Mboup S, Marlink R, Gueye-Nidaye A, Siby T, Thior I, Traore I, Dieng Sarr A, Sankale JL, Mullins C. Natural protection against HIV-1 infection provided by HIV-2. *Science* 1995; 268 (5217): 1612-1615.
- Coakley E, Petropoulos CJ, Whitcomb JM. Assessing chemokine co-receptor usage in HIV. *Current Opinion in Infectious Diseases* 2005; 18 (1): 9-15.
- Pattanapanyasat K, Thakar RT. CD4+ T cell count as a tool to monitor HIV progression & anti-retroviral therapy. *Indian Journal of Medical Research* 2005; 121 (4): 539-549.

7. Morgan D, Mahe C, Mayanja B, Okongo JM, Lubega R, Whitworth JA. HIV-1 infection in rural Africa: is there a difference in median time to AIDS and survival compared with that in industrialized countries? *AIDS* 2002; 16 (4): 597-603.
8. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Aprova o Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV em Adultos e Crianças e dá outras providências. Disponível em <http://www.aids.gov.br/pagina/regulamentacao-de-testes>.
9. Labtest: Dados de Arquivo.

## **INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR**

### **[Termos e Condições de Garantia]**

A **Labtest Diagnóstica** garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.

### **Serviço de Apoio ao Cliente**

Telefone 0800-031-3411 - Ligação Gratuita  
e-mail: [sac@labtest.com.br](mailto:sac@labtest.com.br)

### **Labtest Diagnóstica S.A.**

CNPJ 16.516.296 / 0001 - 38  
Av. Paulo Ferreira da Costa, 600  
Lagoa Santa - Minas Gerais - Brasil - 33400-000  
Telefone (31) 3689-6900  
Fax (31) 3689-6901  
[www.labtest.com.br](http://www.labtest.com.br)

Edição: Novembro, 2015.

## HIV TEST BIOEASY Código: 03FK10

### 1. Explicação do teste

O HIV TEST BIOEASY é um teste rápido para detecção qualitativa de anticorpos de todos os isotipos (IgG, IgM, IgA) específicos para HIV-1, incluindo grupo O e HIV-2 simultaneamente em soro, plasma e sangue total humano.

O produto HIV TEST BIOEASY contém uma tira membrana pré-revestida com antígenos de captação HIV-1 recombinantes (gp41, p24) na linha de teste, 1 do teste e antígenos de captação HIV-2 recombinantes (gp36) na linha de teste 2, respectivamente. O antígeno recombinante HIV 1/2 (gp41, p24 e gp36) - conjugado ouro coloidal e a amostra se movem cromatograficamente ao longo da membrana para as regiões de teste (T) e formam uma linha visível a medida com que o complexo antígeno-anticoorpo-partículas de ouro coloidal se conjuga com um elevado grau de sensibilidade e especificidade.

O dispositivo contém os caracteres 1 (Linha teste HIV-1), 2 (Linha Teste HIV-2) e C (Linha Controle) na superfície da estrutura. Nenhuma das linhas (Controle ou Testes) é visível na janela de resultados antes da aplicação da amostra. A Linha Controle (C) é utilizada para procedimentos de controle. A Linha Controle (C) deve sempre aparecer, indicando que os procedimentos de teste foram realizados adequadamente e que os reagentes estão funcionando corretamente.

### 2. Materiais fornecidos

O kit do teste HIV TEST BIOEASY inclui os seguintes materiais para realização do ensaio:

- Dispositivos de teste embalados individualmente com dessecante.
- Diluente de ensaio.
- Outros materiais necessários fornecidos:
- Lanceta
- Tubo Capilar
- Instruções de uso.

### 3. Precauções/Armazenagem e estabilidade do kit

- 1) O teste deve ser armazenado entre 1 e 30 °C. Não armazenar em geladeira. Não congelar o kit ou os seus componentes.
- 2) O teste é sensível a umidade e à alta temperatura.
- 3) Realizar o teste imediatamente após removê-lo da embalagem de alumínio individual.
- 4) Não utilizar o teste após a data de validade.
- 5) O prazo de validade do kit é indicado na parte externa de sua embalagem.
- 6) Não utilize o kit se a embalagem individual estiver danificada ou o selo violado.
- 7) Descartar o teste se houver qualquer alteração de cor do dessecante (sílica) de amarelo para verde. Essa alteração indica excesso de umidade.



- 8) Não reutilize o dispositivo de teste.
- 9) A utilização do produto deve ocorrer sob temperatura ambiente (15-30°C).

### 4. Avisos

- 1) Somente para o diagnóstico de uso *In vitro*.
- 2) Não comer ou fumar durante o manuseio de amostras.
- 3) Usar luvas de proteção ao manipular as amostras. Lavar bem as mãos após o procedimento.
- 4) Evitar respingos ou formação de aerossol.
- 5) Limpar os respingos utilizando um desinfetante apropriado.
- 6) Descartar e descartar todas as amostras, kits de reação e materiais potencialmente contaminados, como se fossem resíduos infecciosos, em um recipiente de risco biológico.
- 7) Não misturar e trocar amostras.
- 8) Anticoagulantes, tais como heparina, EDTA e citrato de sódio não afetam o resultado do teste.
- 9) A utilização de amostras hemolíticas, amostras lipídicas, ictericas, contendo fatores reumatoides são amostras que podem afetar o resultado do teste.

### 5. Coleta de amostras, armazenamento e precauções

➤ Sangue total

[Coleta por punção venosa]

- 1) Coletar o sangue total em tubo de coleta (contendo anticoagulante, como por exemplo, heparina, EDTA ou citrato de sódio) por punção venosa.
- 2) Caso a amostra de sangue não for imediatamente testada, deve-se refrigerar entre 2 a 8 °C.
- 3) Quando conservada entre 2 a 8 °C a amostra deve ser usada em até 3 dias.
- 4) Para períodos de armazenamento maiores que 3 dias, o congelamento é recomendado. As amostras devem ser trazidas à temperatura ambiente (15 a 30 °C) antes do uso. Utilizar amostras de sangue coletadas há mais de 3 dias pode causar reações inespecíficas.

[Coleta usando lanceta]

- 1) Limpar a área a ser lancetada utilizando gaze embebida em álcool.
- 2) Apertar a extremidade final do dedo e lanceta próximo à lateral.
- 3) Coletar 20µL de amostra utilizando o Tubo Capilar. Com a extremidade vermelha voltada para cima, encostar a extremidade oposta na gola de sangue.

➤ Soro ou Plasma

- 1) [Plasma] Coletar o sangue total em tubo de coleta (contendo algum anticoagulante, como por exemplo, heparina, EDTA ou citrato de sódio) por punção venosa e então centrifugar para obter somente o plasma.

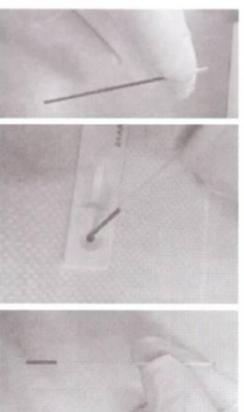
[Soro] Coletar o sangue total em tubo de coleta (que não contenha anticoagulante) por punção venosa, deixar em repouso por 30 minutos para coagulação do sangue e, em seguida centrifugar a amostra para obter somente o soro sobrenadante.

- 2) Caso as amostras de plasma ou soro não sejam testadas imediatamente, deve-se refrigerar entre 2 a 8 °C. Para períodos de armazenamento maiores que 2 semanas, o congelamento e recomendo. As amostras devem ser trazidas à temperatura ambiente (15 a 30 °C) antes do uso.

- 3) Amostras de plasma ou soro que apresentarem qualquer precipitação podem causar resultados inconsistentes. Tais amostras devem ser classificadas antes do ensaio.

### 6. Procedimento do teste

1. Remover o dispositivo de embalagem de alumínio e colocá-lo sobre uma superfície limpa, seca e plana.
2. Reservar o Tubo Capilar e a lanceta.
3. Limpar a área do dedo a ser lancetada utilizando gaze embebida em álcool.
4. Apertar a extremidade final do dedo a ser lancetado.
5. Faça a ordemha do dedo para a sangria. Produzir uma gota de sangue espessa.
6. Aspirar o sangue total emergente com o auxílio do Tubo Capilar, preenchendo todo o seu volume cuidadosamente a fim de evitar a formação de bolhas.
7. Encostar levemente o Tubo Capilar na cavidade da amostra (S) até que o volume aspirado seja transferido naturalmente para o cassete. Sobrará um volume morto que não se desloca do Tubo Capilar.



8. Imediatamente após a colocação da amostra, adicionar 4 gotas (aproximadamente 120µL) do diluente de ensaio na mesma cavidade (S) onde foi colocada a amostra.
9. No início da reação, você observará uma cor roxa em toda a janela de resultado (no centro do dispositivo de teste).
10. Interpretar o resultado entre 10 e 20 minutos. Não interpretar antes de 10 ou depois de 20 minutos.

**Atenção:** Se a cor de fundo não possibilitar distinguir o resultado do teste (após adicionado o diluente) e este não for legível após 10 minutos, volte a consultar o resultado no período de 20 minutos. Após os 20 minutos, não interprete nenhum resultado. Repita o teste.



OU



### 7. Interpretação do teste

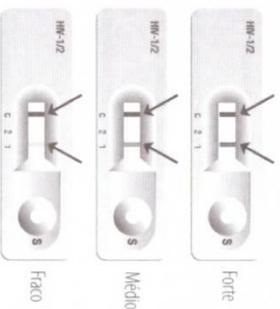
- 1) Uma linha colorida aparecerá do lado esquerdo da janela de resultados indicando que o teste está funcionando corretamente. Esta linha é a Linha Controle (C).
- 2) Uma ou duas linhas coloridas aparecerão do lado direito da janela de resultados. Estas são as linhas de teste HIV-1 e HIV-2.

**Resultado Não reagente:** Quando aparecer somente uma linha colorida na janela de resultados, a Linha Controle "C", como indicada na ilustração. Esta linha deve aparecer em todos os testes.

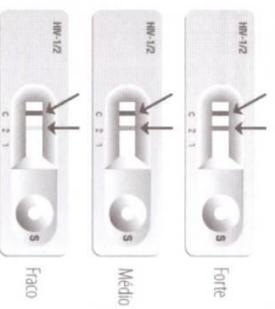


#### Resultado Reagente:

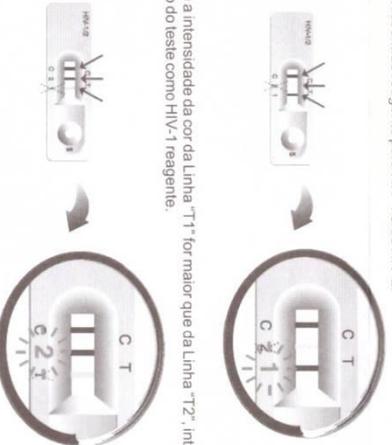
A presença de duas linhas coloridas na janela de resultados, Linha Controle "C" e Linha Teste "T1", independente de qual linha aparecer primeiro, indica um resultado reagente para HIV-1.



A presença de duas linhas coloridas na janela de resultados, Linha Controle "C" e Linha Teste "T2", independente de qual linha aparecer primeiro, indica um resultado reagente para HIV-2.



Apresentação de três linhas coloridas na janela de resultados, Linha Controle "C", Linha Teste "T1" e Linha de Teste "T2", independente de qual linha aparecer primeiro, indica um resultado reagente para HIV-1 e/ou HIV-2.



**Nota:** Se a intensidade da cor da Linha "T1" for maior que da Linha "T2", interpretar o resultado do teste como HIV-1 reagente.

**Atenção:** Infecção dupla de HIV-1 e HIV-2 em um indivíduo é bastante rara. Reatividade dupla, ou seja, Linha "T1" e Linha "T2" reativas, observada no HIV TEST BIOESAY é mais provável de ser causada por reatividade cruzada dada certa homologia nas sequências de aminoácidos do HIV-1 e HIV-2. Para determinar o tipo de vírus ou diagnosticar uma co-infecção, um teste de confirmação tem de ser executado.

**Resultado Invalído:** Quando a Linha Controle "C" não aparecer na janela de resultados dentro de 20 minutos após ter adicionado o diluente. Neste caso, o teste deve ser considerado inválido. Algumas causas de resultados inválidos são: não seguir corretamente as instruções de uso; teste com a data de validade ultrapassada; amostras armazenadas por um longo período. Recomenda-se repetir o ensaio utilizando um novo dispositivo e uma nova amostra.



#### 8. Limitações do teste

- 1) Embora um resultado reagente possa indicar infecção pelo vírus HIV-1 e HIV-2, o diagnóstico de AIDS somente pode ser feito mediante informações clínicas e se o paciente atende a definição de caso de AIDS estabelecidos pelo Centro de Controle de Doenças (Centre of Disease Control - CDC - Órgão americano de controle de doenças). Para amostras que repetidamente apresentarem resultados reagentes, devem ser feitos testes suplementares adicionais.
- 2) Um teste imunocromatográfico isolado não pode ser utilizado para diagnosticar AIDS mesmo que os anticorpos contra HIV-1 e HIV-2 estejam presentes na amostra do paciente.
- 3) Um resultado não reagente em qualquer momento não exclui a possibilidade de uma infecção HIV-1/HIV-2. Persistindo a suspeita clínica, repetir o teste após 30 dias.

#### 9. Controle de qualidade interno

O dispositivo do HIV TEST BIOESAY mostra os caracteres "T1", "T2" e "C" sobre sua superfície para identificar a localização da Linha teste "T1" (HIV-1), da Linha teste "T2" (HIV-2) e da Linha Controle "C" na janela de resultado. Estas linhas não são visíveis antes da aplicação da amostra. A Linha Controle é usada para controle processual. Uma Linha Controle visível confirma que o diluente foi aplicado da maneira correta e que os componentes ativos do teste estão funcionando, mas não é a confirmação de que a amostra tenha sido adequadamente aplicada.

#### 10. Características de desempenho

##### 1) Sensibilidade e Especificidade

Comparando-se o HIV TEST BIOESAY e o HIV ELISA comercial, os resultados foram: Sensibilidade de 100% (187/187), Especificidade de 99,8% (511/512).

##### 2) Precisão

O HIV TEST BIOESAY foi testado com amostras clinicamente reagente e não reagente comprovadas através de um teste HIV ELISA. Os resultados mostram que o HIV TEST BIOESAY é muito preciso em relação ao kit de HIV ELISA.

A precisão intra-ensaio foi determinada utilizando-se 10 replicatas de 4 diferentes amostras contendo diferentes concentrações de anticorpos. Os resultados reagentes e não reagentes foram identificados em 100% das vezes. A precisão entre-ensaio foi determinada utilizando-se 4 diferentes amostras contendo diferentes concentrações de anticorpos em 3 diferentes replicatas com 3 diferentes lotes de tiras. Novamente os resultados reagentes e não reagentes foram identificados em 100% das vezes.

Método	HIV TEST BIOESAY		Total
	Resultado Reagente	Não reagente	
ELISA Comercial	Reagente	187	187
	Não reagente	1	511
<b>Total</b>	<b>188</b>	<b>511</b>	<b>699</b>

#### 11. Bibliografia

- 1) Report of the WHO evaluation (Phase 1) of the SD BIOLINE HIV-1/2 3.0 at WHO collaborating center for Transfusion Transmitted Infections Department of Institute of Tropical Medicine in Antwerp, Belgium. (2002).
- 2) Zolten Gyon, M.D., and Janos Minarovits, M.D. D.Sc.: Evaluation of the SD BIOLINE HIV-1/2 3.0 rapid test for the detection of antibodies to human immunodeficiency virus (HIV) in sera from European individuals. (2008).
- 3) Dr. Heinrich Scheibler: EVALUATION OF SD BIOLINE HIV-1/2 3.0 Rapid, MANUFACTURED BY STANDARD DIAGNOSTICS, INC. KOREA (2007).
- 4) Adrian Puren, Deputy Director, Virology: LABORATORY EVALUATION OF HIV R47/DASSAY (2006).
- 5) Nolan Monica: Resultat de l'evaluation du test rapide SD BIOLINE HIV-1/2 3.0 pour le dépistage du VIH (2005).
- 6) M<sup>rs</sup> Willie Porau: Summary HIV Test Kit Evaluation Study 2006. (2006).
- 7) [http://www.who.int/diagnostics\\_laboratory/evaluations/hiv/en/](http://www.who.int/diagnostics_laboratory/evaluations/hiv/en/)

#### Atenção

Mesmo que tomadas todas as precauções para garantir a eficiência de diagnóstico e precisão deste produto, o kit é utilizado fora do controle do fabricante e distribuidor e o resultado pode, portanto ser afetado por fatores ambientais e/ou erro do usuário. A pessoa que foi diagnosticada através deste produto deve consultar um médico para confirmação do resultado.

#### Aviso

O fabricante e o distribuidor deste produto não serão responsáveis por quaisquer perdas, custos ou danos decorrentes direta ou indiretamente da utilização incorreta deste produto (resultado reagente, não reagente ou inválido).

#### Produzido por Standard Diagnostic Inc

156-68, Hagaj-Dong, Gheung-Ku, Yongin-Si, Kyonggi-Do, Republic of Korea

#### Importador ALERE SA.

Rua dos Pinheiros, 498, 7<sup>o</sup> andar, bairro Pinheiros, São Paulo, SP CEP: 05-422-000.  
CNPJ: 50.248.780/0001-61  
Registro: MS 100711770701

#### Departamento de Assessoria Técnica

Para esclarecimentos de dúvidas quanto ao produto e assessoria técnica:  
Tel.: 0800 11 33 63  
sac.brasil@alere.com

Número de lote, data de fabricação e validade do produto, vide rótulo externo ou interno.

Linha Infecções  
Revisão: 23/07/2014  
Referência: 03FK-10-04-En-0 de 05/2013

# Imuno-Rápido HIV

Kit para determinação qualitativa de anticorpos anti-HIV-1 e anti-HIV-2 por método imunocromatográfico, usando uma combinação de proteínas recombinantes dos vírus HIV-1 e 2 imobilizadas na membrana para identificação seletiva dos anticorpos anti-HIV em amostras de soro, plasma ou sangue total.

A rapid chromatographic immunoassay kit for the qualitative detection of antibodies anti-HIV-1 and anti-HIV-2 in serum, plasma or whole blood using a combination of recombinant proteins of HIV-1& 2 immobilized on membrane for the selective identification of antibodies anti-HIV.

Kit para la determinación cuantitativa de anticuerpos anti-VIH-1 y anti-VIH-2 por método inmunocromatográfico usando una combinación de proteínas recombinantes de los virus VIH-1 y 2 inmovilizadas en la membrana para la identificación selectiva de los anticuerpos del anti-VIH en muestras de suero, plasma o suero total.

**REF 622010-R: 10 determinações / determinations / determinaciones**

**REF 622020-R: 20 determinações / determinations / determinaciones**

**REF 622040-R: 40 determinações / determinations / determinaciones**



## WAMA Diagnóstica

Rua Aldo Germano Klein, 100 - CEAT  
CEP 13560-971 - São Carlos - SP - Brasil  
Fone 55 16 3377.9977 / Fax 55 16 3377.9970  
www.wamadagnostica.com.br  
OBELIS SA  
Avenue de Teruverein, 34 bte 44, 1040  
Brussels - Belgium / www.obeliss.net

## PORTUGUÊS

### IMPORTÂNCIA CLÍNICA

Desde que a síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS) foi descrita pela primeira vez em 1981, a infecção com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) tornou-se uma epidemia global. Embora os usuários de drogas intravenosas, hemofílicos, fetos de mães contaminadas e receptores de transfusão constituam grupos de riscos bem caracterizados, a transmissão sexual (homossexual e heterossexual) é responsável pela maioria dos casos de infecção entre adultos em todo o mundo.

O HIV é um vírus com genoma RNA, da família Lentiviridae. Pertence ao grupo dos retrovírus não-citopáticos e não-oncogênicos que necessitam, para multiplicar-se, de uma enzima denominada transcriptase reversa, responsável pela transcrição do RNA viral para uma cópia DNA, que pode então se integrar ao genoma do hospedeiro. O virion do HIV-1 é cilíndrico, circundado por um envelope lipídico. Seu genoma RNA contém 10.000 bases e é caracterizado pela presença de duas LTRs (Long Terminal Repeats) e nove regiões, três delas codificadoras de proteínas (gag, pol e env) e outras seis reguladoras (tat, rev, vif, vpr, vif). As regiões do gag, pol e env codificam as proteínas e glicoproteínas p-24, p17, gp-120, gp41 e as enzimas transcriptase reversa, proteases e integrases.

Existem dois tipos de HIV, denominados HIV-1 e HIV-2. A homologia genética observada nos genomas provirais dos tipos é de aproximadamente 40-45%, o que determina a codificação e síntese de diversos produtos gênicos semelhantes. Este fato justifica certa taxa de sororeatividade cruzada entre ambos, observada nos testes sorológicos diagnósticos.

Têm sido descritas variantes genômicas (subtipos) do HIV-1 e HIV-2. Assim, os isolados de HIV-1 são classificados em dois grupos: M (maior) e O (outlier), com variabilidade genética de até 30% no segmento env. No grupo M identificam-se nove subtipos (A, B, C, D,

E, F, G, H, e I) e no grupo O apenas um. Em relação ao HIV-2 descrevem-se cinco subtipos (A, B, C, D, e E).

O Imuno-Rápido HIV-1 e 2 utiliza como reagente de captura, imobilizado na placa teste, proteínas recombinantes do HIV-1, correspondente as regiões imunodominantes da gp-41, mais uma epítope correspondente a proteína gp-36 do HIV-2.

### PRINCÍPIO DO MÉTODO

Os anticorpos anti-HIV-1 e/ou anti-HIV-2 presentes na amostra ligam-se no conjugado formando um complexo. Este flui pela membrana indo se ligar ao antígeno (gp41/gp36) na área teste (T) determinando o surgimento de uma banda colorida rosa-clara. Na ausência de antígeno anti-HIV-1 e/ou anti-HIV-2 não há o aparecimento da banda. Um reagente controle imobilizado na membrana da placa-teste determinará o surgimento de uma segunda banda rosa, cuja presença demonstrará que os reagentes estão funcionando corretamente (área controle "C").

### APRESENTAÇÃO DO KIT

**REF 622010-R (10 determinações)**

1. Placa-teste: 10 unidades

2. Solução diluente: 1 x 2 ml

3. Instruções para uso

**REF 622020-R (20 determinações)**

1. Placa-teste: 20 unidades

2. Solução diluente: 2 x 2 ml

3. Instruções para uso

**REF 622040-R (40 determinações)**

1. Placa-teste: 40 unidades

2. Solução diluente: 4 x 2 ml

3. Instruções para uso

### MATERIAL NECESSÁRIO, MAS NÃO FORNECIDO

Papel absorvente

Reagentes para descartar do material

Pipeta automática

### PREPARAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

**PLACAS-TESTE (1):** Devem ser mantidas temperatura entre 2 a 30°C. **Não congelar.** Deixar a placa adquirir a temperatura ambiente antes de realizar os testes, se armazenado em geladeira.

**SOLUÇÃO DILUENTE (2):** Pronta para uso. Contém azida sódica 0,1% como conservante. Estável de 2 a 30°C até a data do vencimento. **Não congelar.** Deixar adquirir a temperatura ambiente antes de realizar os testes.

### AMOSTRAS

Usar amostra de soro, plasma ou sangue total livre de hemólise, lipemia e contaminação.

Amostras recém-cohidas devem ser utilizadas. Se isto não for possível, devem ser conservadas em geladeira (2 a 8°C) por 48 horas. Para armazenagens mais longas as amostras de soro e plasma devem ser mantidas no freezer (-20°C). Não congelar amostra de sangue total.

**ATENÇÃO:** Se a amostra foi mantida no freezer, ela deverá ser descongelada e homogeneizada completamente, mantendo-a, posteriormente, em posição vertical para permitir que qualquer partícula que possa existir em suspensão seja sedimentada. Não agitar a amostra.

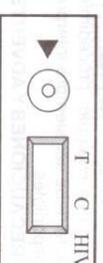
**Amostra diluída pode ocasionar resultado falso negativo.**

### PROCEDIMENTO

1. Retirar a placa-teste (1) do envelope laminado.

2. Pipetar 10µl da amostra

(sem bolhas de ar) na cavidade da amostra (►) na placa-teste.

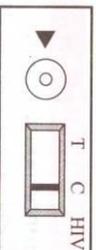


3. Dispensar 3 gotas (100µl) da solução diluente (2) na cavidade da amostra na placa-teste.

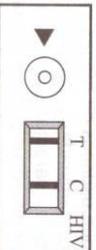
4. Fazer a leitura dos resultados entre 10 e 15 minutos. Não considerar resultados lidos após 20 minutos.

### LEITURA DOS RESULTADOS

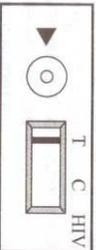
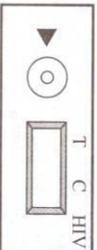
**NEGATIVO:** Somente uma banda rosa-clara aparecerá na área controle (C).



**POSITIVO:** Aparecerão duas bandas, uma na área teste (T) e outra na área controle (C).



**INVALIDO:** Se não surgir uma evidente banda de cor visível na área do teste (T) e controle (C), ou se não surgir banda no controle (C).



**OBS.: Os resultados devem ser ignorados após o tempo determinado para leitura.**

#### DESEMPENHO DO TESTE

O Imuno-Rápido HIV apresentou 100% de sensibilidade, utilizando-se 137 amostras verdadeiramente positivas em seus testes de controle de qualidade. Em 1131 amostras verdadeiramente negativas o Imuno-Rápido HIV apresentou apenas 01 (uma) amostra com resultado falso positivo, obtendo-se uma especificidade igual a 99,9%.

#### LIMITAÇÕES DE USO

O Imuno-Rápido HIV é um teste de triagem para caracterizar a presença de anticorpos anti-HIV-1 e/ou anti-HIV-2, portanto, um resultado repetidamente positivo com este teste é uma presumível evidência da presença de anticorpos na amostra.

Resultados positivos deverão sempre ser confirmados por Western Blot ou outro teste confirmatório. Podem ocorrer resultados falso-positivos e falso-negativos com este teste, cuja proporção dependerá da prevalência da doença na população ensaiada.

Como em qualquer procedimento diagnóstico, o resultado deste teste deve ser sempre interpretado com outras informações clínicas disponíveis.

#### PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

1. Somente para uso diagnóstico "in vitro".
2. Ler cuidadosamente as instruções de uso antes de realizar o teste.
3. A data de validade corresponde ao último dia do mês assinalado na etiqueta do envelope da placa-teste e da caixa do kit.
4. Deve-se evitar expor o kit a temperaturas elevadas, bem como diretamente ao sol.
5. Não congelar a placa-teste, pois isto causará deterioração irreversível.
6. Como se emprega azida sódica a 0,1% como conservante, o descarte dos reagentes deve ser acompanhado de grandes volumes de água para evitar acúmulo de resíduos de azida nos encanamentos, pois esta pode reagir com chumbo e cobre formando sais altamente explosivos. Além disso, a azida é tóxica quando ingerida.
7. Não usar componentes do kit após a data de validade.
8. Não substituir componentes deste kit com o de outros fabricantes, nem usar componentes de lotes e códigos diferentes.
9. Descarte o material conforme a regulamentação local.
10. Utilizar as Boas Práticas de Laboratório (BPLs) na conservação, manuseio e descarte dos materiais.

#### TERMO DE GARANTIA

A **WAMA Diagnóstica** garante a troca deste conjunto diagnóstico, desde que o mesmo esteja dentro do prazo de validade e que seja comprovado por sua assessoria técnica que não houve falhas na execução, manuseio e conservação deste produto. A **WAMA** e seus distribuidores não se responsabilizam por falhas no desempenho do kit sob essas condições.

## ENGLISH

### SUMMARY

Since the acquired immunodeficiency syndrome, AIDS, first appear in 1981, the human immunodeficiency virus (HIV) infection became a global epidemic. Although intravenous drug users, unprotected sexual intercourse, infected mother to her baby and through blood transmission, considered as a risk group, unprotected sex (homosexual and are heterosexual) is responsible for the majority of infection cases among adults around the world. HIV is a viral RNA genome from Lentiviridae family and belongs to non-cytopathic and non-oncogenic retroviruses group. In order to multiply itself, the virus need an enzyme called reverse transcriptase, which is responsible for viral RNA transcription to a DNA copy to the genome host. HIV-1 virion is cilinder and surrounded by a lipidic envelope. Its RNA genome has 10,000 base pairs and characterize itself by the presence of two LTR (Long Terminal Repeats) and nine regions, three codifier of proteins (gag, pol and env ) and six regulatory (tat,rev,nef,vpr,vif).

Gag, pol and env regions codify the proteins and glycoproteins p-24, p17, gp-120, gp41 and the reverse transcriptase enzymes, protease and integrase. There are two types of HIV, known as HIV-1 and HIV-2. The genetic homology seen on proviral genomes is roughly 40-45%, which determine the codification and synthesis of several similar gene products. Such detail justifies a serum cross-reactivity among both, seen on diagnostic serologic tests. Variant of genome (subtypes) of HIV-1&2 have been described. HIV-1 subtypes are classified in two groups: M (major) and O (outlier) with genetic variability up to 30% on env segment. In the M group, there are nine subtypes (A,B,C,D,E,F,G,H and I) and in the O group, there is only one. In relation to HIV-2, there are five subtypes (A,B,C,D and E). Imuno-Rápido HIV-1 and 2 uses as capture reagent, immobilized on test device, HIV-1 recombinant proteins, which correspond to immuno-dominant regions of gp-41 and an epitope which correspond to gp-36 protein from HIV-2.

### PRINCIPLE OF THE METHOD

Anti-HIV-1 and/or anti-HIV-2 antibodies present on the sample bind to conjugate antibody forming a complex. This complex migrates through the membrane and bind to the antigen (gp-41/gp36) in the test region (T), one light pink colored band appears. On the absence of anti-HIV-1 and/or anti-HIV-2 antibodies, no colored band appears. A control reagent immobilized on membrane of test device will determine the appearance of a second colored band showing the reagents are running properly (control region "C").

### KIT PRESENTATION

- REF 622010-R** (10 determinations)
1. Test device: 10 units
  2. Diluent solution: 1 x 2ml
  3. Instructions for use
- REF 622020-R** (20 determinations)
1. Test device: 20 units
  2. Diluent solution: 2 x 2ml
  3. Instructions for use
- REF 622040-R** (40 determinations)
1. Test device: 40 units
  2. Diluent solution: 4 x 2ml
  3. Instructions for use

### MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Paper towel  
Disposable material container  
Automatic pipette

### STABILITY AND STORAGE

**TEST DEVICE (1):** Keep at 2-30°C. **Do not freeze.**  
**DILUENT SOLUTION (2):** Ready for use. Sodium azide 0.1% as preservative. Stable if stored at 2-30°C up to expiration date. **Do not freeze.** Allow the components to reach room temperature prior to use.

### SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

Specimens of serum, plasma or whole blood free of haemolysis, lipaemy and contamination are recommended. Flesh specimens may be stored at 2-8°C for up to 48 hours if not used immediately. For prolonged storage, the specimens of serum and plasma should be frozen at -20°C. Do not freeze whole blood specimens.

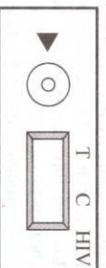
**ATTENTION:** When the specimen is frozen, it should reach room temperature and homogenized completely. Keep the specimen vial

In vertical position to allow any particle to be sedimentated. Do not shake the specimen.

**Diluted sample can cause false negative result.**

**PROCEDURE**

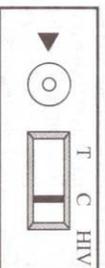
1. Remove the test device (1) from the envelope.
2. Pipette 10µl of sample (with no air bubbles) on sample well (▶) of test device.



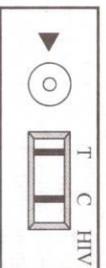
3. Dispense 3 drops (100µl) of diluent solution (2) in the sample well of test device.
4. Read from 10 to 15 minutes. Do not read after 20 minutes.

**READING**

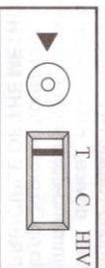
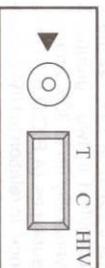
**NEGATIVE:** Appearance of one light pink colored band in the control region (C).



**POSITIVE:** Appearance of two colored bands, one in the test region (T) and other in the control region (C).



**INVALID:** No colored bands appear in the test region (T) and in the control region (C), or if no colored band appears in the control region (C).



**OBS.: Disregard the results after the prescribed time for the readings.**

**TEST PERFORMANCE**

The **Imuno-Rápido HIV** presented 100% of sensitivity. 137 known positive specimens were used in the quality tests. In 1131 known negative specimens, the **Imuno Rápido HIV** presented only one sample with false positive result which provided specificity of 99.9%.

**USE LIMITATION**

The **Imuno-Rápido HIV** is a screening test aimed to detect anti HIV-1 and/or HIV-2 antibodies, therefore, a repeatedly positive result is a strong evidence of antibodies on the specimen.

Positive results should be confirmed by Western Blot Method or other confirmatory methods.

False positive and false negative results may occur, the proportion depends on the prevalence of the disease on the tested population. As any other diagnostic procedure, test result must be interpreted with further clinical data.

**PRECAUTIONS AND WARNINGS**

1. For "in vitro" diagnostic use only.
2. Read carefully the instructions for use prior to use.
3. Expiration date is the last day of the month printed on labels.
4. The test kit should be kept away from direct sunlight
5. Do not freeze test device.
6. The kit contains 0.1% sodium azide as a preservative. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive salts. On disposal, flush with large quantities of water. Sodium azide may be toxic if ingested.
7. Do not use kit beyond the expiration date
8. Do not interchange kit components from different kits.
9. Disposal in accordance with local regulations.
10. Follow good laboratory practices (GLP) related to storage, handling and material disposal.

**WARRANTY**

WAMA Diagnostica replaces this kit since it is not beyond expiration date. The returned kit must be evaluated by Wama's technical support. The warranty will be invalid and kit will not be replaced if technical support finds evidence that running, handling and storage were not properly followed.

**IMPORTANCIA CLÍNICA**

Desde que la síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) fue descrita por la primera vez en 1981 la infección con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) se torno una epidemia global. Aun que usuarios de drogas intravenosas, hemofílicos, fetos de madres contaminadas y receptores de transfusión continúan grupos de riesgo bien caracterizados, la transmisión sexual (homosexual o heterosexual) es la responsable por la mayoría del los casos de infecciones entre adultos en todo el mundo.

El VIH es un virus con genoma RNA de la familia Lentiviridae. Pertenecce al grupo de los retrovirus en lo citoplásmico y en lo oncogénicos que necesitan para multiplicarse, de una enzima denominada transcriptasa reversa, responsable por la transcripción del RNA viral para una copia DNA que puede entonces se integrar al genoma del hospedero. El virion del VIH-1 es cilíndrico, circulando por un sobre lipídico. Su genoma RNA contiene 10.000 bases y se caracteriza por la presencia de dos LTRs (Long Terminal Repeats) y nueve regiones, tres de ellas codificadoras de proteínas (gag, pol y env) y otras seis reguladoras (tat, rev, nef, vpr, vif). Las regiones del gag, pol y env codifican las proteínas e glicoproteínas p24, p17, gp120, gp41 y las enzimas transcriptase reversas, proteasas y integrases.

Existen dos tipos de VIH, denominados VIH-1 y VIH-2

La homología genética observada en los genomas pro virales de los tipos es de aproximadamente 40 y 45 % el que determina la codificación y sintase de diversos productos génicos semejantes. Este hecho justifica cierta tasa de suero reactividad cruzada entre ambos observadas en los tests serológicos diagnósticos.

Vienen sido aisladas variantes genómicas (subtipos) del VIH-1 y VIH-2. Así, los aislados de VIH-1 son clasificados en dos grupos: M (mayor) y O (outlier) con variabilidad genética de hasta 30% en el segmento env. En el grupo M identifican se nueve subtipos (A, B, C, D, E, F, G, H y I) en el grupo O apenas uno. En relación al VIH-2 describanse cinco subtipos (A, B, C, D, E).

El **Immunuo Rápido VIH-1 y 2** utiliza como reactor de captura, inmovilizando en placa testes, proteínas recombinantes del VIH-1, correspondiente a las regiones inmunodominantes del gp-41, una mas epitopo correspondiente a la proteína gp-36 del VIH-2.

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

Los anticuerpos anti-VIH 1 y o anti VIH-2 presentes en la muestra se ligan al conjugado formando un complejo. Este fluye por la membrana yendo ligarse al antígeno (gp41/gp36) en el área teste (T) determinando el surgimiento de una banda de colores rosado claro. En la ausencia del anti VIH 1y o anti VIH-2 no hay el apareamiento de la banda. Un reactor control inmovilizado a la membrana de la placa teste determinara el surgimiento de una segunda banda rosada, cuya presencia demostrara que los reactivos están funcionando correctamente.

**PRESENTACIÓN DEL KIT**

**REF 622010-R (10 determinaciones)**

1. Placa teste: 10 unidades
2. Solución diluyente 1x2 ml
3. Instrucciones para el uso

**REF 622020-R (20 determinaciones)**

1. Placa teste: 20 unidades
2. Solución diluyente 2x2 ml
3. Instrucciones para el uso

**REF 622040-R (40 determinaciones)**

1. Placa teste: 40 unidades
2. Solución diluyente 4x 2 ml
3. Instrucciones para el uso

**MATERIAL NECESARIO, PERO NO FORNECIDO**

- Papel Absorbente
- Recipientes para el descarte del Material

Pipeta automática

**ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS**

**PLACAS-TESTE (1):** deben ser mantenidas a la temperatura entre 2 a 30°C. No congelar

**SOLUCIÓN DILUYENTE (2):** Lista para el uso. Contiene azida sodia 0.1% como conservante. Estable de 2 a 30°C hasta la fecha de caducidad. **No congelar.** Dejarlo adquirir a la temperatura ambiente antes de realizar los testes.

**MUESTRAS**

Usar muestras de suero, plasma o sangre total libre de hemolise.

Igipenia y contaminación.

Muestras recién cogidas deben ser utilizadas. Se esto no es posible, deben ser conservadas en nevera (2 a 8°C) por 48 horas. Para almacenamientos mas largos las muestras deben ser mantenidas en el congelador (-20°C). No congelar muestras de sangre total.

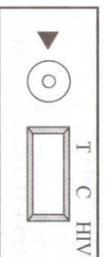
**ATENCIÓN:** Si se mantiene la muestra en el congelador, ella debe ser descongelada y homogenizada completamente, manteniendo posteriormente en posición vertical para permitir que cualquier partícula que pueda existir en suspensión sea sedimentada. No agitar la muestra.

**Muestra diluida puede ocasionar resultado falso negativo**

#### PROCEDIMIENTO

1. Retirar la placa-teste (1) del sobre laminado

2. Pipetar 10µl de la muestra (sin burbujas de aire) en la cavidad de la muestra en la placa-teste

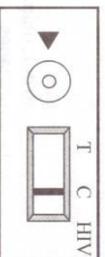


3. Dispensar 3 gotas (100µl) de la solución diluyente (2) en la cavidad de la muestra en la placa-teste

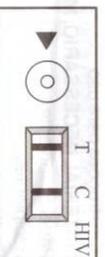
4. Hacer la lectura de los resultados entre 10 a 15 minutos. No considerar resultados leídos después de 20 minutos.

#### LECTURA DE LOS RESULTADOS

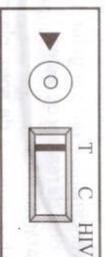
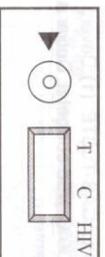
**NEGATIVO:** Solamente una banda rosada clara aparecerá en el área control (C)



**POSITIVO:** Aparecerán dos bandas, una en el área teste (T) y otra en el área control (C)



**INVALIDO:** Si no surge una evidente banda de color visible en el área del teste (T) y control (C), o si no surge banda en el control (C).



**Obs.: Los resultados deben ser ignorados después del tiempo determinado para las lecturas.**

#### DESEMPEÑO DEL TESTE

El Inmuno Rápido VIH, presenta 100% de sensibilidad utilizándose de 137 muestras verdaderamente positivas en sus teste de control de calidad. En 1131 muestras verdaderamente negativas el Inmuno rápido VIH presenta apenas 1 (una) muestra con resultado falso positivo obteniendo una especificidad igual a 99,9%.

#### LIMITACIONES DEL USO.

El Inmuno rápido VIH es un teste de selección para caracterizar la presencia de anticuerpos anti VIH-1 VIH-2, por lo tanto, un resultado repetidamente positivo con estos es una previsible evidencia de la presencia de anticuerpos en la muestra. Resultados positivos deberán ser confirmados por Western Blot o otro teste confirmatorio.

Pueden ocurrir resultados falso positivos y falso negativos con este teste cuya la proporción dependerá de la prevalencia de la enfermedad en la población ensayada.

Como en cualquier procedimiento diagnóstico, el resultado de este teste debe ser siempre interpretado con otras informaciones clínicas disponibles.

#### PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

1. Solamente para el uso diagnóstico "in vitro"
2. Leer cuidadosamente las instrucciones de uso antes de realizar el teste
3. La fecha de caducidad corresponde al ultimo día del mes enseñado en la etiqueta de la placa-teste y de caja del kit
4. Se debe evitar exponer el kit a temperatura elevadas tal como directamente sobre el sol
5. No congelar la placa teste pues esto causara deterioración

irreversible

6. Como se emplear azida sodica a 0,1% como conservante, descarte de los reactivos deben ser acompañados de grandes volúmenes de agua para evitar el acumulo de residuos de azida en las tuberías, pues esta puede reaccionar con plomo y cobre formando sales altamente explosivos. Además de esto la azida es toxica cuando ingerida.

7. No usar componentes del Kit después de la fecha de caducidad.  
8. No sustituir componentes de este Kit con lo de otros fabricantes, tampoco utilizar componentes de lotes y códigos distintos.

9. Descarte de lo material de acuerdo con la regulaciones locales.  
10. Utilizar las buenas practicas de Laboratorio (BPL) en la conservación, manejo y descarte de los materiales.

#### Término de Garantía

La WAMA Diagnostica garantiza el cambio de este conjunto diagnóstico si desde el momento que el mismo esté dentro el plazo de caducidad y sea comprobado por su accesoria técnica de que no hubieron fallos en la elección, manejo y conservación de este producto. La WAMA y sus distribuidores no se responsabilizan por los fallos en el desempeño del kit bajo estas condiciones.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Center for Disease Control and Prevention, First 500,000 AIDS cases- United States, 1995. *MMWR*, 44:46: 849-853, 1995.
2. Daffon, A et al.: Simple and reliable doctors office test for antibodies to human Immunodeficiency virus-1 in serum. *Clin Chem.*, 36: 1312-1316, 1990.
3. Markovitz, D. M.: Infection with the human Immunodeficiency virus type 2. *Ann. Intern. Med.*, 118: 211-218, 1993.
4. Potts, K. E.; Katsish, M. E. et al.: Variabilidade genômica do HIV no Brasil. *AIDS*, 7: 1191-1197, 1993.
5. Price, C.P. et al.: Disposable Integrated Immunoassay devise. In: Price, C.P. and Newman, D.J. editors: Principles and Practice of Immunoassay, 2th ed. Macmillan Reference: 581-603, 1997.
6. Rathner, L.: Molecular biology and pathogenesis of HIV Infection. *Curr. Opinon Infect. Dis.*: 6:181-190, 1993.
7. Schupback, J.: Human Immunodeficiency Viruses. In: Murray, P.R.; Baron, E.J.; Tenover, M. A. Tenover, F.C. and Tenover, R.H. editors. *Manual of Clinical Microbiology*, & *ASM Press*, Washington, D. C.: 847-870, 1999.

#### SIMBOLOGIA / SIMBOLS / SIMBOLOGIA

	O conteúdo é suficiente para (n) testes O conteúdo é suficiente para (n) testes		Número do lote Lot Number
	Data limite de utilização Expiry Date		Número do catálogo Catalog Number
	Produto diagnóstico In vitro Data limite de utilização		Número do lote Lot Number
	Consultar instruções para uso Refer to user's instructions Consultar instruções para uso		Limite de temperatura Temperature Limite de temperatura
	Consultar instruções para uso Refer to user's instructions Consultar instruções para uso		Proteger do calor Keep away from sunlight Proteger del calor
	Representante Europeu European Representative Representante Europeu		Fabricado por Manufactured by Fabricado por

Instruções de Uso

**HIV 1+2 • IC**

**IMUNOCROM**

Fabricado por:

**MB** **MBIOLOG**  
DIAGNÓSTICOS

Rua Gama, 337 – Vila Paris  
Contagem / MG – CEP: 32372-120  
CNPJ: 03.590.360/0001-89  
Tel.: (31) 3507.0707  
Fax: (31)3507.0700  
mbiolog@mbiolog.com.br  
www.mbiolog.com.br

Farm. Resp.: Fabricio Galvão de Brito  
CRF-MG: 9587

SAC: (31) 3507-0707 | [sac@mbiolog.com.br](mailto:sac@mbiolog.com.br)

Revisão: 06 – 08/2014

RMS: 80047580174

## Instruções de Uso

# HIV 1+2 • IC

# IMUNOCROM

### Finalidade

Imunoensaio cromatográfico para detecção *in vitro* de anticorpos do vírus HIV1/2 em amostras de soro, plasma e sangue total humano.

### Princípio da Ação

Os anticorpos anti-HIV1/2 presentes na amostra ligam-se no conjugado formando um complexo. Este flui por capilaridade até a área teste, ligando-se ao antígeno (gp41 e gp36), imobilizado na linha teste "T", determinando o surgimento de uma linha rosa. Na ausência de anticorpos, não há o aparecimento desta linha. Um reagente controle imobilizado na membrana da tira determinará o surgimento de uma segunda linha, cuja presença demonstrará que os reagentes estão funcionando perfeitamente.

### Composição

#### Dispositivo de reação – 25 Unidades

Placa teste com proteínas recombinantes gp41 e gp36.

#### Solução Diluente – 3x2 mL

Solução tampão fosfato de sódio.

### Materiais necessários não fornecidos

- Recipiente para descarte do material;
- Tesoura (opcional)
- Cronômetro.

### Armazenamento e transporte

A data de validade aparece no rótulo da embalagem. Não usar dispositivos cuja data de validade tenha expirado.

Todos os reagentes devem ser mantidos na faixa de 15°C a 30°C. Manter ao abrigo da luz. Não refrigerar ou congelar os componentes do kit.

### Precauções e cuidados especiais

#### Somente para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar equipamentos de proteção individual segundo normas de biossegurança.

O descarte do material utilizado deve ser feito segundo os critérios de biossegurança.

Lavar as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

O dispositivo de reação deve permanecer fechado antes do uso.

Aconselhamos utilizar as boas práticas de laboratório na execução do teste.

### Amostra

#### Soro, plasma e sangue total.

Seguir as técnicas de flebotomia para obtenção de sangue total. Podem-se utilizar os anticoagulantes: EDTA, Citrato ou Heparina.

As amostras, quando não processadas no mesmo dia, devem ser armazenadas entre 2-8°C por no máximo 3 dias.

Descartar as amostras conforme estabelecidos pelas Boas Práticas Laboratoriais, obedecendo, também, as leis ambientais e sanitárias locais.

### Procedimento

Ler, cuidadosamente, as instruções desta bula.

1. Permitir que as amostras atinjam a temperatura ambiente antes dos ensaios.
2. Abrir o sachê e remover o dispositivo de reação. Uma vez aberto o dispositivo deverá ser utilizado imediatamente.
3. Identificar o paciente no dispositivo de reação;
4. Pipetar 10 µL de amostra (sem bolhas de ar) na cavidade Teste do dispositivo de reação.
5. Posteriormente, na mesma cavidade, dispensar 2 gotas da solução diluente (100µL).
6. Aguardar 10-15 minutos para leitura dos dispositivos. Não interpretar os resultados após este período.

### Interpretação

#### Negativo:

Somente uma linha aparecerá na região do controle (C) no dispositivo de reação.

#### Inválido:

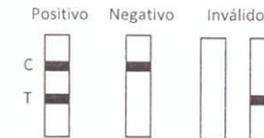
1. Toda linha que por natureza da amostra possa aparecer passados 15 minutos não terá valor diagnóstico.
2. Caso não apareça nenhuma linha na zona central branca do dispositivo, o teste será inválido porque não se procedeu corretamente ou porque os reativos se deterioraram.
3. Caso apareça apenas uma linha na região teste (T) do dispositivo de reação, o teste será inválido.

Em todos os três casos anteriores repetir o teste com um novo dispositivo de reação.

#### Positivo:

Além da linha controle (C), aparecerá também uma linha na região teste (T).

### Exemplo:



### Controle de qualidade

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferivelmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

### Dados estatísticos

**Sensibilidade:** 100%

**Especificidade:** 99,9

**Precisão:** 100%;

**Reprodutibilidade:** 100%.

### Termo de garantia

O Fabricante garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada no rótulo, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções de uso forem seguidas corretamente.

### Bibliografia

1. Popovic M, Samgadharan, M.G., Read, E., and Gallo, R.C. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre AIDS. Science 224; 497-500, 1984.
2. Gallo, R.C., et al., Detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. Science 1984; 224: 500-503.
3. Curran J.W. et al., The epidemiology of AIDS: Current status and future prospects. Science 1985; 229: 1352-1357.
4. Plot, P., Plummer, F.A., Mhalu, F.s., Lmboray, J-L, Chin, J., and Mann, J.M., AIDS, An international perspective, Science 239: 573-579, 1988.



Número: 1156104301



## Kit de utilização única de teste rápido contra o Vírus da Imunodeficiência Humana HIV 1/2/O Tri-line (Sangue Total/Soro/Plasma)

Português

*Teste rápido para a detecção qualitativa de anticorpos contra o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) HIV 1, incluindo grupo O, HIV 2 em sangue total, soro ou plasma.*

*Exclusivamente para utilização profissional em diagnóstico *in vitro*.*

### USO PRETENDIDO

O kit de utilização única de teste rápido do Vírus da Imunodeficiência Humana HIV 1/2/O Tri-line (sangue total/soro/plasma) é um imunossenso cromatográfico rápido para a detecção qualitativa de anticorpos contra o HIV 1, incluindo grupo O, HIV 2, no sangue total, soro ou plasma para auxiliar no diagnóstico da infecção por HIV.

### SUMÁRIO

O HIV é o agente etiológico da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). O vírus é envolvido por um envelope lipídico derivado da membrana da célula hospedeira. Existem várias glicoproteínas virais no envelope. Cada vírus contém duas cópias de RNAs genômicos de senso positivo. O HIV-1 foi isolado dos pacientes com AIDS, e com complexos relacionados com a AIDS, e de pessoas saudáveis com possível risco elevado de desenvolver AIDS.<sup>1</sup> O HIV-1 é composto pelo grupo M e pelo grupo O. Em 1990, foram reconhecidas cepas altamente divergentes do HIV-1 e foram provisoriamente agrupadas como grupo O, uma vez que esta variação tem marcadores de glicoproteínas semelhantes às do HIV-1, mas com uma ligeira variação no marcador da proteína. Apesar de serem raramente comparadas às infecções por HIV-1 e HIV-2, as infecções provocadas pelo grupo O foram, até agora, identificadas em África (Camarões, França e Alemanha). O HIV-2 foi isolado nos pacientes da África Ocidental com AIDS e nos indivíduos soropositivos assintomáticos.<sup>2</sup> O HIV 1, incluindo grupo O, HIV 2 induzem, todos, respostas imunes.<sup>3</sup> A detecção dos anticorpos do HIV no soro, plasma ou sangue total é a forma mais eficaz e comum de determinar se um indivíduo foi exposto ao HIV e para realizar triagem no sangue e derivados de sangue para a detecção do HIV.<sup>4</sup> Apesar das diferenças nas suas características biológicas, nas atividades sorológicas e sequências do genoma, os HIV 1, incluindo grupo O, HIV 2 demonstram uma forte reatividade cruzada antigénica.<sup>5,6</sup> A maioria dos soros positivos para HIV-2 podem ser identificados utilizando testes serológicos baseados no HIV-1.

O kit de utilização única de teste rápido contra o Vírus da Imunodeficiência Humana HIV 1/2/O Tri-line (sangue total/soro/plasma) é um teste rápido para detectar qualitativamente a presença de anticorpos do HIV 1, incluindo grupo O e/ou HIV 2 em amostras de sangue total, soro ou plasma. O kit inclui todos os acessórios essenciais à realização do teste.

### PRINCÍPIO

O kit de utilização única de teste rápido contra o Vírus da Imunodeficiência Humana HIV 1/2/O Tri-line (sangue total/soro/plasma) é um imunossenso qualitativo, baseado em membrana de nitrocelulose, para a detecção de anticorpos do HIV 1, incluindo grupo O, HIV 2 em sangue total, soro ou plasma. A membrana está pré-revestida com antígenos do HIV recombinante nas regiões das linhas de teste, T1 e T2. A linha de teste, T1 está pré-revestida com o antígeno do HIV-1 (gp41) incluindo o antígeno do grupo O (grupo O gp41) e a linha de teste T2 está pré-revestida com o antígeno do HIV-2 (gp36). Durante o teste, a amostra de sangue total, soro ou plasma reage com a mistura de antígenos do envelope e do core do HIV-1, e com os antígenos do envelope do HIV-2 que estão revestidos com partículas coloridas da tira de teste. O complexo amostra e antígeno marcado pelas partículas coloridas migra, então, cromatograficamente na direção ascendente na membrana, por ação capilar, e reage com o antígeno recombinante do HIV na membrana na região da linha de teste. Se a amostra contiver anticorpos do HIV-1 e/ou grupo O, ou HIV-2, aparece uma linha colorida na região da linha T1 ou T2. Se a amostra contiver anticorpos do HIV-1 e/ou grupo O, e do HIV-2, aparecem, em simultâneo, duas linhas coloridas na região da linha de teste. Ambos indicam um resultado reagente. Se a amostra não contiver anticorpos do HIV-1, grupo O e/ou HIV-2, não aparecem linhas coloridas na região da linha de teste, indicando um resultado não reagente. Para servir como controlo de procedimento, aparece sempre uma linha colorida na região da linha de controlo. Se a linha controlo não aparecer, o resultado não será válido.

### ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Conservar como embalado na bolsa selada à temperatura ambiente ou refrigerado (2 a 30 °C). O teste permanece estável até o prazo de validade impresso na bolsa selada. O dispositivo de teste deve permanecer na bolsa selada até a sua utilização. **NÃO CONGELAR.** Não utilizar depois de expirado o prazo de validade.

### PRECAUÇÕES

- Exclusivamente para utilização profissional em diagnóstico *in vitro*. Não utilizar depois de expirado o prazo de validade.
- Não utilizar a lanceta estéril se a respectiva tampa de proteção tiver sido removida previamente.
- Não comer, beber nem fumar na área onde as amostras ou kits são manuseados.
- Manusear todas as amostras como se fossem agentes infecciosos. Respeitar as precauções estabelecidas contra os materiais potencialmente infecciosos ao longo do teste e seguir os procedimentos padrões para a eliminação adequada das amostras.
- Usar roupa de proteção, como jaleco/avental de laboratório, luvas descartáveis e proteção ocular durante o teste das amostras.
- A unidade e a temperatura podem afetar os resultados de forma adversa.
- O teste utilizado deve ser eliminado em conformidade com os regulamentos locais.
- Para sangue total/plasma, obtido por venopunção, é possível utilizar EDTA-K2/heparina de sódio como anticoagulante. Não foram testados outros anticoagulantes, que poderão produzir resultados incorretos.

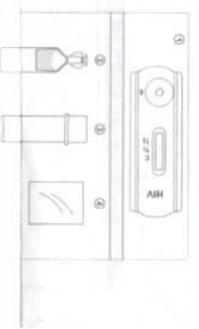
### MATERIAIS

A bolsa pequena contém:

1. Dispositivo de teste e sílica dessecante
- A bolsa maior contém:
  2. Solução tampão
  3. Lanceta estéril
  4. Swab embebido em álcool

O kit contém também:

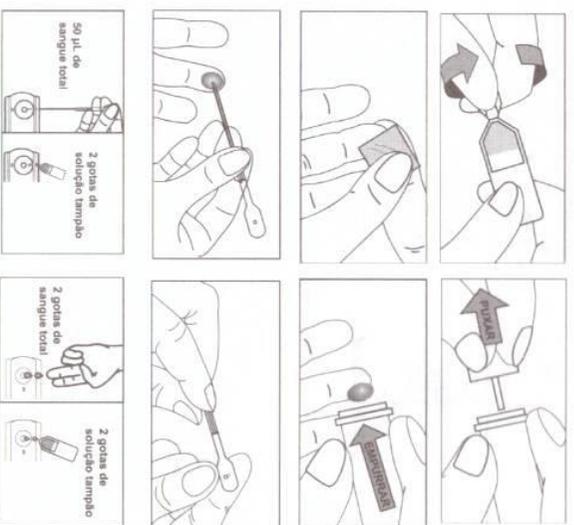
5. Instrução de uso
6. Tubo capilar



### INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Deixe que o dispositivo de teste, a amostra, a solução tampão e/ou os controlos atinjam a temperatura ambiente (15 a 30 °C) antes da realização do teste.

Abra a bolsa pequena, retire o dispositivo de teste e coloque-o numa superfície limpa e nivelada.



1. Abra a bolsa maior, retire o frasco de solução tampão, a lanceta estéril e o swab. Gire e remova a aba do frasco de solução tampão, sem apertar. Em seguida, coloque o frasco numa superfície limpa e nivelada.
2. Retire cuidadosamente a tampa da lanceta estéril.
3. Utilize o swab embebido em álcool fornecido para limpar o local de punção.
4. Realize a punção do local do dedo selecionado utilizando a lanceta estéril. Deixe uma gota de sangue grande se formar no local de punção. Para aumentar o fluxo de sangue, utilize os dedos polegar e indicador para aplicar uma leve pressão junto do local de punção.
5. Dispense a amostra de sangue no dispositivo de teste utilizando o tubo capilar ou gotas suspensas.

Para utilizar o tubo capilar:

Pegue um tubo capilar. Segure o tubo capilar abaixo do bulbo sem cobrir a marca preta indicadora do volume de amostra. NÃO TOQUE OU ABERTE O BULBO. Coloque a extremidade aberta no tubo capilar na gota de sangue e deixe que o sangue suba por capilaridade até a marca preta. Evite a formação de bolha.

Aperte o bulbo cobrindo os dois orifícios de ar e dispense todo volume de sangue total no poço da amostra (S) no dispositivo de teste. Adicione 2 gotas da solução tampão no poço da amostra (S) e ligue o cronômetro.

OU

Para utilizar gotas suspensas:

- Vire a mão ao contrário e deixe cair 2 gotas suspensas de sangue total no centro do poço da amostra (S) do dispositivo de teste; NÃO TOQUE NO POÇO DA AMOSTRA (S) COM O DEDO. Em seguida, coloque 2 gotas de solução tampão no poço da amostra (S) e ligue o cronômetro.
6. Aguarde até a (as) linha(s) colorid(a)s aparecer(em). Leia os resultados depois de decorridos 10 minutos. Não interprete os resultados após 20 minutos.

NOTA: Este teste também pode ser realizado utilizando amostras de soro/plasma, seguindo estas instruções: Adicione soro ou plasma (aproximadamente 25 µL) no poço da amostra (S) do dispositivo de teste; em seguida, acrescente 1 gota de tampão e ligue o cronômetro. Leia os resultados depois de decorridos 10 minutos. Não interprete os resultados após 20 minutos.

#### INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

##### REAGENTE



##### REAGENTE

Aparecem duas ou três linhas coloridas distintas. Deve aparecer sempre uma linha na região da linha de controle (C) e mais uma ou duas linhas coloridas aparentes nas regiões das linhas de teste (T1 e/ou T2). A intensidade da cor na região da linha de teste (T1 e T2) varia de acordo com a concentração de anticorpos do HIV na amostra. Conseqüentemente, quaisquer tonalidades de cor na região da linha de teste (T1 e/ou T2) devem ser consideradas reagentes.

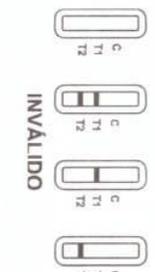
##### NÃO REAGENTE



##### NÃO REAGENTE

Aparece uma linha colorida na região de controle (C). Não aparecem linhas coloridas aparentes nas regiões das linhas de teste (T1 e T2).

##### INVÁLIDO



A linha não aparece na região de controle (C). Caso isso ocorra, leia novamente as instruções de uso e repita o teste em outro dispositivo. Se o resultado permanecer inválido, pare de utilizar imediatamente o kit e entre em contato com seu distribuidor local.

#### CONTROLE DE QUALIDADE

Um controle de procedimento é incluído no teste. Considere-se o aparecimento de uma linha colorida na região da linha de controle (C) como sendo um controle interno do procedimento.

Padrões de controle não são fornecidos com este kit. Contudo, é aconselhável testar os controles positivos e negativos enquanto boa prática laboratorial para confirmar o procedimento de teste e verificar o desempenho adequado do teste.

#### LIMITAÇÕES

1. O kit de utilização única de teste rápido contra o Vírus da Imunodeficiência Humana HIV 1/2/O Tr-line (sangue total/soro/plasma) destina-se exclusivamente à utilização em diagnóstico *in vitro*. Este teste deve ser utilizado para a detecção de anticorpos do HIV em sangue total, soro ou plasma humano. Não é possível determinar nem o valor quantitativo nem a taxa de aumento na concentração de anticorpos do HIV através deste teste qualitativo.
2. O kit de utilização única de teste rápido contra o Vírus da Imunodeficiência Humana HIV 1/2/O Tr-line (sangue total/soro/plasma) indica apenas a presença de anticorpos do HIV na amostra e não deve ser utilizado como o único critério para diagnóstico por HIV 1, incluindo grupo O, HIV 2.
3. Como todos os testes de diagnóstico, todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas à disposição do médico.
4. Este teste destina-se a ser utilizado em etapa complementar de triagem. Os resultados não devem ser utilizados para determinar o sorotipo das infecções de HIV.
5. Devido a possível reatividade cruzada, o aspeto das linhas em T1 e T2 não indica necessariamente co-infecção por HIV 1, incluindo grupo O, HIV 2 e também não identifica o sorotipo.

#### VALORES ESPERADOS

O kit de utilização única de teste rápido do Vírus da Imunodeficiência Humana HIV 1/2/O Tr-line (sangue total/soro/plasma) foi comparado com os testes ELISA e/ou Western Blot do HIV. A correlação entre estes dois sistemas é de 99,8%.

#### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

##### Sensibilidade clínica, especificidade e exatidão

O kit de utilização única de teste rápido contra o Vírus da Imunodeficiência Humana HIV 1/2/O Tr-line (sangue total/soro/plasma) identificou corretamente as amostras de um teste múltiplo e foi comparado com os testes ELISA e/ou Western Blot de HIV, utilizando amostras clínicas. Os resultados demonstram o kit de utilização única de teste rápido do Vírus da Imunodeficiência Humana HIV 1/2/O Tr-line (sangue total/soro/plasma) apresenta uma sensibilidade relativa de 99,9% e uma especificidade relativa de 99,8%.

Método	ELISA e/ou Western Blot	Resultados totais
HIV 1/2/O Kit de utilização única	Reagente	877
	Não reagente	877
	Reagente	6
	Não reagente	2.449
	Reagente	1
	Não reagente	2.455
<b>Resultados totais</b>		<b>3.327</b>

Sensibilidade relativa: 99,9%

Especificidade relativa: 99,8%

#### BIBLIOGRAFIA

1. Chang SY, Bowman BH, Weiss JB, Garcia RE and White TI. *The Origin of HIV-1 isolate HTLV-IIIB*. Nature (1993) 3:363-66-9.
2. Aya SK, Beaver B, Jagodzinski L, Ensoff B, Karak PJ, Albert J, Ferry EM, Biberfeld G, Zagury JF and Lanre F. *New human and simian HIV-related retroviruses possess functional transactivator (tat) gene*. Nature (1987) 328:548-550.
3. Cauchon JA. *Immunologic aspects of HIV infection*. Acta Med Port (1991) 4 Suppl 1:52S-58S.
4. Janssen RS, SattenGA, Stramer SL, Rawal BD, O'Brien TR, Weiblen BI, Hecht FM, Jack N, Cleghorn FR, Kahn JO, Chesney MA and Busch MP. *New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes*. JAMA (1998) 280(1):42-48.
5. Travers K, Mbong S, Marink R, Gueye-Ndave A, Siby T, Thior I, Traore I, Dieng-Sarr A, Sambale JL and Mullins C. *Neutral protection against HIV-1 infection provided by HIV-2*. Science (1995) 268:1612-1615.
6. Greenberg AE, Wiktor SZ, DeCook KM, Smith P, Jaffe HW and Donato TJ Jr. *HIV-2 and neutral protection against HIV-1 infection*. Science (1996) 272:1959-1960.

**ABON™**

Fabricante

Abon Biopharm (Hangzhou) Co., Ltd.

#198 12<sup>th</sup> Street East,

Hangzhou Economic & Technological Development Area,

Hangzhou, 310018, P.R.China

## Instruções de Uso

### DPP® Rapid Test HIV 1/2 - Ref. 708

MS XXXXXXXXXXXX

#### FINALIDADE

Sistema para detecção qualitativa rápida de anticorpos anti HIV 1 e 2 em amostras de fluido oral soro, plasma ou sangue total.

[Somente para diagnóstico *in vitro*.]

Uso profissional.

#### PRINCÍPIO<sup>1</sup>

DPP® Rapid Test HIV 1/2 consiste de um ensaio imunocromatográfico que utiliza antígenos sintéticos de HIV 1 e 2 (HIV 1A - peptídeo gp41; HIV 1B - peptídeo gp120 e HIV 2A peptídeo - gp36) imobilizados na linha teste, para a captura de anticorpos anti HIV 1 e 2 e proteína A imobilizada na linha controle, para a captura de imunoglobulina (Ig) humana. Um conjugado de ouro coloidal com Proteína A é utilizado para a revelação do sistema.

Após a amostra ser adicionada à Placa de Reação, os anticorpos anti HIV 1 e 2 são capturados pelo antígeno recombinante na linha teste. Na ausência de anticorpos anti HIV 1 e 2 não há captura de imunoglobulinas. A amostra move-se cromatograficamente pela membrana e as Ig's são capturadas pela proteína A na linha controle. Com a adição do Tampão de Corrida, as partículas de ouro coloidal conjugadas com proteína A movem-se pela membrana ligando-se aos anticorpos capturados pela linha teste e controle, formando duas linhas róseas. Na ausência de anticorpos anti HIV 1 e 2 há formação de uma única linha rósea na posição controle.

A formação de duas linhas róseas/roxas indica que a amostra é reativa, que apresenta anticorpos anti HIV 1 e 2. A formação de uma única linha na posição controle indica que a amostra é não reativa.

#### CARACTERÍSTICAS DO SISTEMA

O DPP® Rapid Test HIV 1/2 - Labtest foi desenvolvido para detectar anticorpos anti HIV 1 e 2 em amostras de saliva, soro, plasma ou sangue total, utilizando antígeno recombinante com elevadas sensibilidade e especificidade. A possibilidade do uso de diferentes tipos de amostra confere versatilidade ao sistema.

O sistema não necessita de equipamento especial para a realização dos testes, o que torna extremamente prática sua utilização.

#### METODOLOGIA

Imunocromatografia.

#### Reagentes e materiais auxiliares

1. Placa de Reação - Armazenar entre 2 - 30 °C.

Contém conjugado ouro coloidal-Proteína A, antígenos sintéticos de HIV 1/2 e Proteína A imobilizados em membrana de nitrocelulose. Não congelar. No momento da realização do teste, a placa de reação deve estar entre 18 - 30 °C

2. 

R	2
---	---

 Diluente de Amostra - Armazenar entre 2 - 30 °C

Contém tampão pH 9,5, tensoativo não iônico 0,1%, estabilizantes e azida sódica 0,20%. Não congelar.

No momento da realização do teste o Diluente de Amostra deve estar entre 18 - 30 °C.

3. 

R	3
---	---

 Tampão de corrida - Armazenar entre 2 - 30 °C

Contém tampão pH 9,5, tensoativo não iônico 0,1%, estabilizantes e azida sódica 0,20%. Não congelar.

No momento da realização do teste o Tampão de Corrida deve estar entre 18 - 30 °C.

4. Alça Coletora de Amostra

O volume coletado é igual a 10 µL

5. Haste Coletora – Swab

A Haste Coletora - Swab é um produto estéril. Abri-lo imediatamente antes de realizar a coleta de fluido oral. (Disponível somente na Ref. 708 S)

Os reagentes não abertos, quando armazenados nas condições indicadas são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo. Após abertos, os reagentes devem ser manuseados de acordo com as boas práticas de laboratório para evitar contaminações de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

#### PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação de amostras e reagentes.

Se o produto estiver armazenado em local refrigerado, deve-se esperar que ele atinja a temperatura ambiente (18 - 30 °C) antes de ser manuseado. Não abrir as embalagens das Placas de Reação, a tampa do Diluente de Amostra ou Tampão de Corrida antes que atinjam a temperatura ambiente.

Abri-los imediatamente antes do uso. Evitar que a Placa de Reação fique exposta ao ambiente por tempo desnecessário.

A Haste Coletora - Swab é um produto estéril. Abri-lo imediatamente antes de realizar a coleta de fluido oral.

Não misturar reagentes de lotes diferentes e não utilizar reagentes vencidos<sup>1</sup>.

Utilizar somente ponteiras descartáveis para pipetar cada amostra.

O Diluente de Amostra (R2) e Tampão de Corrida (R3) contêm azida sódica, que é tóxica. Não ingerir e, no caso de contato com os olhos, lavar imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. A azida pode formar compostos altamente explosivos com tubulações de chumbo ou cobre. Portanto, utilizar grandes volumes de água para descartar os reagentes.

Para descartar os reagentes e o material biológico, sugerimos aplicar as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

#### MATERIAL NECESSÁRIO E NÃO FORNECIDO

1. Micropipetas e ponteiras descartáveis para medir amostras, caso não seja utilizado a Alça Coletora de Amostra.
2. Material para realização de punção transcutânea.
3. Cronômetro.

#### AMOSTRA

Usar fluido oral, soro, plasma (citrato, heparina ou EDTA) ou sangue total.

Em soro, plasma (citrato, heparina ou EDTA) ou sangue total o analito é estável por 3 dias se mantido entre 2 – 8 °C. Armazenar a amostra de soro ou plasma em temperatura igual ou inferior a 20 °C negativos por até 6 meses em recipiente hermeticamente fechado para evitar evaporação.

A amostra de sangue total não deve ser congelada. Assegurar que as amostras estejam descongeladas e homogeneizadas antes da sua utilização. Partículas em suspensão devem ser eliminadas por centrifugação. As amostras não devem ser inativadas pelo calor, pois podem produzir resultados incorretos. Não usar amostras com sinais de contaminação ou amostras congeladas e descongeladas repetidas vezes.

O fluido oral não deve ser armazenado, mesmo após ter sido adicionado ao Diluente de amostra.

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para colheita, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros devidos à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos no procedimento analítico.

Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitem infecções, todas elas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las, deve-se seguir as normas de biossegurança.

## INTERFERÊNCIAS

### Reatividade cruzada

Para as condições médicas avaliadas, citadas na tabela abaixo, não foram encontrados reações cruzadas com o DPP® Rapid Test HIV 1/2 - Labtest.

Condição médica
Fator Reumatoide
Anticorpo anti HTLV I/II
Anticorpo anti Virus Hepatite B (HBV)
Anticorpo anti Virus Hepatite C (HCV)
IgM anti Citomegalovirus (CMV)
IgG anti Virus Epstein Barr (EBV)
Sífilis

Hemoglobina até 500 mg/dL, Bilirrubina até 20 mg/dL, Triglicérides até 3000 mg/dL, Colesterol até 500 mg/dL, Proteína até 11 g/L, EDTA até 800 mg/dL, Heparina lítica até 8000 mg/dL, Heparina Sódica até 8000 mg/dL, não interferem nos resultados.

Pacientes sob tratamento com Terapia Antiretroviral Altamente Ativa (HAART) podem apresentar resultado falso negativo.

### PROCEDIMENTO

As amostras e o produto devem estar entre 18-30 °C, antes de iniciar o ensaio.

Os ensaios devem ser realizados sobre uma superfície plana e em local bem iluminado.

### Procedimento do teste

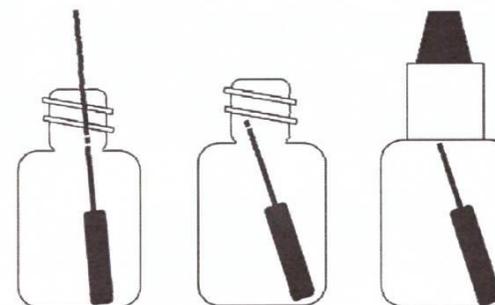
#### 1. Preparação da amostra

##### i) Fluido Oral

- Certifique-se que o paciente não tenha ingerido líquidos (água, café, sucos, refrigerante, etc.) e alimentos (incluindo doces, balas, goma de mascar, etc.) 30 minutos antes da realização do teste.
- Insira a Haste Coletora - Swab acima dos dentes, entre o lábio superior e a gengiva. Movimento a haste de um canto até o outro da boca, mantendo o contato da haste com o lábio superior e a gengiva. **Repetir o movimento 4 vezes.** Realizar o mesmo movimento no lábio inferior, mantendo a haste em contato com o lábio inferior e a gengiva. **Repetir o movimento 4 vezes.** Esse procedimento dura em média entre 15 a 30 segundos. Evitar regiões interiores da boca como palato e região das bochechas.



- Abra o frasco do Diluente de Amostra desenroscando a tampa branca e mantendo a tampa preta e introduza a Haste Coletora - Swab, com o fluido oral do paciente, dentro do frasco, até que entre em contato com o líquido.
- Encoste a Haste Coletora - Swab no fundo do frasco. Dobre a haste até que ela se parta, permitindo que o *Swab* fique dentro do frasco do Diluente de Amostra, como demonstrado na figura abaixo.
- Tampe o frasco do Diluente de Amostra e homogeneize seu conteúdo por pelo menos 10 segundos.
- Realize o ensaio. Não armazene a amostra diluída.

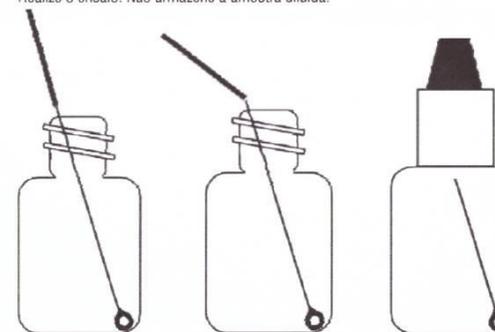


- 1) Introduza a Haste Coletora - Swab no frasco contendo Diluente de Amostra.
- 2) Encoste a Haste Coletora - Swab no fundo do frasco. Dobre-a até que ela se parta.
- 3) Tampe o frasco do Diluente de Amostra. Homogeneize.

##### ii)

#### Punção transcutânea:

- Segundo as boas práticas laboratoriais, punção o dedo do paciente e limpe a primeira gota de sangue.
- Posicione o anel da Alça Coletora de Amostra sobre a segunda gota de sangue, permitindo que se forme uma camada de sangue dentro do anel do coletor. Não pressione o dedo do paciente durante a punção, a pressão exercida pode promover a liberação de líquido intersticial além do sangue.
- Abra o frasco do Diluente de Amostra desenroscando a tampa branca e mantendo a tampa preta e introduza a Alça Coletora de Amostra, com o sangue do paciente, dentro do frasco, até que entre em contato com o líquido.
- Encoste a Alça Coletora de Amostra no fundo do frasco. Dobre a alça coletora até que ela se parta, permitindo que o anel fique dentro do frasco do Diluente de Amostra, como demonstrado na figura abaixo.
- Tampe o frasco do Diluente de Amostra e homogeneize seu conteúdo.
- Realize o ensaio. Não armazene a amostra diluída.



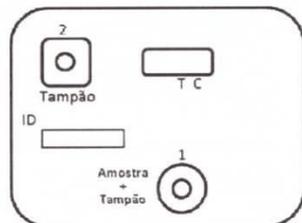
- 1) Introduza a Alça Coletora de amostra no frasco contendo Diluente de Amostra.
- 2) Encoste a Alça Coletora de Amostra no fundo do frasco. Dobre-a até que ela se parta.
- 3) Tampe o frasco do Diluente de Amostra. Homogeneize.

##### iii)

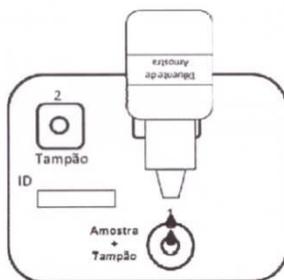
#### Soro, Plasma, Sangue Total

- Pipete 10,0 µL de soro, plasma ou sangue total ou utilize a Alça Coletora de Amostra.
- Dispense os 10 µL de amostra pipetados, para o frasco contendo o Diluente de amostra e homogeneize.
- Para utilizar a Alça Coletora de Amostra, introduza o anel do coletor de amostra no tubo de coleta, permitindo que se forme uma camada de amostra dentro do anel do coletor e proceda como descrito acima (etapas c até e), para punção transcutânea.
- Realize o ensaio. Não armazene a amostra diluída

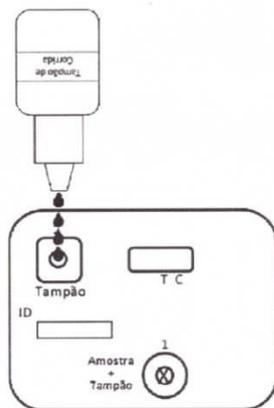
Separar a quantidade de Placas de Reação que serão utilizadas na realização dos testes e identificá-las com informações do paciente.



1. Após ter adicionado a amostra no frasco com Diluente de Amostra, remova a tampa preta do frasco, posicione o frasco perpendicularmente à placa e dispense duas gotas do Diluente de Amostra na posição 1. Permita que cada gota seja completamente absorvida antes da adição da próxima.



2. Aguarde 5 minutos. Verifique se as linhas azul (linha teste) e verde, (linha controle), desapareceram. Descarte a Placa de Reação caso as linhas não tenham desaparecido em tempo inferior a 5 minutos e repita o teste com nova Placa de Reação.
3. Aplique 4 gotas do Tampão de Corrida na Posição 2. O frasco deve estar perpendicular à placa. Permita que cada gota seja completamente absorvida antes da adição da próxima.



7. Realize a leitura dos resultados entre 10 e 25 minutos após a adição do Tampão de Corrida. **Não realizar leitura dos resultados após 25 minutos.**



**AMOSTRA REATIVA**



**AMOSTRA NÃO REATIVA**



**TESTE INVÁLIDO**

**INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS**

**Não reativo:** ocorre a formação de uma linha rósea/roxa na posição controle e ausência de linha colorida na posição de teste.

**Reativo:** ocorre a formação de uma linha rósea/roxa na posição teste e outra linha rósea/roxa na posição controle. Mesmo quando a linha da posição teste apresentar fraca intensidade, a amostra deve ser considerada reativa.

**Não considerar qualquer resultado após decorridos 25 minutos da dispensação do Tampão de Corrida.**

**Inválido:** a ausência de formação da linha controle após 25 minutos indica um erro de procedimento ou deterioração do sistema e o teste deve ser considerado como inadequado.

Todas amostras que forem reativas em um teste rápido, devido a este ser um ensaio auxiliar no diagnóstico pela infecção do HIV, devem ser analisadas por um ensaio complementar, como Western Blot ou imunofluorescência indireta. Testes rápidos podem ser utilizados como única metodologia para diagnóstico de infecção pelo HIV desde que atendam os requisitos definidos pela portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013<sup>9</sup>.

**CONTROLE DA QUALIDADE**

A formação de uma linha rósea/roxa na posição controle é indicativa de um desempenho adequado do procedimento. Além disso, o campo de reação pode apresentar fundo com aspecto levemente róseo, de forma que não interfira na leitura do resultado do teste. Para assegurar que o sistema não foi adversamente afetado e que mantém os níveis estabelecidos de desempenho, sugerimos associar um sistema de controle da qualidade, usando duas amostras conhecidas, sendo uma negativa e outra positiva.

**CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO<sup>9</sup>**

**Estudos de Comparação**

O estudo de comparação de métodos foi realizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) utilizando 1128 amostras positivas e negativas ensaiadas com o sistema DPP<sup>®</sup> Rapid Test HIV 1/2 - Labtest e plataforma similar como método comparativo, obtendo-se sensibilidade relativa de 100% e especificidade relativa de 99,9%.

Método Comparativo	DPP <sup>®</sup> Rapid Test HIV1/2	
	Positivo	Negativo
Positivos	460	0
Negativos	1	667

Um segundo estudo comparativo, realizado na própria empresa, utilizando somente fluido oral como amostra, apresentou sensibilidade relativa de 98,86% e especificidade relativa de 99,94% quando comparado com plataforma com metodologia similar.

Método Comparativo	DPP <sup>®</sup> Rapid Test HIV1/2	
	Positivo	Negativo
Positivos	953	1
Negativos	1	1815

Adicionalmente foram realizados estudos comparativos utilizando painéis de soro comercial. O sistema DPP\* Rapid Test HIV 1/2 - Labtest apresentou desempenho semelhante às demais metodologias utilizadas para a avaliação dos painéis.

### Imprecisão total

Durante 3 dias, cinco amostras, das quais, uma não reativa, uma fracamente reativa para HIV 1, fortemente reativa para HIV 1, fracamente reativa para HIV 2 e fortemente reativa para HIV 2, foram ensaiadas por 3 distintos operadores em diferentes laboratórios. Foram realizados um total de 405 testes obtendo-se 100% concordância entre todos os testes.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) pertence ao gênero *Lentivirus* da família *Retroviridae* e foi descoberto em 1983<sup>2</sup>. Existem dois tipos de HIV: o HIV-1 e o HIV-2. O HIV-1 é mais virulento e é o tipo predominante no mundo enquanto que HIV-2 está restrito à África ocidental<sup>3</sup>. Dentro desses dois tipos de vírus existem vários subtipos. O HIV-1 se divide em subtipos M e O. O HIV-2 se divide em subtipos A, B, C, D e E. Apesar das diferenças biológicas, sorológicas e genômicas, os vários subtipos de HIV-1/2 apresentam uma reatividade antigênica cruzada<sup>4</sup>.

O vírus infecta células do sistema imune humano, como linfócitos, macrófagos e células dendríticas. A entrada do vírus na célula é mediada pela interação da proteína gp120 do vírus com a molécula CD4 e com o receptor CCR5<sup>5</sup>. A medida que se multiplica, o HIV mata os linfócitos T CD4+, que têm papel central na resposta imune celular. Com a baixa dos linfócitos T CD4+, a resposta imune celular deixa de funcionar adequadamente. Esse quadro é conhecido como síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS)<sup>6</sup>. Durante a AIDS, diversas infecções oportunistas se instalam, inclusive de microrganismos que, em pessoas saudáveis, não causam doenças. Um indivíduo pode ficar infectado décadas com o HIV, porém, ao desenvolver a AIDS, a sobrevida média gira em torno de 9 meses<sup>7</sup>.

A transmissão do HIV se dá por três vias principais: contato sexual sem proteção, contato com sangue contaminado (incluindo transfusões de sangue e uso de seringas contaminadas) e transmissão de mãe para filho durante a gravidez, o parto ou o aleitamento materno.

### REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre regulamento técnico para funcionamento de laboratórios clínicos. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 14 out. 2005. Disponível em <[www.anvisa.gov.br/e-legis/](http://www.anvisa.gov.br/e-legis/)>.
2. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, Dauguet C, Axler-Blin C, Vezinet-Brun F, Rouzioux C, Rozenbaum W, Montagnier L. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome. *Science* 1983; 220 (4599): 868-871.
3. Kandathil AJ, Ramalingam S, Kannangai R, David S, Sridharan G. Molecular epidemiology of HIV. *Indian Journal of Medical Research* 2005; 121 (4): 333-344.
4. Travers K, Mboup S, Marink R, Gueye-Nidaye A, Siby T, Thior I, Traore I, Dieng Sarr A, Şankale JL, Mullins C. Natural protection against HIV-1 infection provided by HIV-2. *Science* 1995; 268 (5217): 1612-1615.
5. Coakley E, Petropoulos CJ, Whitcomb JM. Assessing chemokine co-receptor usage in HIV. *Current Opinion in Infectious Diseases* 2005; 18 (1): 9-15.
6. Pattanapanyasat K, Thakar RT. CD4+ T cell count as a tool to monitor HIV progression & anti-retroviral therapy. *Indian Journal of Medical Research* 2005; 121 (4): 539-549.
7. Morgan D, Mahe C, Mayanja B, Okongo JM, Lubega R, Whitworth JA. HIV-1 infection in rural Africa: is there a difference in median time to AIDS and survival compared with that in industrialized countries? *AIDS* 2002; 16 (4): 597-603.
8. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Aprova o Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV em Adultos e Crianças e dá outras providências. Disponível em <http://www.aids.gov.br/pagina/regulamentacao-de-testes>.
9. Labtest: Dados de Arquivo.

### INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR

#### [Termos e Condições de Garantia]

A **Labtest Diagnóstica** garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.

#### Serviço de Apoio ao Cliente

Telefone 0800-31-3411 - Ligação Gratuita  
e-mail: [sac@labtest.com.br](mailto:sac@labtest.com.br)

#### Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ 16.516.296 / 0001 - 38  
Av. Paulo Ferreira da Costa, 600  
Lagoa Santa - Minas Gerais - Brasil - 33400-000  
Telefone (31) 3689-6900  
Fax (31) 3689-6901  
[www.labtest.com.br](http://www.labtest.com.br)

Edição: Dezembro, 2015.



REF 7D2342, 7D2343

PT

**Designação dos símbolos utilizados**

N.º de Catálogo	Contém o suficiente para 20 testes	Manter afastado da luz solar
Dispositivo Médico para Diagnóstico <i>In Vitro</i>	Contém o suficiente para 100 testes	Não reutilizar
Armazenar a 2-30°C	Não utilizar caso a embalagem esteja danificada	

Estas instruções de uso do kit devem ser lidas cuidadosamente antes do uso. As instruções de uso do kit devem ser seguidas rigorosamente. A confiança dos resultados do ensaio não pode ser garantida se houver desvios nas instruções de uso do kit.

#### NOME E USO PRETENDIDO

O **Alere Determine™ HIV-1/2** é um imunoenensaio qualitativo, *in vitro* e de leitura visual para a detecção de anticorpos para HIV-1 e HIV-2 em soro humano, plasma ou sangue total. O teste é pretendido como uma adição para detectar anticorpos para HIV-1 e HIV-2 de indivíduos infectados.

#### RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

A AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) é caracterizada por mudanças na população de células de linfócitos T. Num indivíduo infectado, o vírus causa depleção das células T auxiliares, o que deixa o indivíduo susceptível às infecções oportunistas e algumas malignidades. O vírus que causa a AIDS existe como dois tipos relacionados conhecidos como HIV-1 e HIV-2. A presença do vírus da AIDS faz com que haja produção de anticorpos específicos para HIV-1 ou HIV-2.<sup>1,2,3</sup>

#### PRINCÍPIO BIOLÓGICO DO PROCEDIMENTO

O **Alere Determine™ HIV-1/2** é um teste imunocromatográfico para a detecção qualitativa de anticorpos para HIV-1 e HIV-2.

A amostra é adicionada ao pad de amostra. Como a amostra migra através do pad de conjugado, ela reconstitui-se e mistura-se com o conjugado de colóide de selênio-antígeno. Esta mistura continua a migrar através da fase sólida para imobilizar os antígenos e peptídeos sintéticos na janela do paciente. Se os anticorpos para HIV-1 e/ou HIV-2 estão presentes na amostra, os anticorpos ligam-se no colóide de selênio-antígeno e no antígeno da janela do paciente, formando uma linha vermelha na janela do paciente.

Se os anticorpos para HIV-1 e/ou HIV-2 estão ausentes, o colóide de selênio-antígeno flui através da janela do paciente, e nenhuma linha vermelha é formada na janela do paciente. Para assegurar a validade de ensaio, uma barra de controle processual é incorporada no esquema de ensaio.

#### CONTEÚDO

**Alere Determine™ HIV-1/2 Serum/Plasma Reagent [Alere Determine™ HIV-1/2 Soro/Plasma Reagentes], 20 Testes (7D2342) ou 100 Testes (7D2343)**

- Cartão de Teste **Alere Determine™ HIV-1/2**, 2 cartões ou 10 cartões (10 testes/cartão), revestidos com antígenos recombinantes de HIV-1/2 e peptídeo sintético.

#### ACESSÓRIOS (necessários mas não incluídos)

Para testar amostras de Sangue Total.

- 1 Frasco (2,5 mL) de Chase Buffer (7D2243) preparado em tampão fosfato. Conservantes: Agentes Antimicrobianos.

Para Sangue Total (ensaio de punção)

- Tubos Capilares de EDTA (7D2222)

#### Materiais necessários, mas não fornecidos

Luvas descartáveis, cronômetro

Micropipeta capaz de administrar 50 µL (que não picada no dedo)

Cotonete embebido em álcool, gaze, lanceta (para picada no dedo)

O Tubo Capilar de EDTA consiste em um tubo com diâmetros interno e externo mínimos e que, usando o princípio de capilaridade, faz a aspiração de amostra de sangue total diretamente do local de punção (no caso, a ponta do dedo perfurada pela lanceta). Possui duas marcas que indicam até onde o tubo capilar deve ser preenchido com o sangue fresco coletado pela punção (o sangue deve preencher o tubo até ficar entre as duas marcas). São usadas na aplicação de sangue total, coletado por punção, no pad de amostra do kit de ensaio.

#### ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

**Para Uso Diagnóstico *In Vitro*.**

#### CUIDADO:

Práticas apropriadas de biossegurança<sup>4,5</sup> devem ser usadas ao manusear amostras e reagentes. Estas

precauções incluem, mas não estão limitadas ao seguinte:

- Usar luvas.
- Não pipetar com a boca.
- Não comer, beber, fumar, aplicar cosméticos, ou manusear lentes de contato nas áreas onde esses materiais são manuseados.
- Limpar e desinfetar todos os derramamentos de amostras ou reagentes utilizando um desinfetante apropriado como hipoclorito de sódio a 0,5%.<sup>6,7</sup>
- Descontaminar e descartar todas as amostras, reagentes, ou outros materiais potencialmente contaminados de acordo com as regulamentações locais.<sup>8,9</sup>

#### INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Os Cartões de Teste **Alere Determine™ HIV-1/2** e Chase Buffer devem ser armazenados a 2-30° C até a data de validade.

Os componentes do kit são estáveis até a data de validade quando manuseados e armazenados como indicado. Não use componentes do kit após a data de validade.

Voltar a selar todos os ensaios que não foram utilizados na bolsa que contém o dessecante, premindo o selo de uma ponta à outra para fechar.

#### COLETA DE AMOSTRA

##### Coleta de Soro, Plasma e Sangue Total por Venopunção

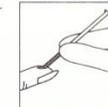
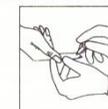
Soro, plasma e sangue total humanos coletados por venopunção devem ser coletados assepticamente de maneira tal para evitar hemólise.

**NOTA: Para amostras de sangue total e plasma, tubos de coleta de EDTA devem ser usados.**

##### Coleta de Sangue Total por Punção<sup>10</sup>

Antes de colher uma amostra por picada no dedo, coloque um tubo capilar EDTA numa superfície limpa e seca.

1. Escolher a ponta do dedo médio, anelar ou indicador (qualquer destes que esteja com menos calosidade) para adultos e crianças maiores que um ano. Aquecer a mão de acordo com a necessidade com uma toalha umedecida e aquecida ou água aquecida para aumentar o fluxo de sangue local.
2. Limpar a ponta do dedo com álcool; permitir secagem pelo ar. Posicionar a mão com o lado da palma para cima.
3. Usar uma nova lanceta para cada pessoa. Colocar a lanceta aproximadamente sobre o centro da ponta do dedo. Pressionar firmemente a lanceta contra o dedo e perfurar a pele. Descartar a lanceta num recipiente apropriado para materiais de risco biológico.
4. Limpar a primeira gota de sangue com um chumaço de gaze estéril.
5. Segurar o dedo numa altura menor que a do cotovelo e pressionar leve e intermitentemente a base do dedo perfurado, várias vezes. Tocar a ponta do Tubo Capilar de EDTA na gota de sangue<sup>11</sup>. Evitar bolhas de ar.



<sup>11</sup>Se os Tubos Capilares de EDTA (7D2222) forem usados, preencher o tubo com sangue entre as duas linhas marcadas (50 µL).

#### ARMAZENAMENTO DE AMOSTRA

- Amostras de soro e plasma devem ser armazenadas a 2-8° C se a análise for realizada em até 7 dias após a coleta. Se a análise for protelada por mais de 7 dias após a coleta, a amostra deve ser congelada (-20° C ou mais frio).
- O sangue total coletado por venopunção deve ser armazenado a 2-8° C se a análise for realizada em até 7 dias após a coleta. Não congelar amostras de sangue total.
- O sangue total coletado por punção deve ser analisado imediatamente.

#### PROCEDIMENTO DO TESTE

O número desejado de unidades de teste do cartão com 10 testes pode ser removido torcendo-se e rasgando a perfuração.

#### NOTA:

- A remoção das unidades de teste deve iniciar-se do lado direito do cartão de teste para preservar o número de lote que aparece sobre o lado esquerdo do cartão de teste.
- O ensaio deve ser iniciado até 2 horas depois de retirada a película de alumínio protectora do teste.

1. Remover a cobertura protetora de lâmina metálica de cada teste.
2. Para amostras de soro ou plasma:
  - a. Aplicar 50 µL de amostra (pipeta de precisão) no pad de amostra (marcado por símbolos de seta).
  - b. Esperar no mínimo 15 minutos (até 60 minutos) e ler o resultado.
3. Para amostras de sangue total (venopunção):
  - a. Aplicar 50 µL de amostra (pipeta de precisão) no pad de amostra (marcado por símbolos de seta).
  - b. Esperar um minuto e então aplicar uma gota de Chase Buffer no pad de amostra.
  - c. Esperar no mínimo 15 minutos (até 60 minutos) e ler o resultado.
4. Para amostras de sangue total (punção):
  - a. Aplicar 50 µL de amostra (pelo tubo capilar de EDTA) no pad de amostra (marcado por símbolos de seta).
  - b. Esperar até o sangue ser absorvido pelo pad de amostra e então aplicar uma gota de Chase Buffer no pad de amostra.
  - c. Esperar no mínimo 15 minutos (até 60 minutos) e ler o resultado.

### CONTROLE DE QUALIDADE

Para assegurar a validade do ensaio, um controle processual é incorporado ao esquema de ensaio e rotulado Controle. Se a barra de controle não ficar vermelha na finalização do ensaio, o resultado do teste é invalidado e a amostra deve ser retestada.

### INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

#### POSITIVO (Duas Barras)

Barras vermelhas aparecem tanto na janela de controle (rotulada Controle) como na janela do paciente (rotulada Paciente) da tira. Qualquer barra vermelha visível na janela do paciente deve ser interpretada como positiva.



Positivo

#### NEGATIVO (Uma Barra)

Uma barra vermelha aparece na janela de controle da tira (rotulada Controle), e nenhuma barra vermelha aparece na janela do paciente (rotulada Paciente) da tira.



Negativo

#### INVÁLIDO (Nenhuma Barra)

Se não há barra vermelha na janela de controle da tira, e mesmo que apareça uma barra vermelha na janela do paciente da tira o resultado é invalidado e deve ser repetido.



Inválido

Inválido

### NOTAS:

- O resultado de teste é positivo mesmo que a barra do paciente apareça mais clara ou mais escura que a barra de controle.
- A barra de controle poderá apresentar uma intensidade fraca para algumas amostras de paciente, particularmente aquelas com VIH de título elevado.
- Se for apresentada uma barra vermelha na janela de controle, mesmo que muito tênue, o resultado do teste é considerado válido.
- Se ocorrer repetidamente um resultado de teste inválido, ou se precisar de recorrer à assistência técnica, contacte o seu distribuidor local ou a Assistência Técnica.

### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- O teste **Alere Determine™** HIV-1/2 é destinado à detecção de anticorpos para HIV-1 e HIV-2 em soro, plasma, e sangue humano. Outros fluidos corporais ou "pools" de amostras podem não fornecer resultados exatos.
- A intensidade da barra do paciente não se relaciona necessariamente à quantidade de anticorpos da amostra.
- Um resultado negativo com **Alere Determine™** HIV-1/2 não exclui a possibilidade de infecção pelo vírus HIV. Um resultado falso negativo pode ocorrer nas seguintes circunstâncias:
  - Baixos níveis de anticorpos (por exemplo, soroconversão recente), que estão abaixo do limite de detecção do teste.
  - Infecção por uma variante do vírus que é menos detectável pela configuração do ensaio do **Alere Determine™** HIV-1/2
  - Anticorpos contra HIV, presentes na amostra do paciente, que não reagem com os antígenos específicos utilizados na configuração deste ensaio.
  - Condições de manuseio da amostra que resulta na perda das características do anticorpo contra HIV.
  - Pessoas infectadas pelo VIH e a fazer terapêutica anti-retroviral<sup>11,12,13</sup>
- Por essas razões, deve-se tomar cuidado ao interpretar os resultados negativos. Outros dados clínicos (por exemplo, sintomas ou fatores de risco) devem ser usados em conjunto com os resultados dos testes.
- Amostras positivas devem ser testadas de novo usando um outro método e os resultados devem ser avaliados levando-se em consideração a avaliação clínica geral antes que se faça um diagnóstico final.
- As amostras de plasma ou sangue contendo outros anticoagulantes que não o EDTA também podem fornecer resultados incorretos.
- Recém-nascidos de mães infectadas pelo VIH podem ser portadores de anticorpos maternos anti-VIH até cerca dos dezoito meses de idade, o que não indica necessariamente que estejam realmente infectados.

### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

#### ESPECIFICIDADE

Um total de 1.594 amostras de soro e plasma da Ásia, Oeste da África, e América do Norte foram testa-

das por **Alere Determine™** HIV-1/2 e um teste comercialmente disponível (Tabela I).

Tabela I

Especificidade do <b>Alere Determine™</b> HIV-1/2			
População	Número de Amostras Testadas	Negativo por <b>Alere Determine™</b> HIV-1/2	Negativo por Teste Comercialmente Disponível***
<b>Soronegativos</b>			
Soro	908	907/908 (99,89%)	908/908 (100,00%)
Plasma	403	403/403 (100,00%)	403/403 (100,00%)
Mulheres Grávidas	58*	57/57 (100,00%)	57/57 (100,00%)
Africanos do Oeste da África	49	48/49 (97,96%)	48/49 (97,96%)
Estados Enfermos	176*	173/175 (98,86%)	174/175 (99,45%)
Outros que por HIV e Substâncias Potencialmente Interferentes			
Total	1.594**	1.588/1.592 (99,75%)	1.590/1.592 (99,87%)

\* Uma amostra de uma mulher grávida e de um paciente positivo para HCV foram positivos tanto por **Alere Determine™** HIV-1/2 quanto por outro teste comercialmente disponível. Ambas as amostras confirmadas positivas por HIV-1 Western Blot.

\*\* 456 amostras da América do Norte, 1.089 amostras da Ásia e 49 amostras da África.

\*\*\* O método de referência do teste comercialmente disponível é aglutinação por partículas.

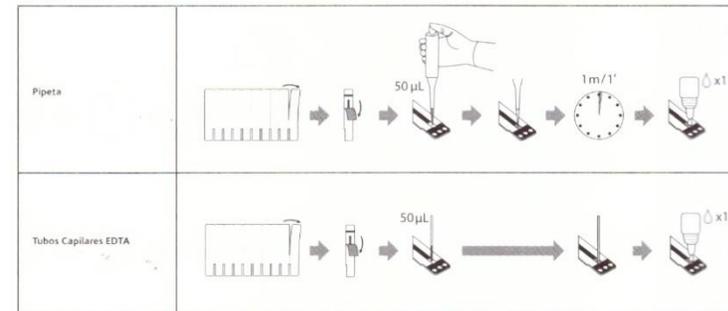
Um total de 3.663 amostras de soro e plasma soronegativas da América do Norte, Ásia e África foram testadas por **Alere Determine™** HIV-1/2 e por testes comercialmente disponíveis (Tabela II). As amostras da América do Norte, Ásia e 49 das 2.118 amostras da África (denominadas como "Africanos do Oeste da África" na Tabela I) foram incluídas na Tabela I. As amostras discordantes foram confirmadas como negativas ou por ensaios Western Blot ou por HIV-1 PCR.

Tabela II

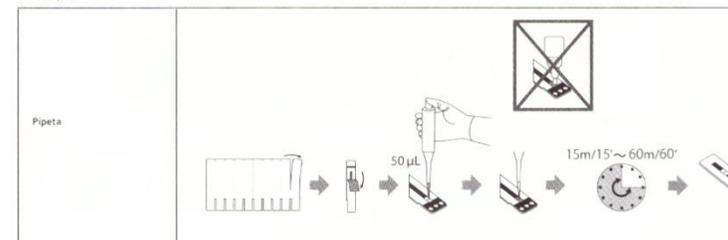
Comparação da Especificidade de <b>Alere Determine™</b> HIV-1/2 por Área Geográfica			
Área	Número de Amostras testadas	Negativas por <b>Alere Determine™</b> HIV-1/2	Negativa por Testes Comercialmente Disponíveis*
América do Norte	456	451/454 (99,34%)	453/454 (99,78%)
Ásia	1.089	1.089/1.089 (100,00%)	1.089/1.089 (100,00%)
África	2.118	2.079/2.118 (98,16%)	2.100/2.118 (99,15%)

\* Os métodos de referência dos testes comercialmente disponíveis são aglutinação por partículas, imunoensaio enzimático e imunoensaio quimioluminescente.

#### Sangue Total



#### Soro, Plasma



Tip  
Sor  
Pla  
Sal  
Sal  
Nº  
Op  
lot  
BIBI  
1.  
2.  
3.  
4.  
5.  
6.  
7.  
8.  
9.  
10.  
11.  
12.  
13.

Um total de 368 amostras soronegativas de sangue total da Tailândia foram testadas com soro e plasma pareados por **Alere Determine™ HIV-1/2**. Trinta e nove das amostras de sangue total foram coletadas tanto por venopunção como por punção (Tabela III).

**Tabela III**  
Comparação da Especificidade do **Alere Determine™ HIV-1/2** em Amostras Soronegativas de Sangue Total e de Soro e Plasma Pareados

Tipo de Amostra	Número de Amostras Testadas	Negativo por <b>Alere Determine™ HIV-1/2</b>
Soro	368	368/368 (100,00%)
Plasma	368	368/368 (100,00%)
Sangue Total (venopunção)	368	368/368 (100,00%)
Sangue Total (punção)	39	39/39 (100,00%)

#### SENSIBILIDADE

Um total de 869 amostras positivas para anticorpo HIV-1 e HIV-2 de soro e plasma da Ásia, África, e América do Norte e do Sul foram testadas por **Alere Determine™ HIV-1/2** e um teste comercialmente disponível (Tabela IV).

**Tabela IV**  
Sensibilidade do **Alere Determine™ HIV-1/2**

População	Número de Amostras Testadas	Positivo por <b>Alere Determine™ HIV-1/2</b>	Positivo por Teste Comercialmente Disponível **
HIV-1 Positivo	521*	521/521 (100,00%)	521/521 (100,00%)
HIV-2 Positivo	114*	114/114 (100,00%)	114/114 (100,00%)
HIV-1 Subtipos A-G	222	222/222 (100,00%)	Não Testado
HIV-1 Grupo O	12	12/12 (100,00%)	Não Testado
Total	869	869/869 (100,00%)	635/635 (100,00%)

\* 228 amostras da América do Norte, 296 da Ásia e 111 amostras da África.

\*\* O método de referência do teste comercialmente disponível é aglutinação por partículas.

Um Total de 1.653 amostras de soro e plasma soropositivas da América do Norte, Ásia e África foram testadas por **Alere Determine™ HIV-1/2** e por testes comercialmente disponíveis (Tabela V). As amostras da América do Norte, Ásia e 111 das 1.129 amostras da África (denominadas como "HIV-2 Positivo") na Tabela IV foram incluídas na Tabela IV. As amostras discordantes foram confirmadas como HIV-1 positivas ou por ensaios Western Blot ou por HIV-1 PCR.

**Tabela V**  
Comparação da Sensibilidade de **Alere Determine™ HIV-1/2** por Área Geográfica

Área	Número de Amostras Testadas	Positivas por <b>Alere Determine™ HIV-1/2</b>	Positivas por testes comercialmente disponíveis**
América do Norte	228	228/228 (100,00%)	228/228 (100,00%)
Ásia	296	296/296 (100,00%)	296/296 (100,00%)
África	1.129	1.128/1.129 (99,91%)	1.129/1.129 (100,00%)

\* Uma amostra negativa por **Alere Determine™ HIV-1/2** confirmada positiva por HIV-1 PCR.

\*\* Os métodos de referência dos testes comercialmente disponíveis são aglutinação por partículas, imunoenensaio enzimático e imunoenensaio quimioluminescente.

Um total de 102 amostras soropositivas de sangue total da Tailândia foram testadas com soro e plasma pareados por **Alere Determine™ HIV-1/2**. Trinta e duas das amostras de sangue total foram coletadas tanto por venopunção como por punção (Tabela VI).

**Tabela VI**  
Comparação da Sensibilidade de **Alere Determine™ HIV-1/2** em Amostras Soropositivas de Sangue Total e de Soro e Plasma Pareados

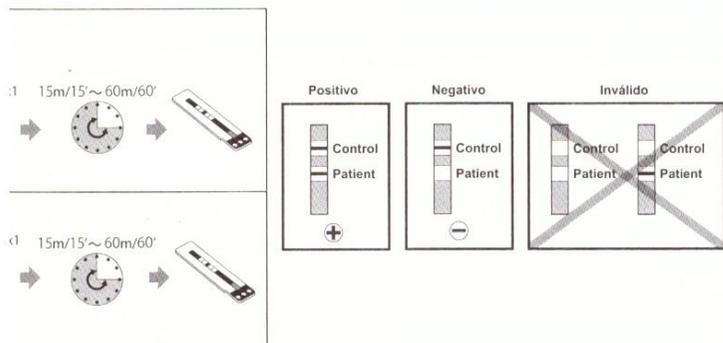
Tipo de Amostra	Número de Amostras Testadas	Positivo por <b>Alere Determine™ HIV-1/2</b>
Soro	102	102/102 (100,00%)
Plasma	102	102/102 (100,00%)
Sangue Total (venopunção)	102	102/102 (100,00%)
Sangue Total (punção)	32	32/32 (100,00%)

Nº de lote, data de fabricação e validade: vide rótulos dos frascos e do estojo.

O processo de fabrico produz números de lote diferentes para o kit e os cartões de teste; estes números de lote são rastreáveis.

#### BIBLIOGRAFIA

- Piot P, Plummer FA, Mhalu FS, Lamboray JL, Chin J, Mann JM. AIDS: An International Perspective. *Science*. 1988; 239: 573-579.
- Weniger BG, Takebe Y, Ou CY, et al. The Molecular Epidemiology of HIV in Asia. *AIDS*. 1994; 8(S2): S13-S28.
- Gürtler LG, Hauser PH, Eberle J, et al. A New Subtype of Human Immunodeficiency Virus Type 1 (MVP-5180) from Cameroon. *Journal of Virology*. 1994; 68(3): 1581-1585.
- World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual. Geneva: World Health Organization, 1993.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue*. Tentative Guideline. NCCLS Document M29-T2. Villanova, PA: NCCLS, 1991: 1-43.
- CDC. Recommendations for Prevention of HIV Transmission in Health-Care Settings, *MMWR* 1987; 36(2S): 3S-18S.
- Sehustler LM, Hollinger FB, Dreesman GR, et al. Immunological and Biophysical Alteration of Hepatitis B Virus Antigens by Sodium Hypochlorite Disinfection. *Applied and Environmental Microbiology*. 1981; 42(5): 762-7.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. *Clinical Laboratory Waste Management; Approved Guideline—Third Edition*. GP05-A3 Vol.31 No.3 January 2011
- EPA Guide for Infections Waste Management: Publication No. EPA/530-SW-86-014. Washington, DC: US Environmental Protection Agency, 1986:1-1 – 5-5, R1-R3, A1-A24.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. *Procedures and Devices for the Collection of Diagnostic Capillary Blood Specimens; Approved Standard—Sixth Edition* GP42-A6 Vol.28 No.25 September 2008
- Delaney KP, Branson BM, et al. Evaluation of the Performance Characteristics of 6 Rapid HIV Antibody Tests. *Clinical Infectious Diseases*. 2011; 52(2): 257-263.
- O'Connell RJ, Merritt TM, Malia JA, et al. Performance of the OraQuick Rapid Antibody Test for Diagnosis of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection in Patients with Various Levels of Exposure to Highly Active Antiretroviral Therapy. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003; 41(5):2153-2155.
- O'Connell RJ, Agan BK, Anderson SA, Malia JA, Michael NL. Sensitivity of the Multispot HIV-1/HIV-2 Rapid Test Using Samples from Human Immunodeficiency Virus Type 1-Positive Individuals with Various Levels of Exposure to Highly Active Antiretroviral Therapy. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006; 44(5): 1831-1833.



#### Linha de Aconselhamento

Para mais informações, por favor contacte o seu distribuidor, ou ligue para um dos seguintes Centros de Suporte ao Produto Alere:

Região	Telefone	Direção do e-mail
Europa e Oriente Médio	+ (44) 161 483 9032	EMEproductsupport@alere.com
Ásia-Pacífico	+ (61) 7 3363 7711	APproductsupport@alere.com
África, Rússia e CEI	+ (972) 8 9429 683	ARCISproductsupport@alere.com
América Latina	+ (57) 2 661 8797	LAPproductsupport@alere.com

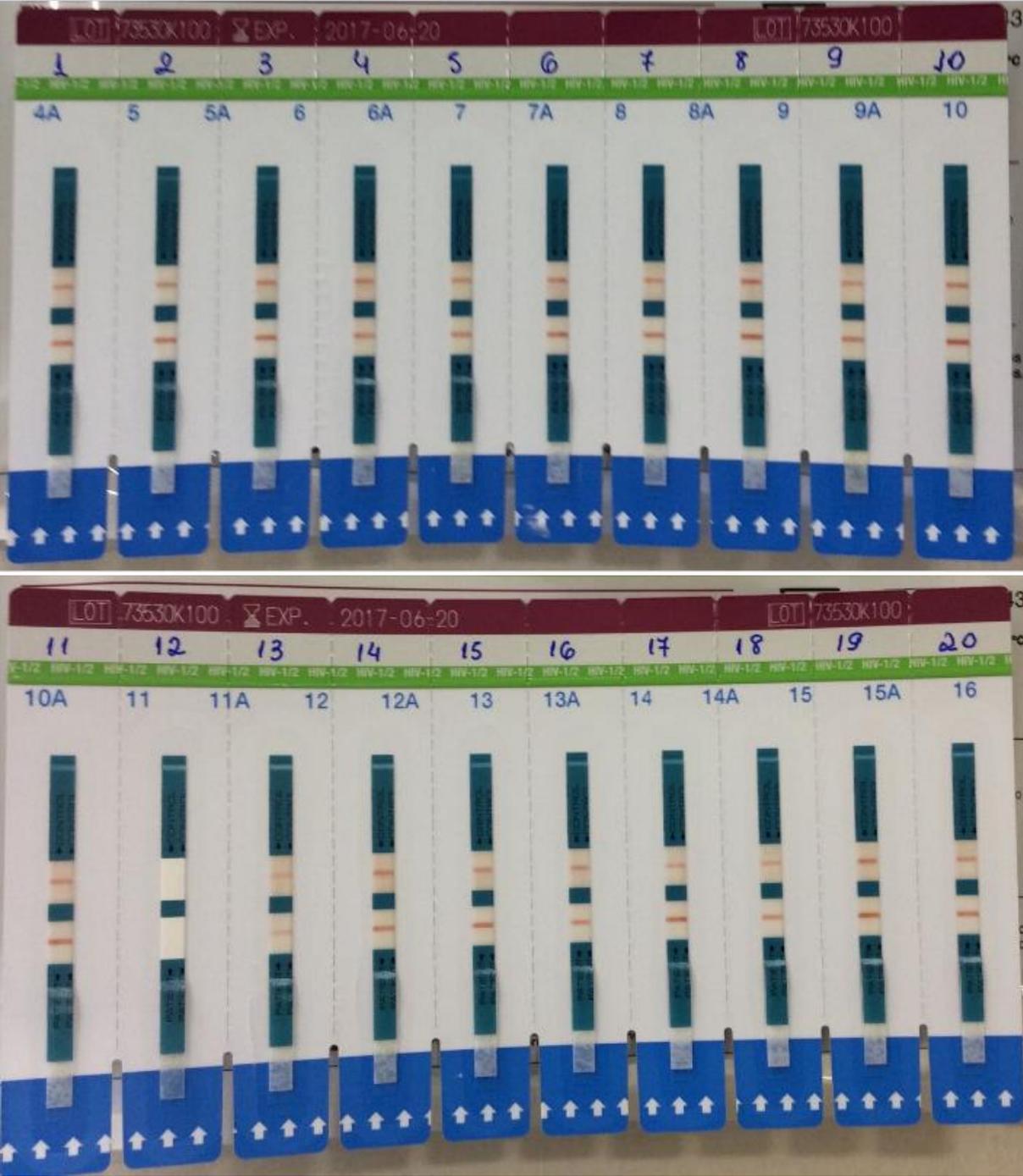


**Alere Medical Co., Ltd.**  
357 Matsuhidai, Matsudo-shi,  
Chiba, 270-2214 Japan  
[www.alere.com](http://www.alere.com) [www.alerehiv.com](http://www.alerehiv.com) Tel +81 47 311 5750

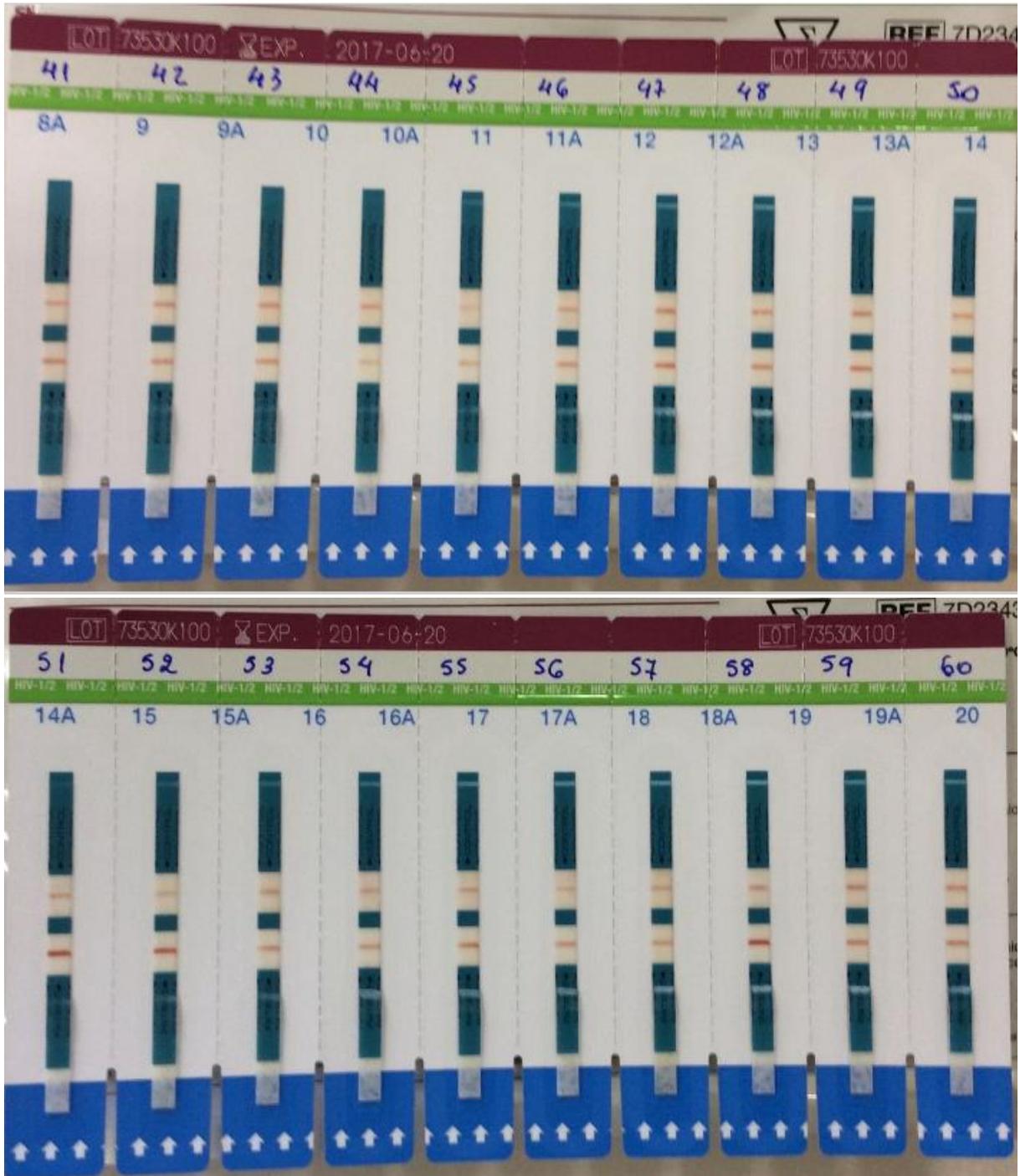
The Alere Logo, Alere and Determine are trademarks of the Alere group of companies.  
© 2015 Alere. All rights reserved.

**APÊNDICE – Fotografia de todos os testes rápidos realizados**

Alere Determine HIV 1 e 2

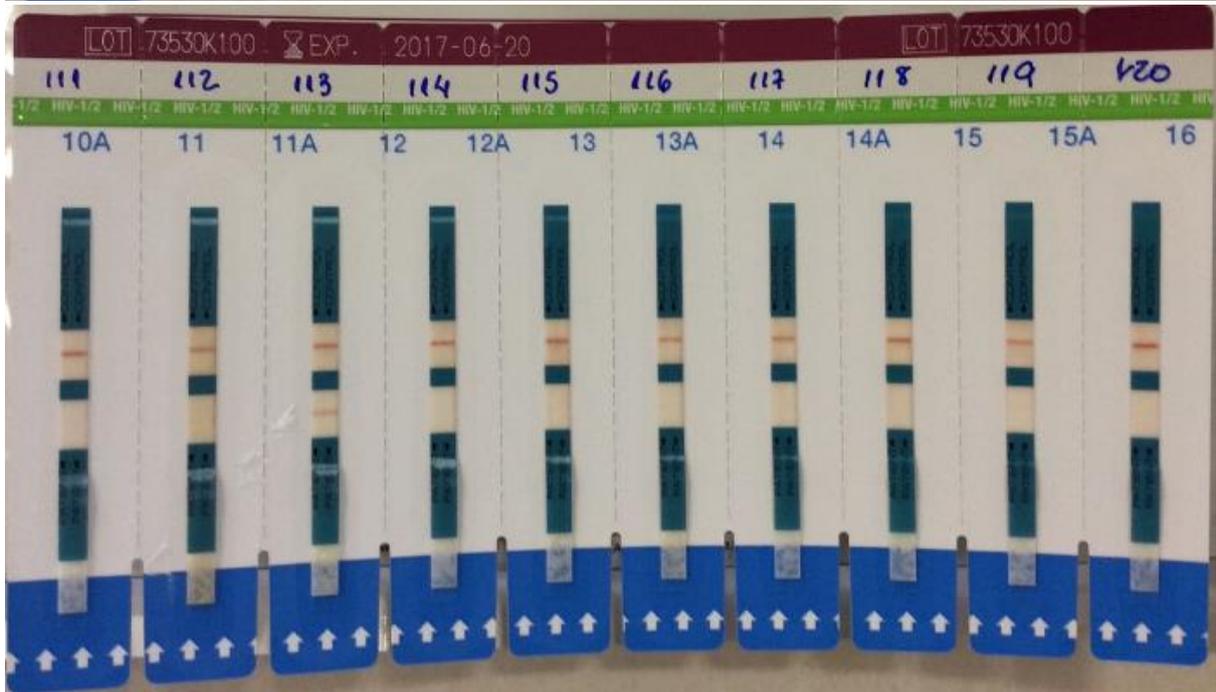
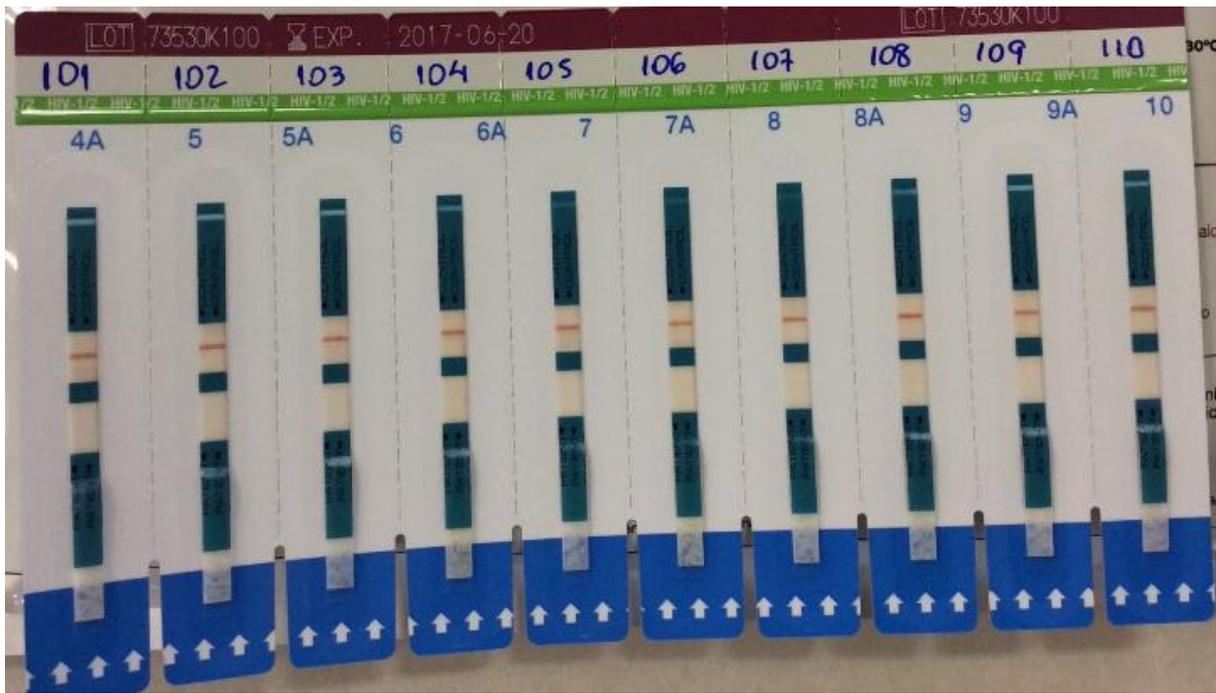




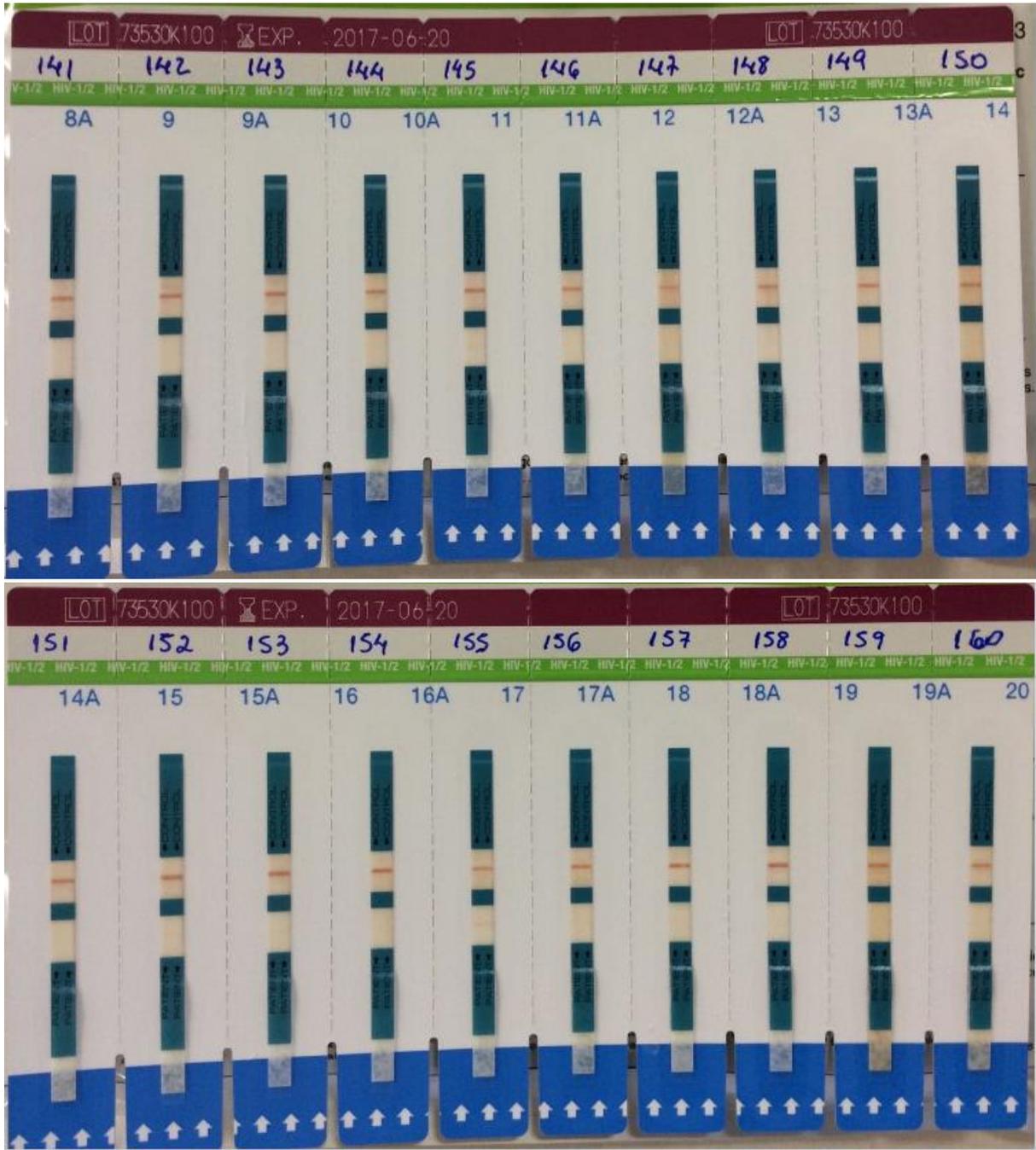


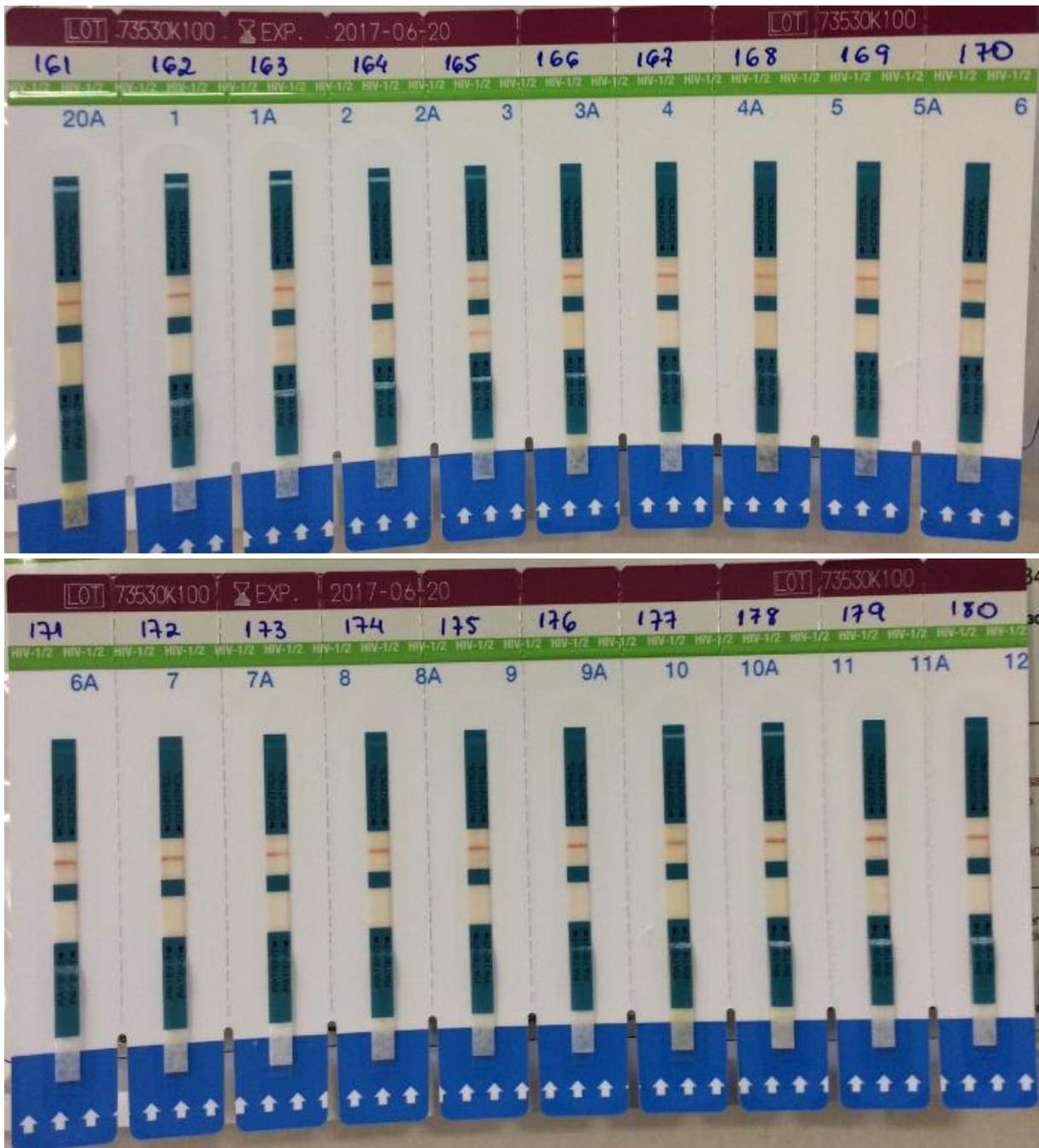


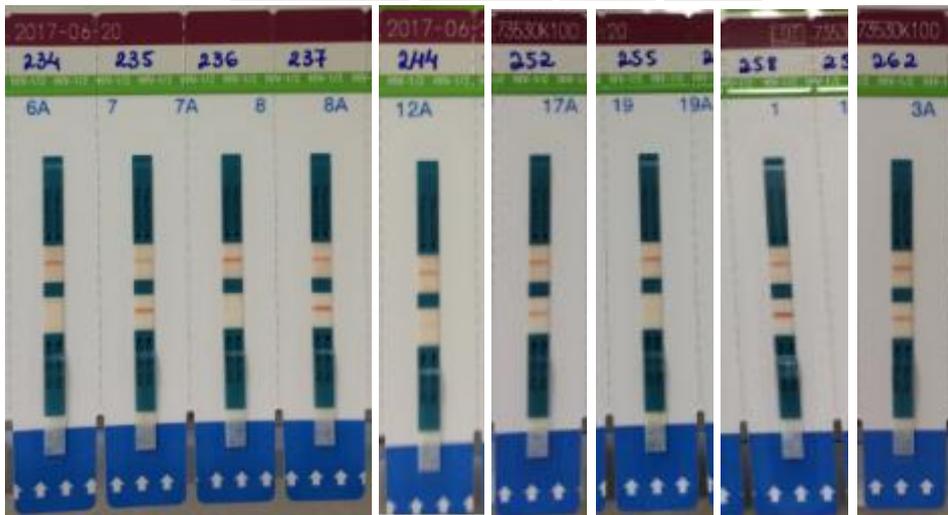
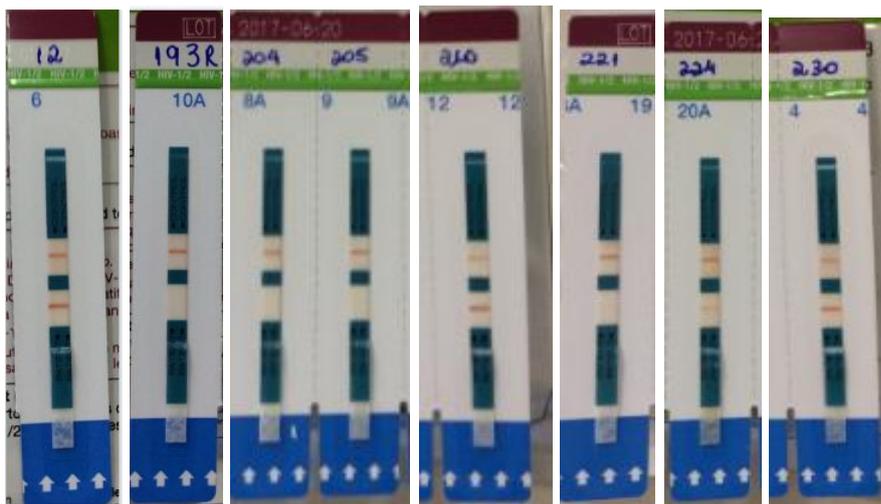


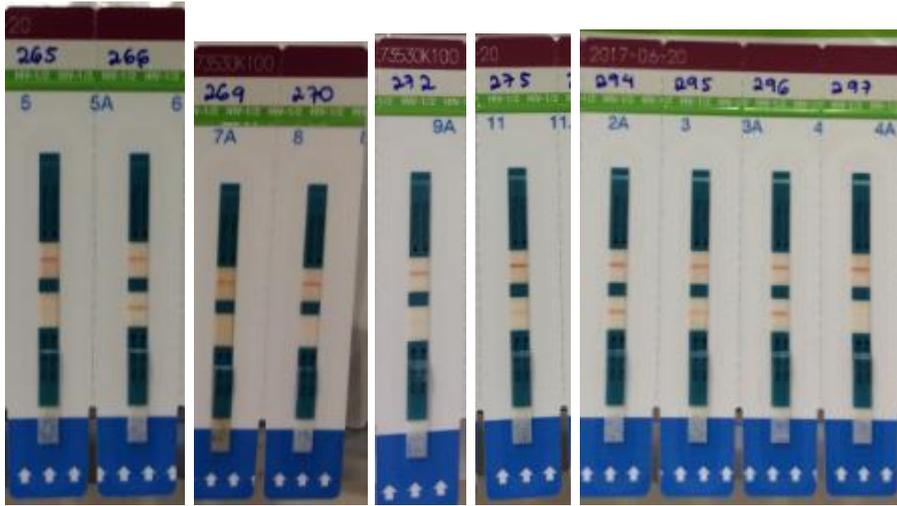












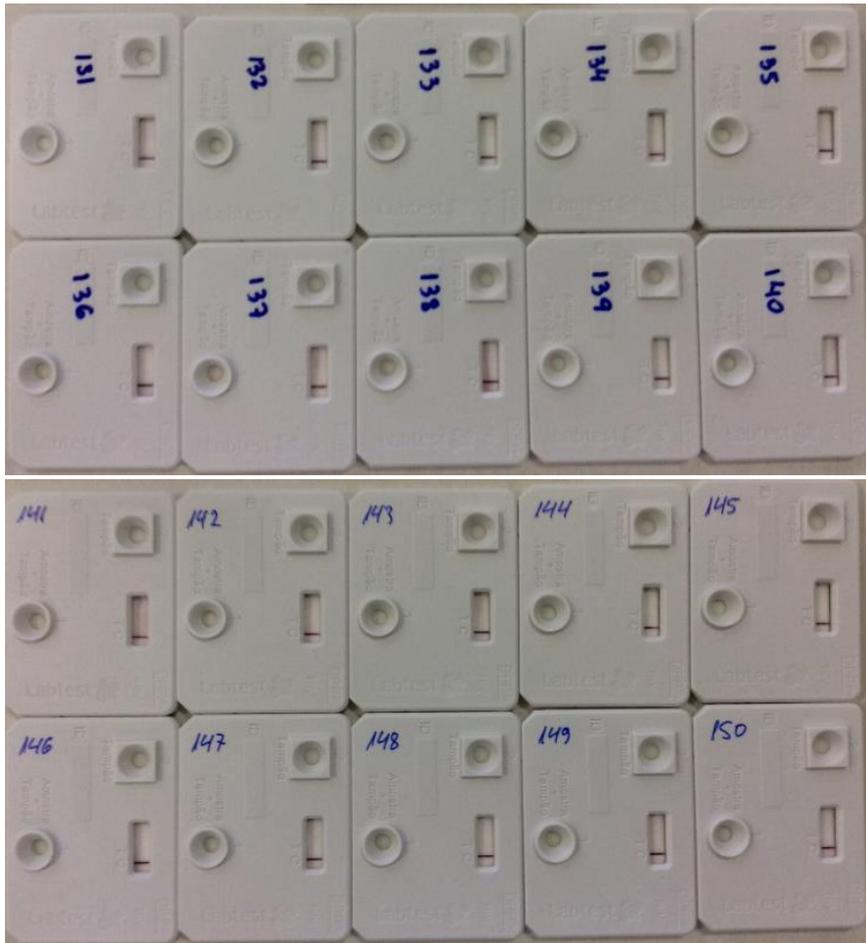
### DPP Rapid Test HIV 1/2 (Labtest)

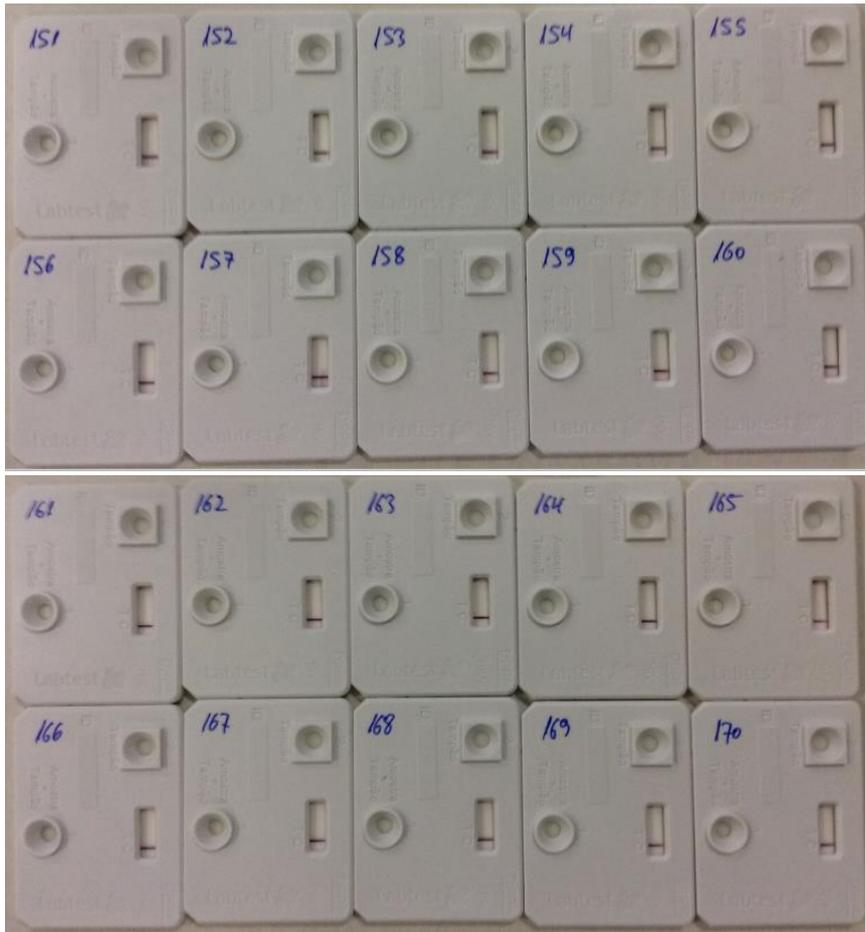


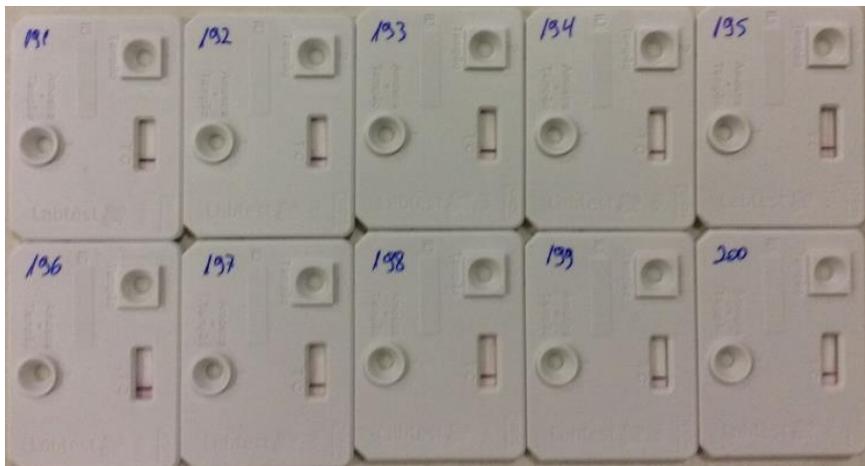






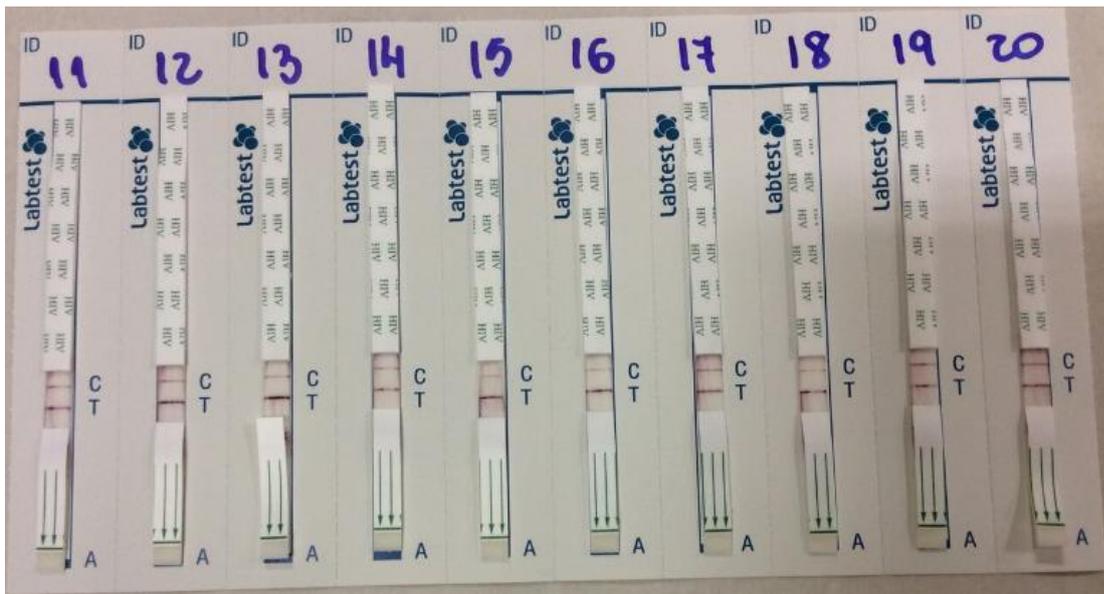
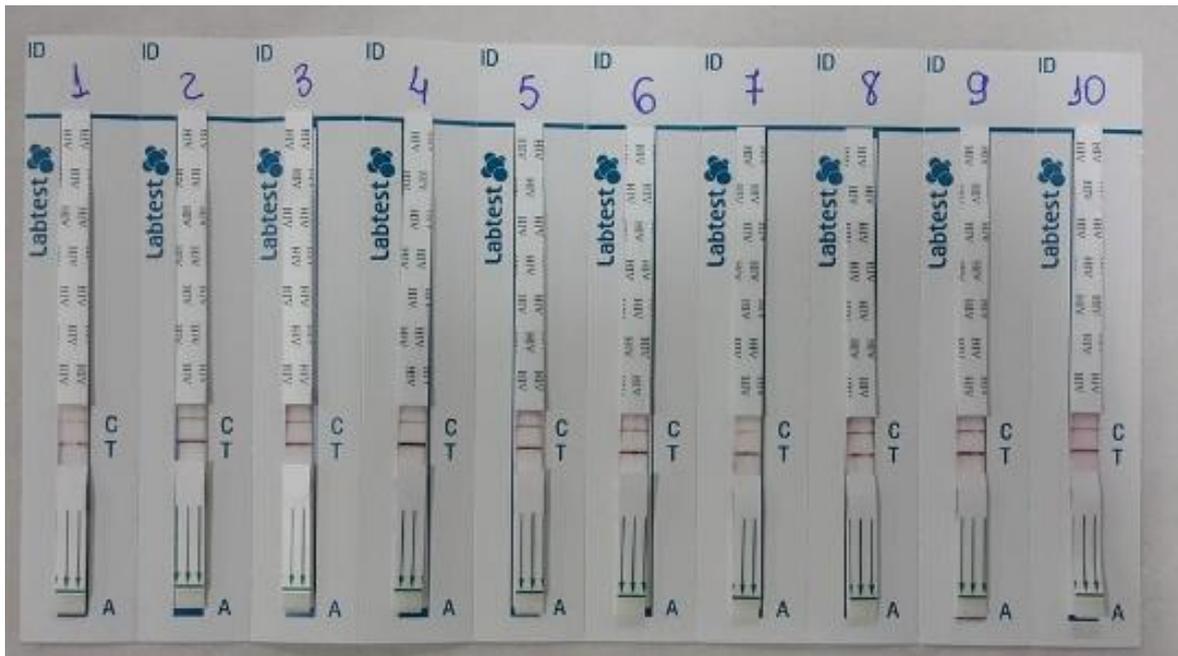


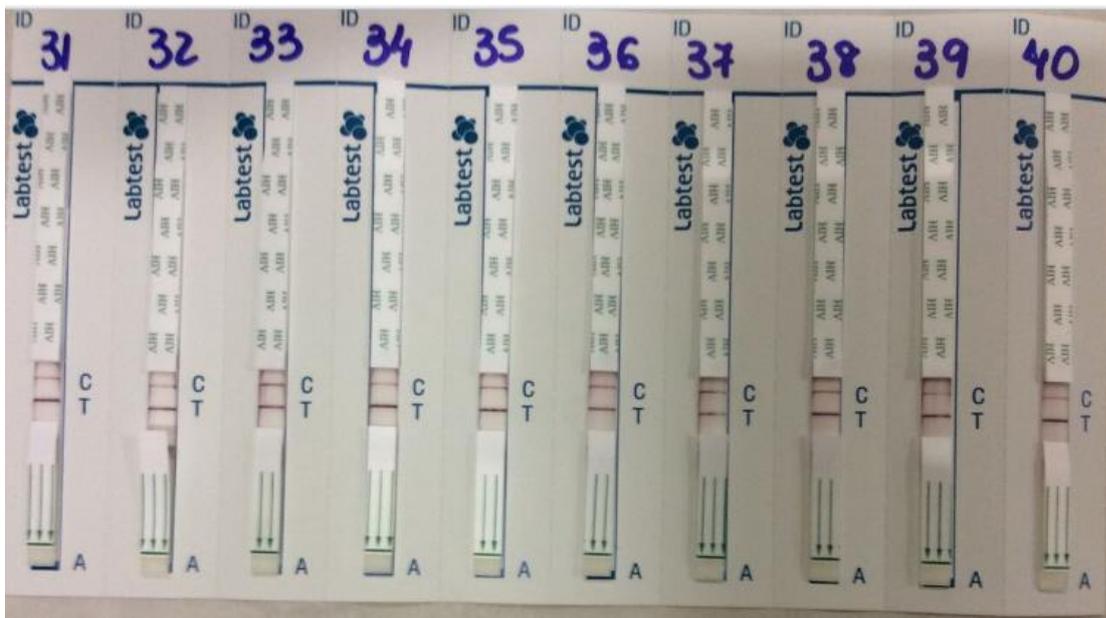
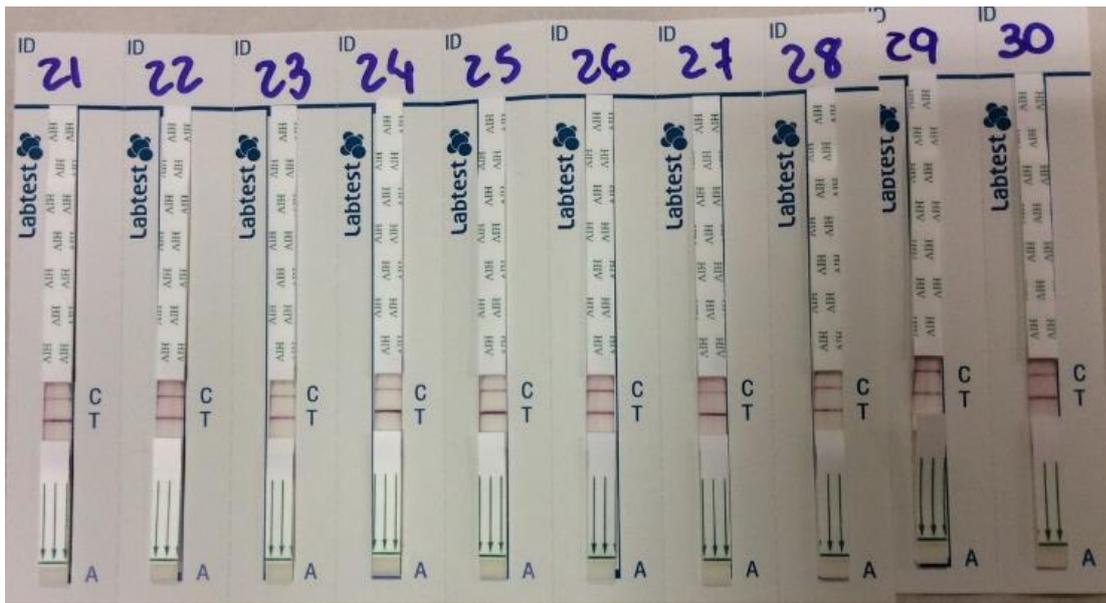


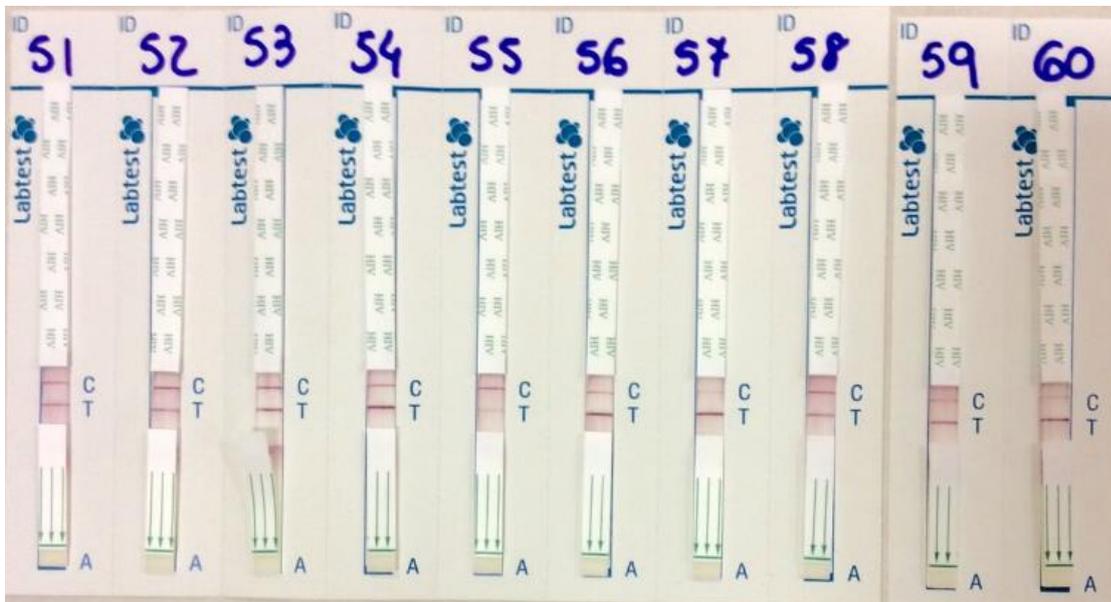
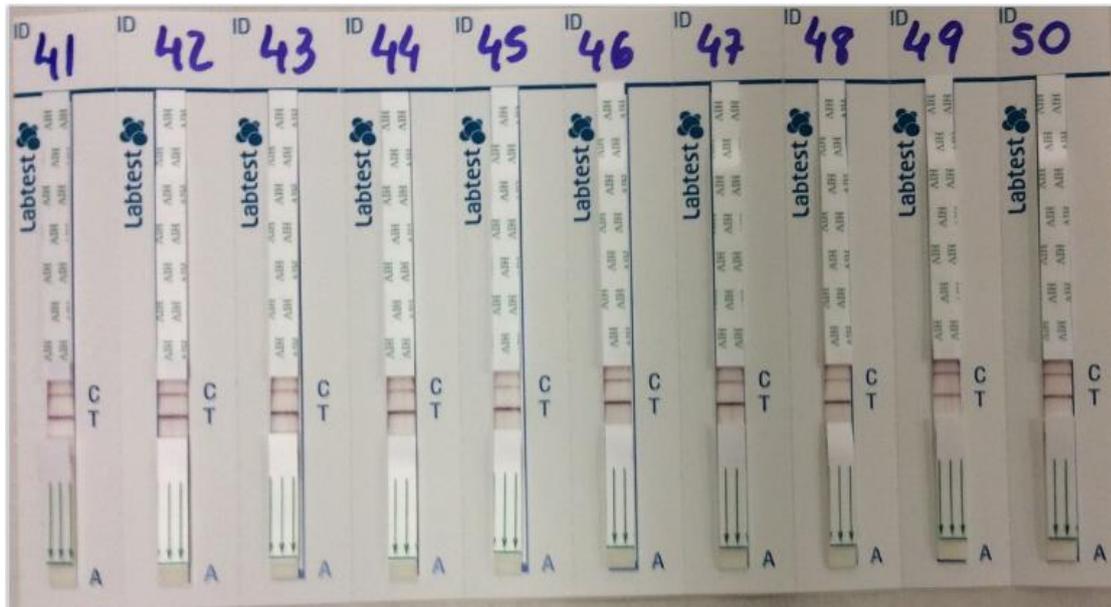


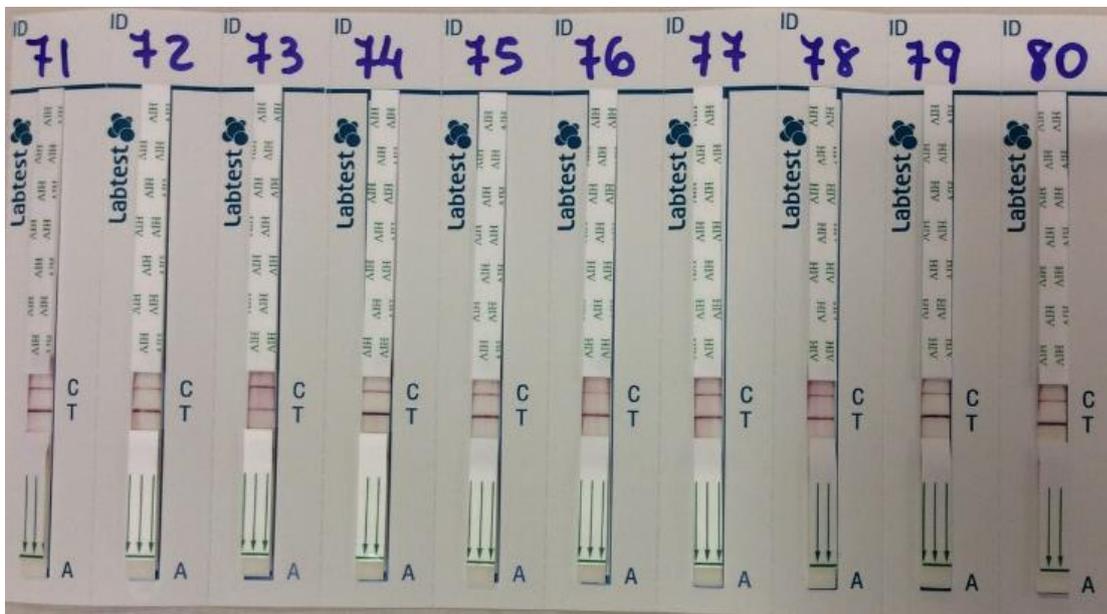
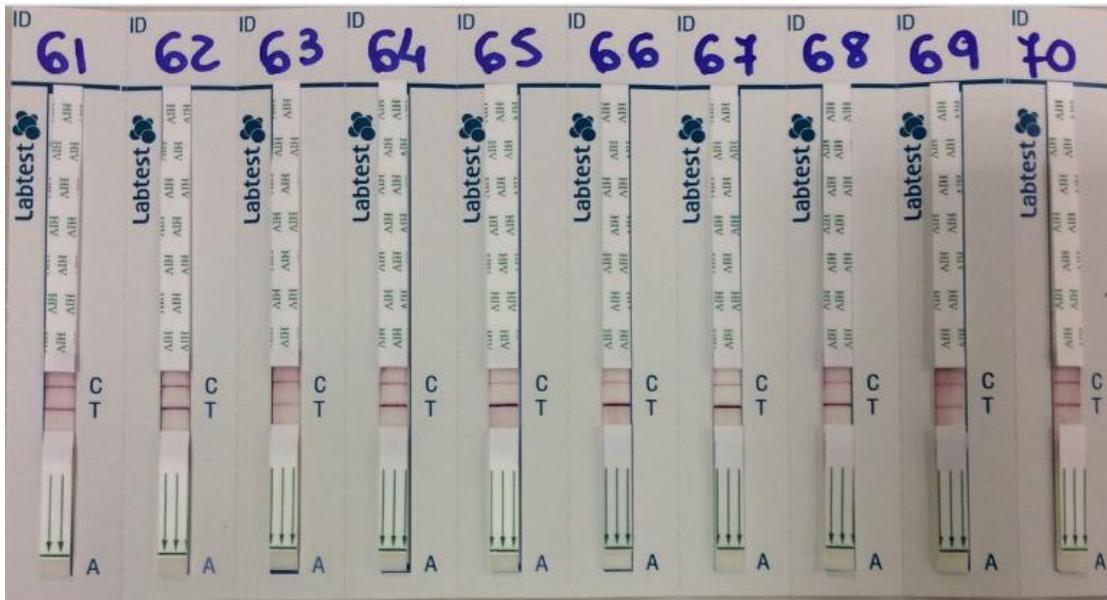


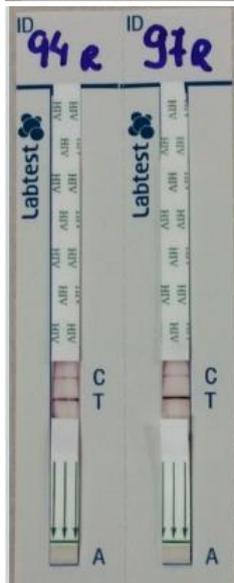
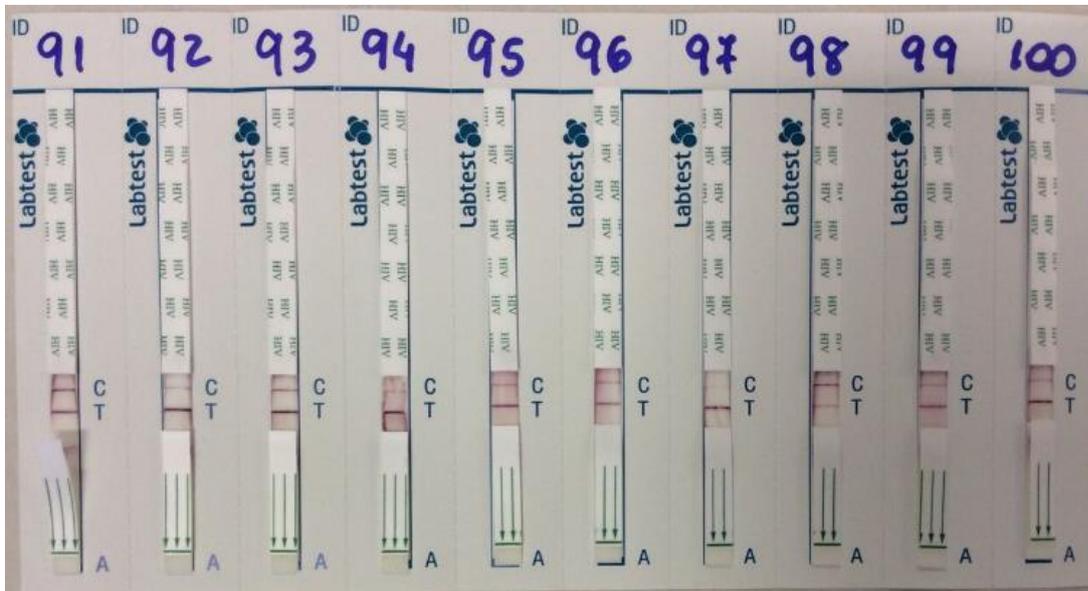
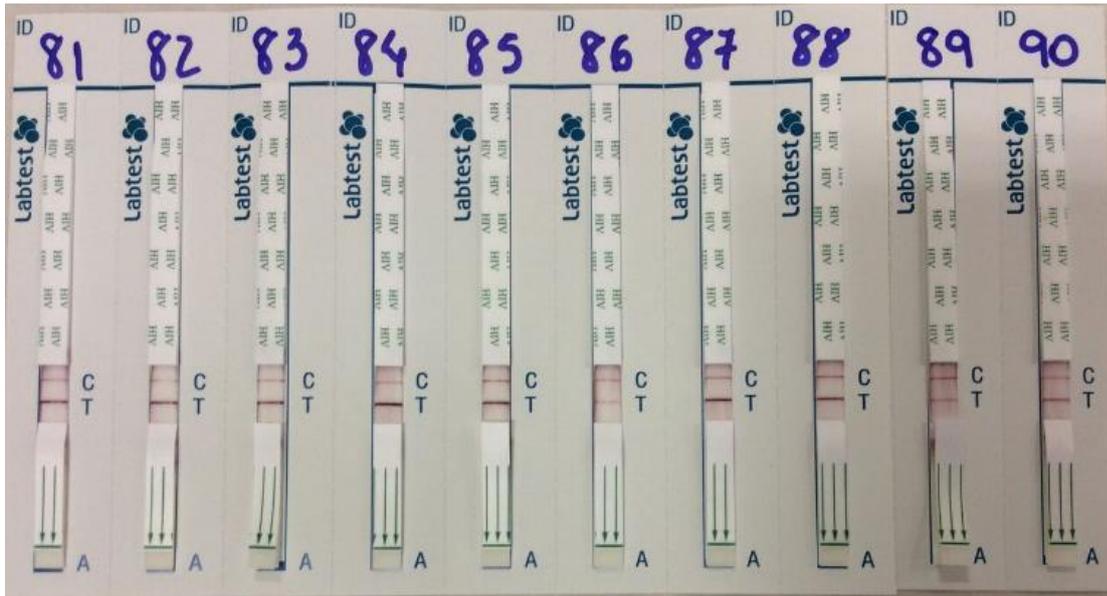
### DS Rapid Test HIV (Labtest)

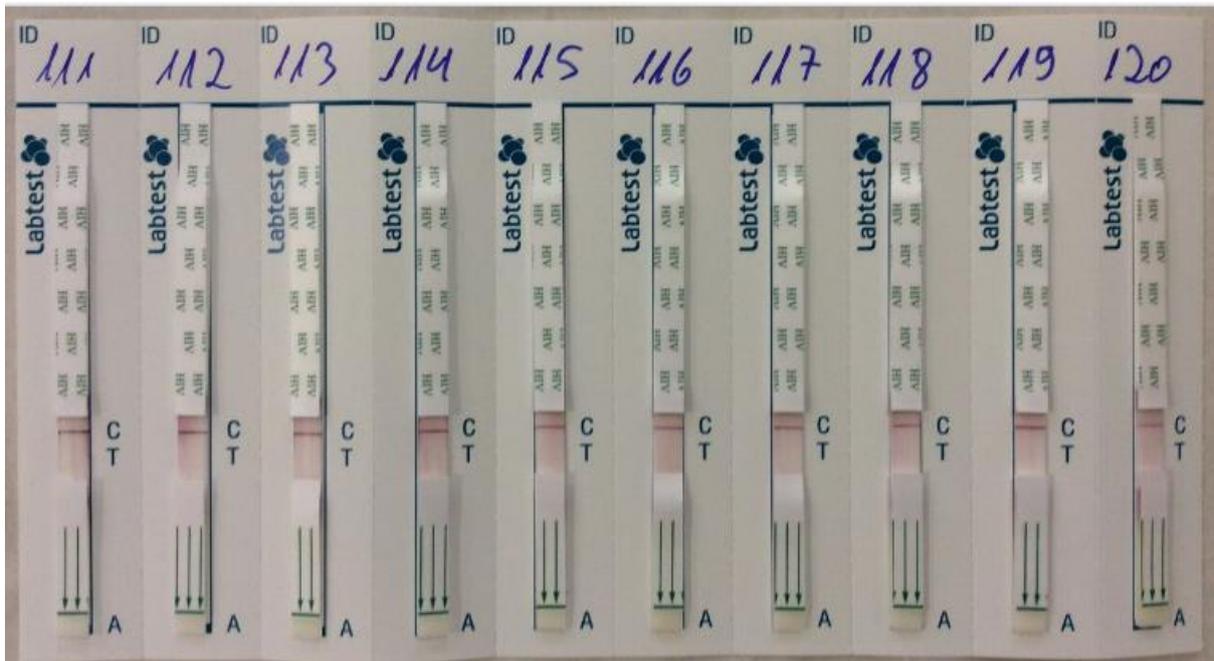
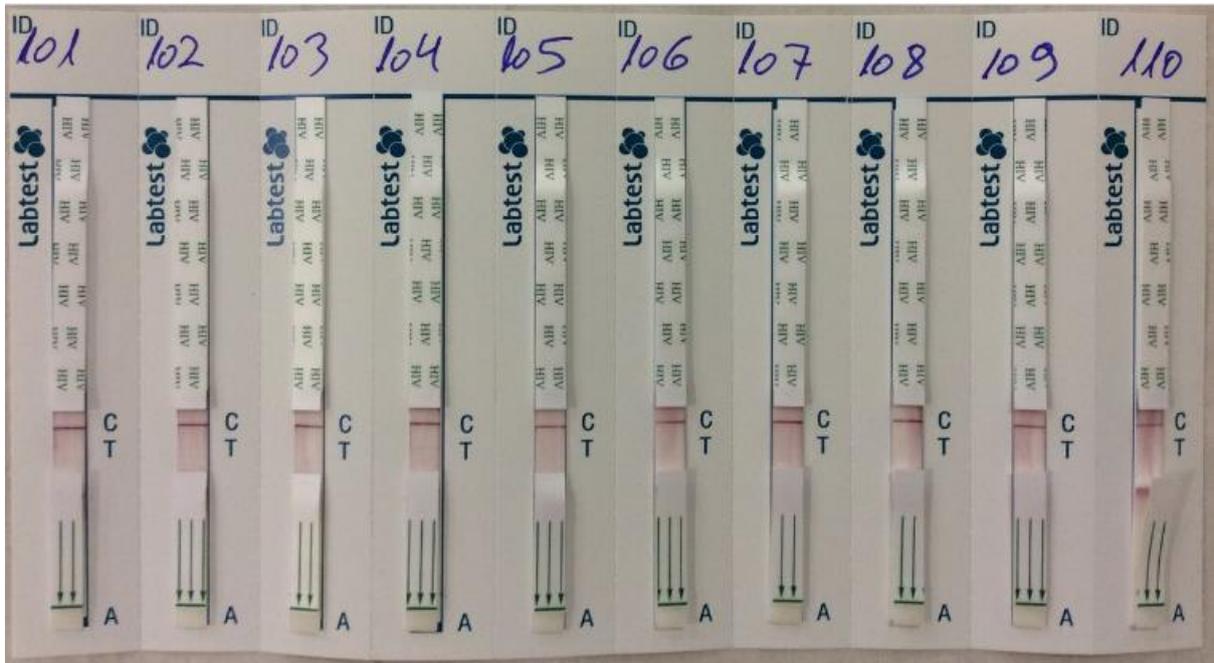


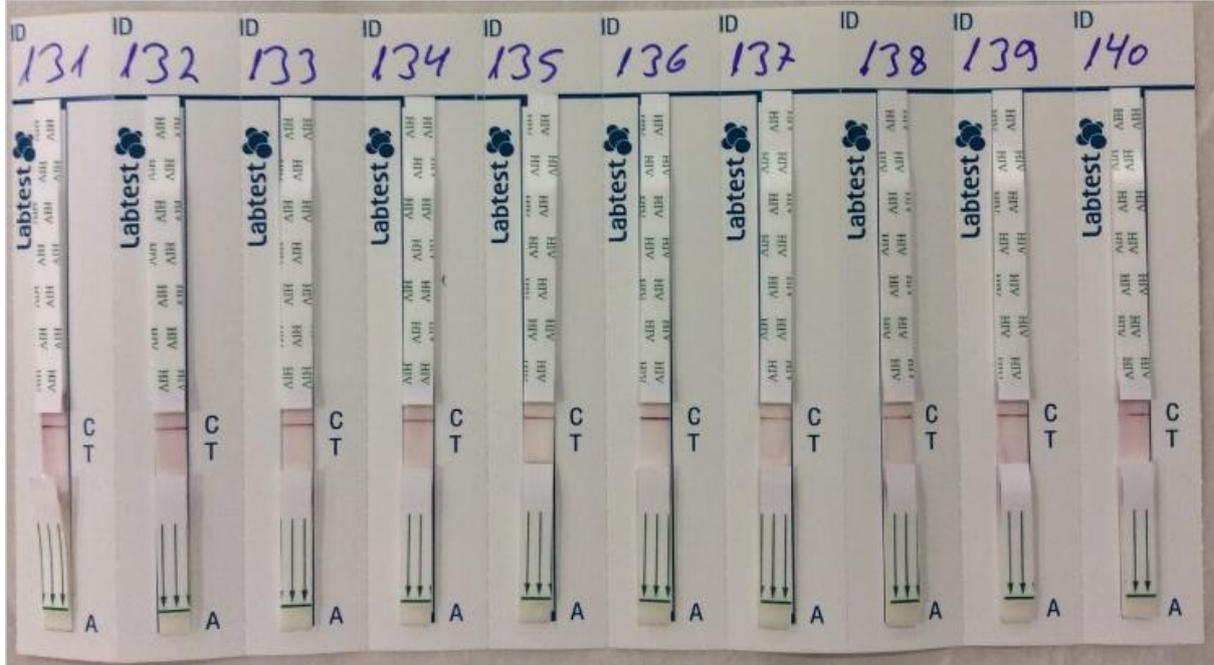
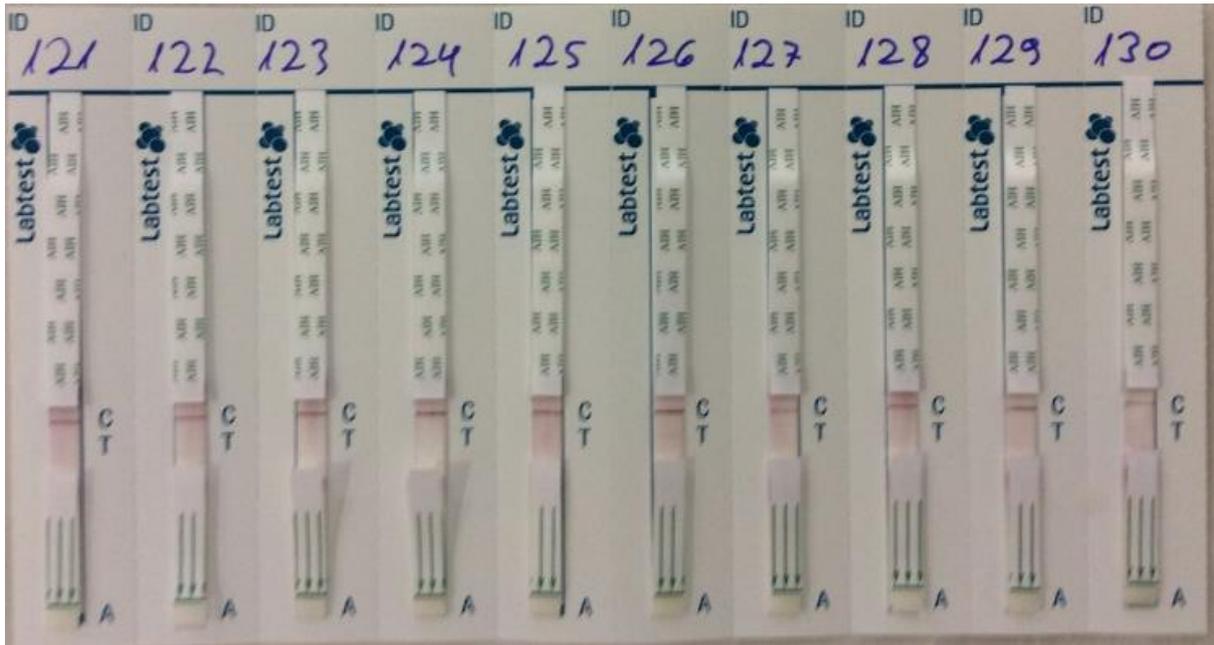


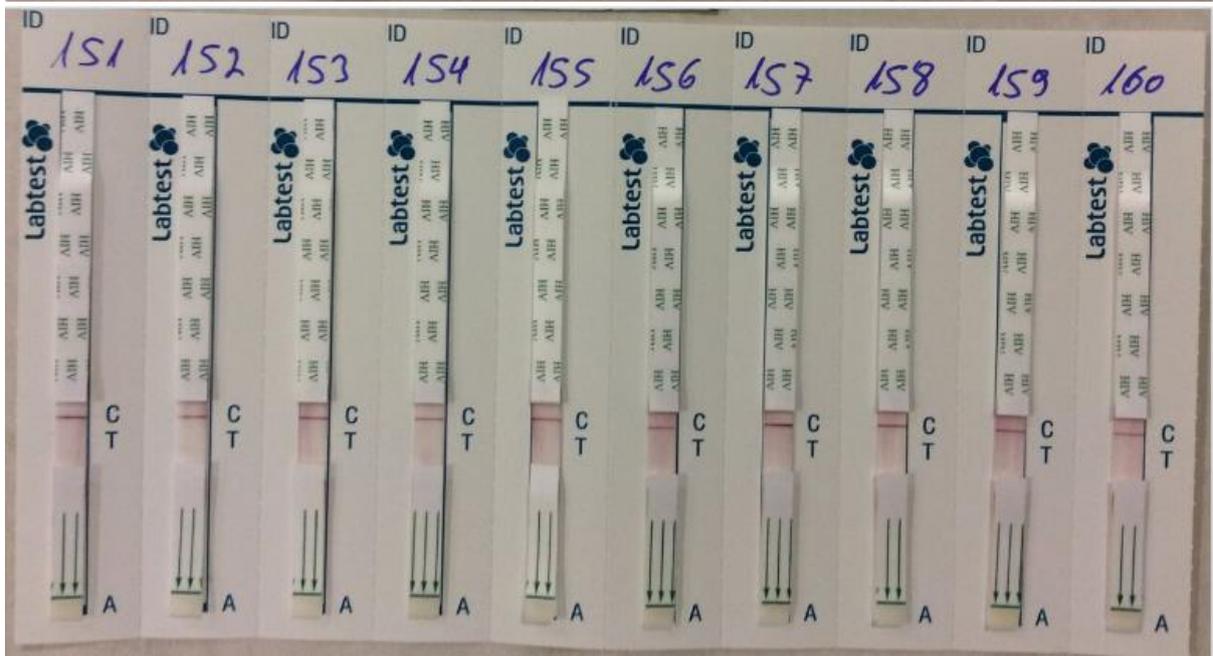
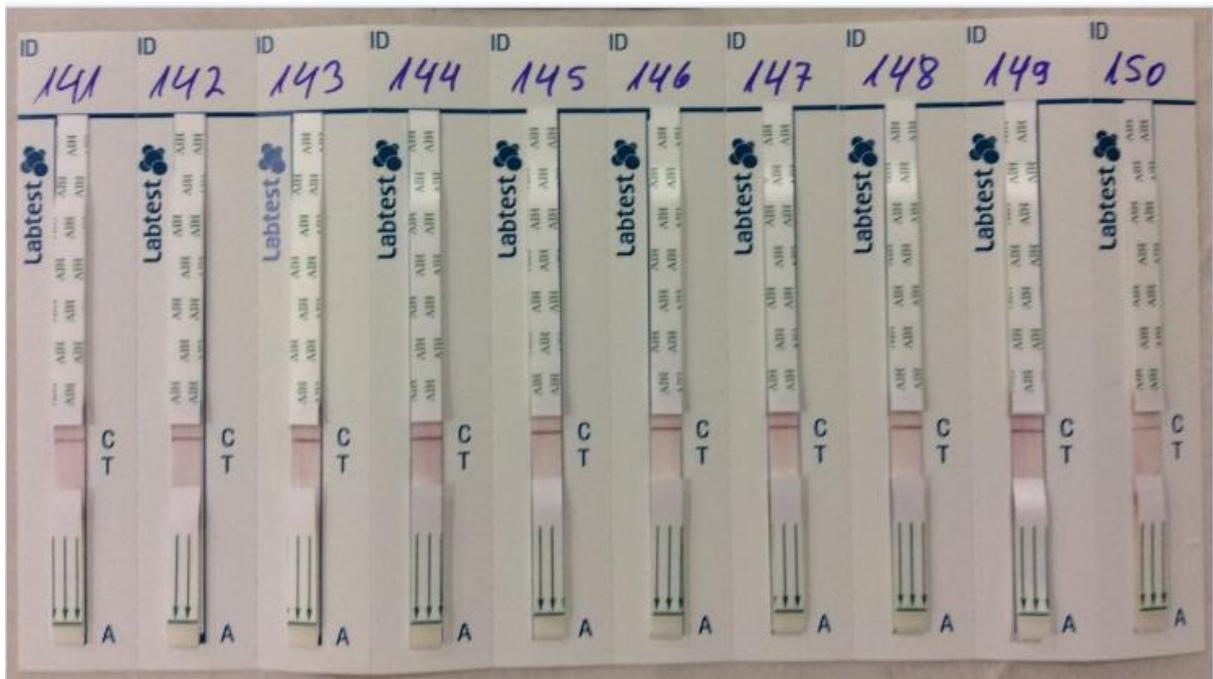


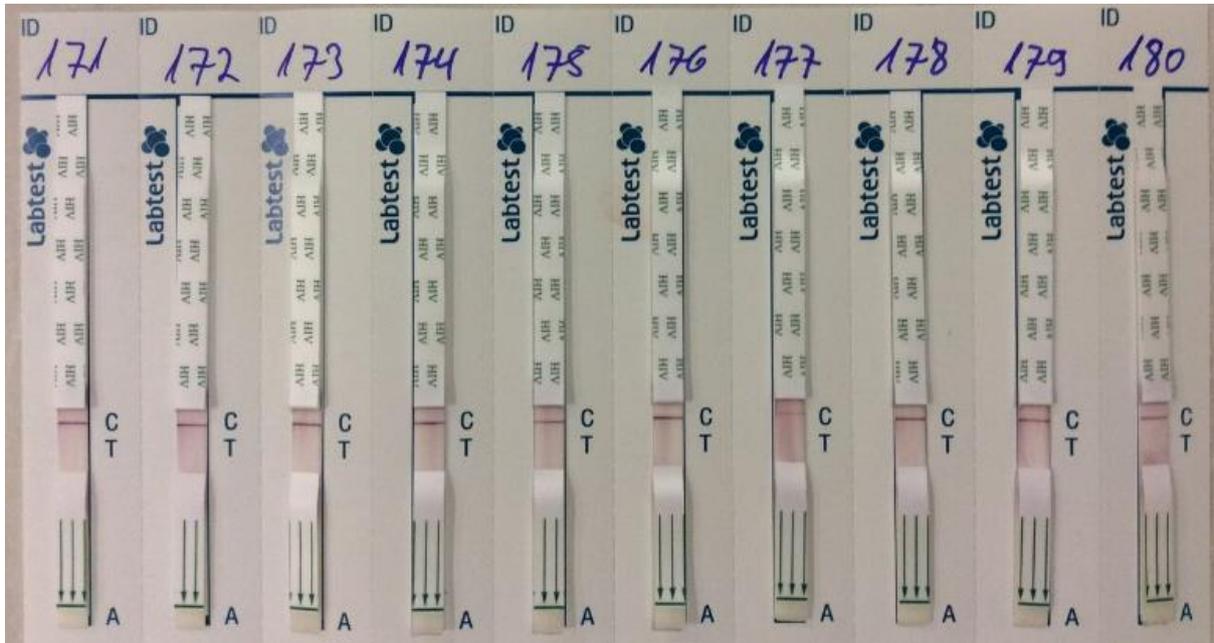
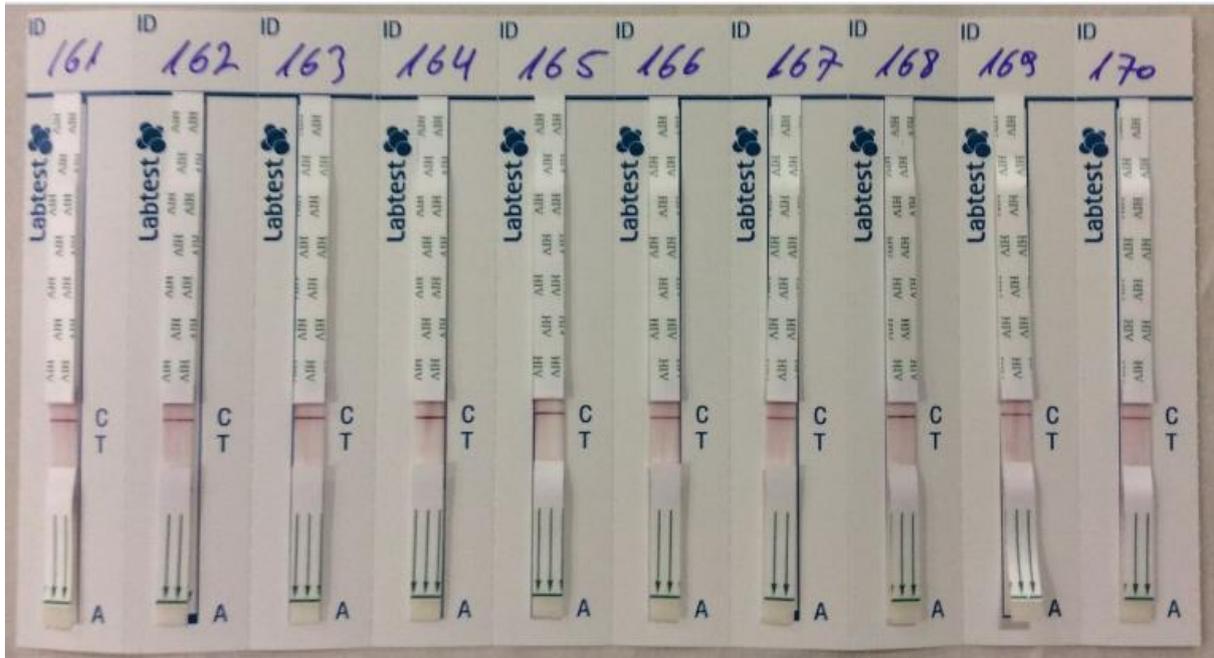


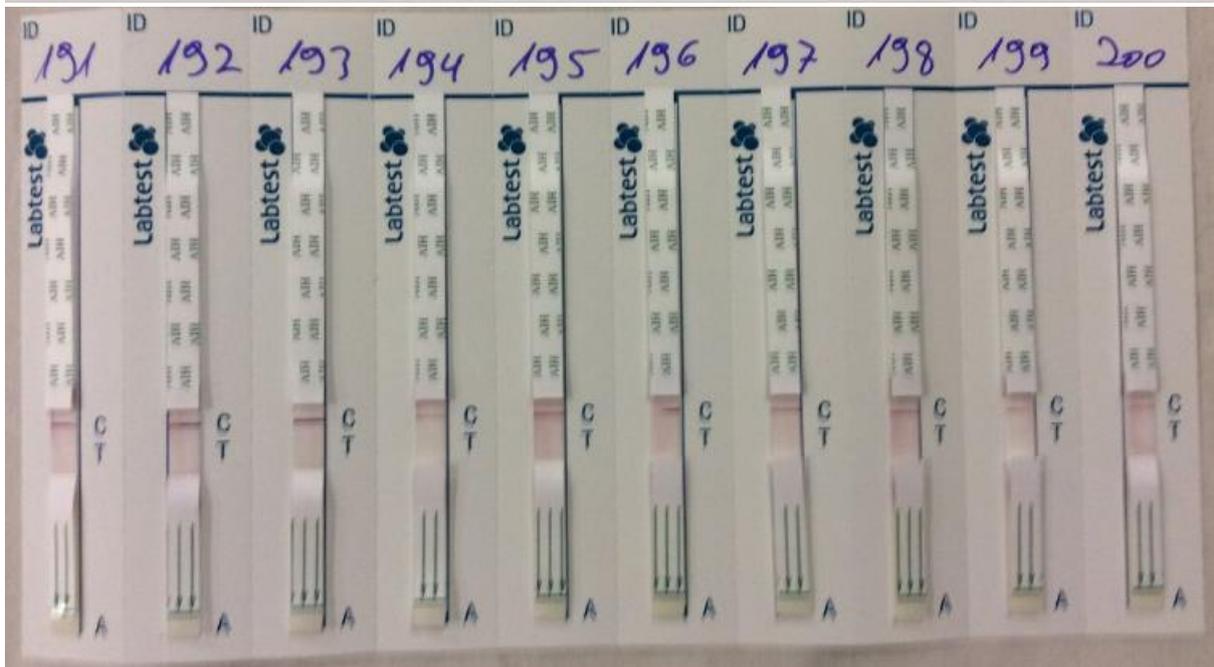
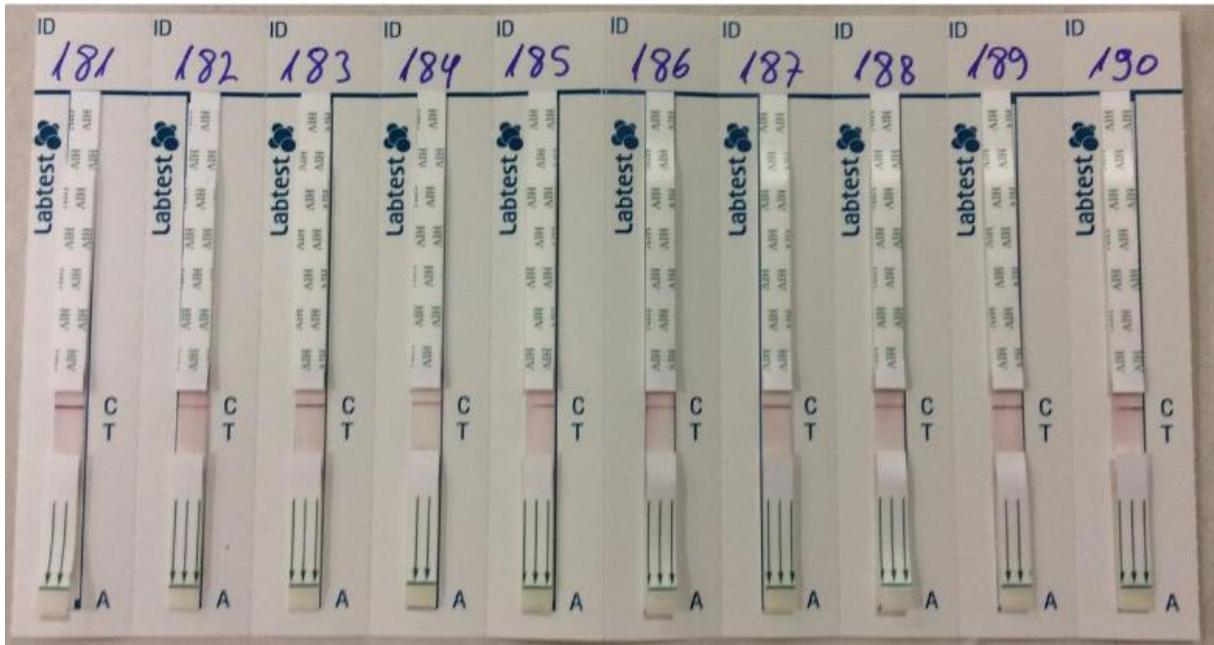




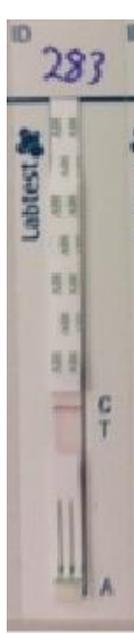








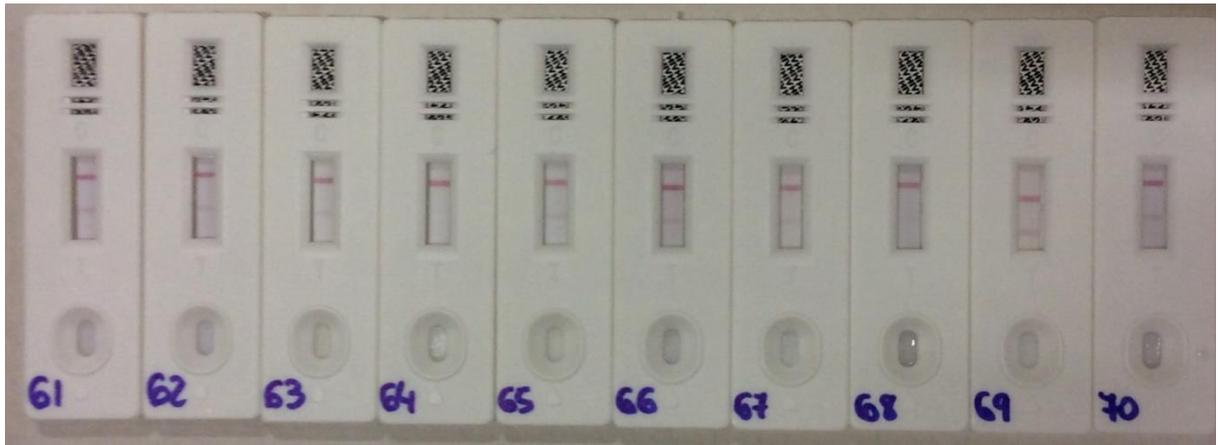


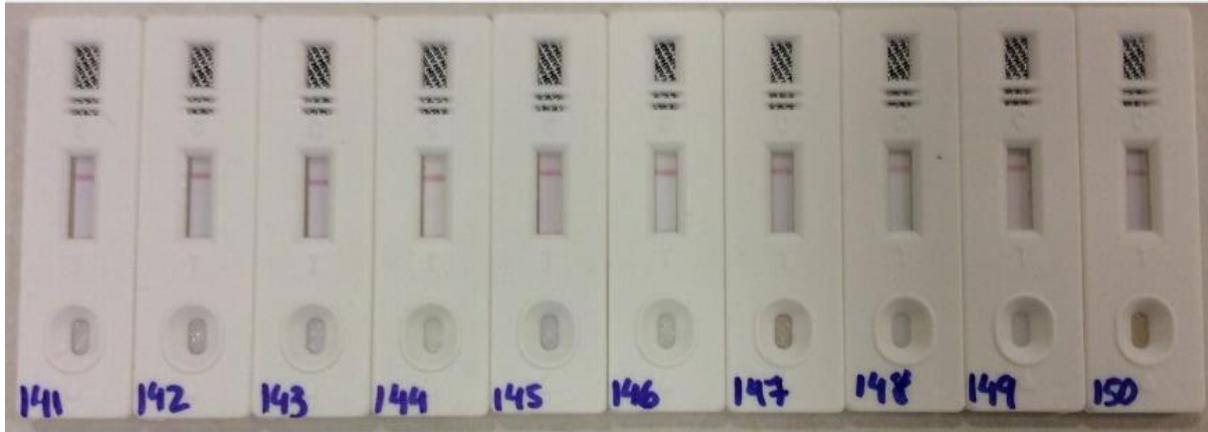


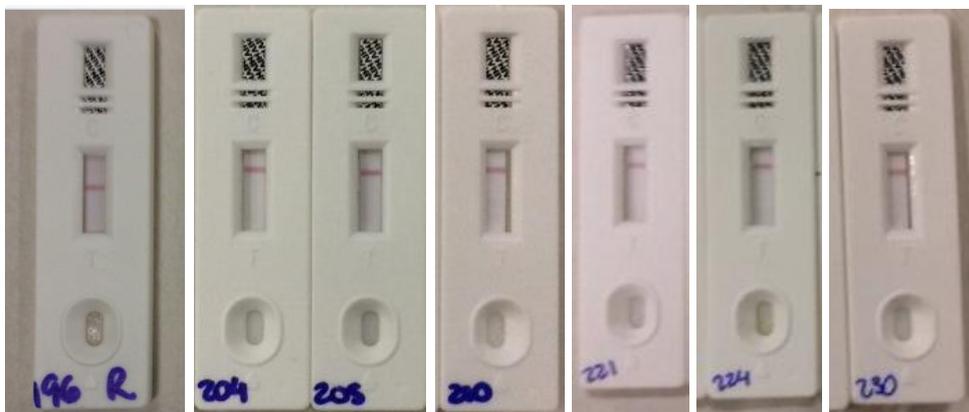
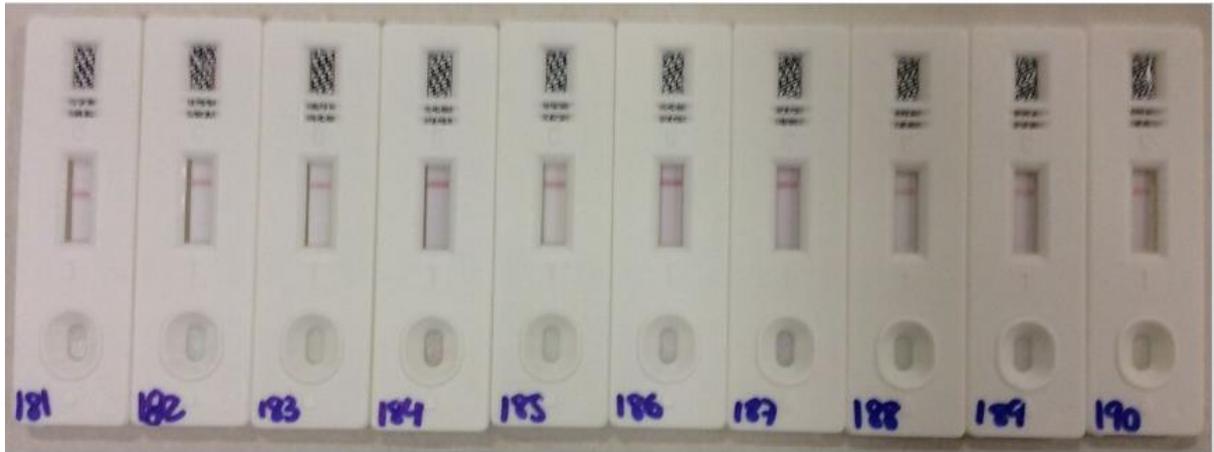
**Imunocrom HIV 1+2 (MBiolog)**

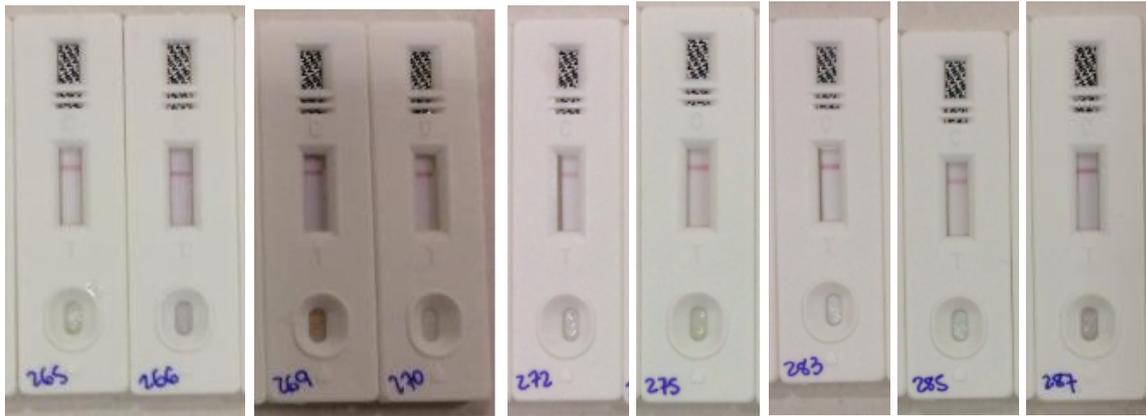
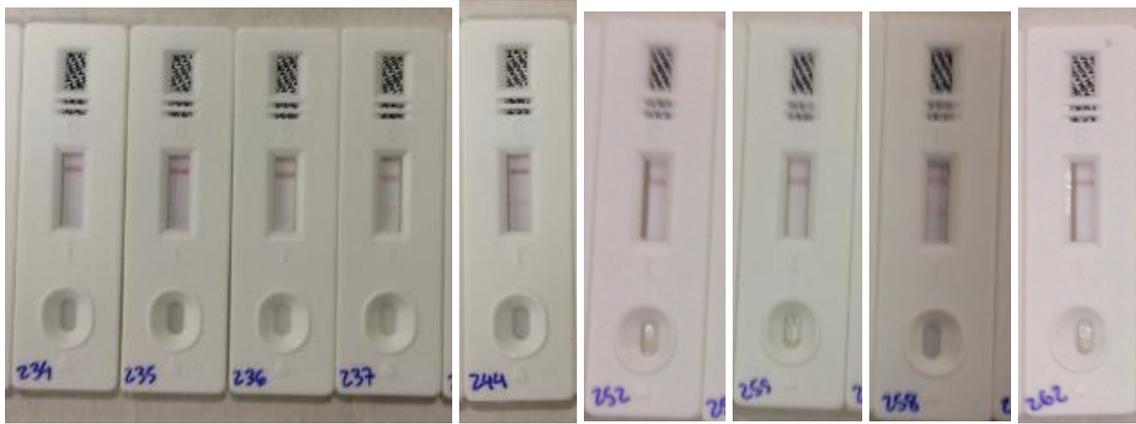








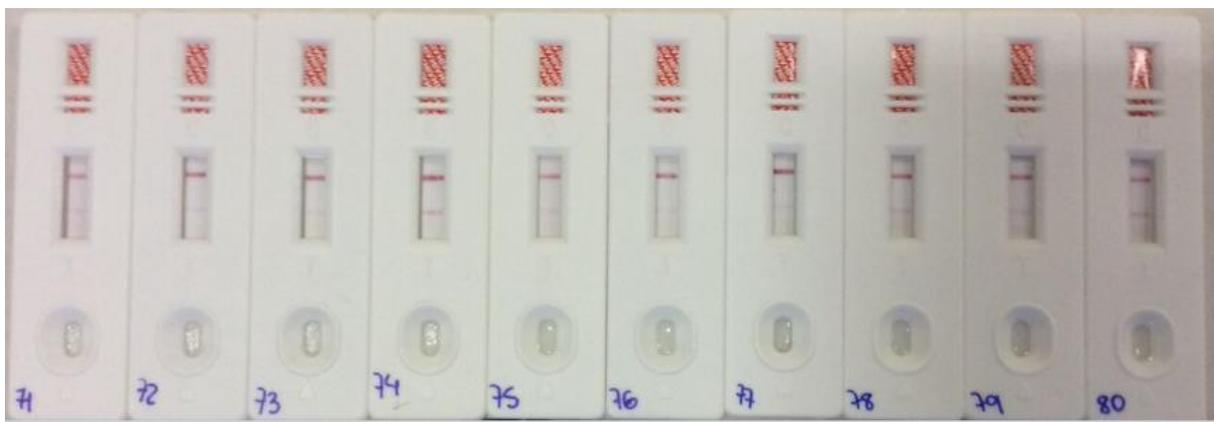
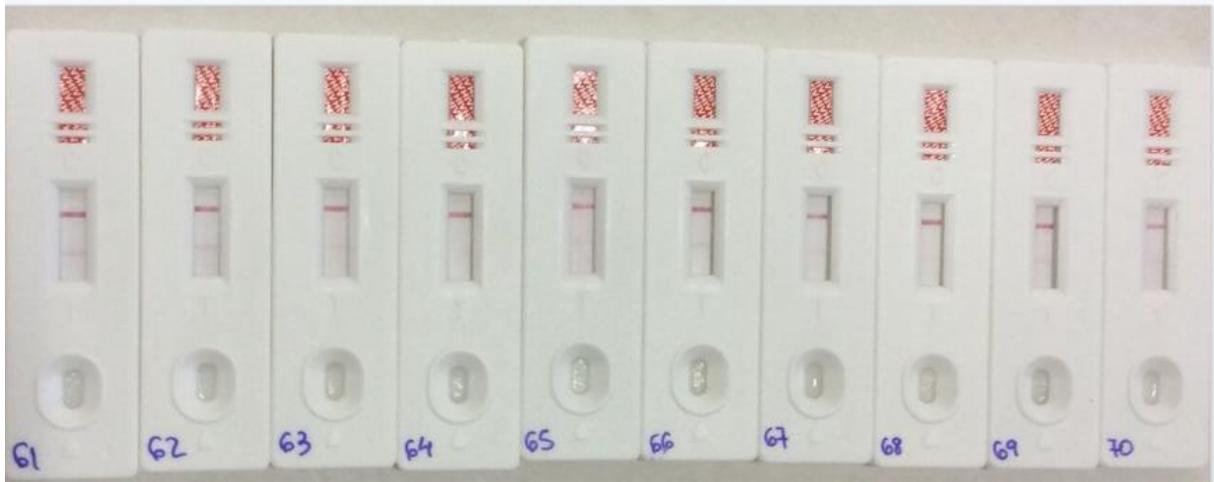


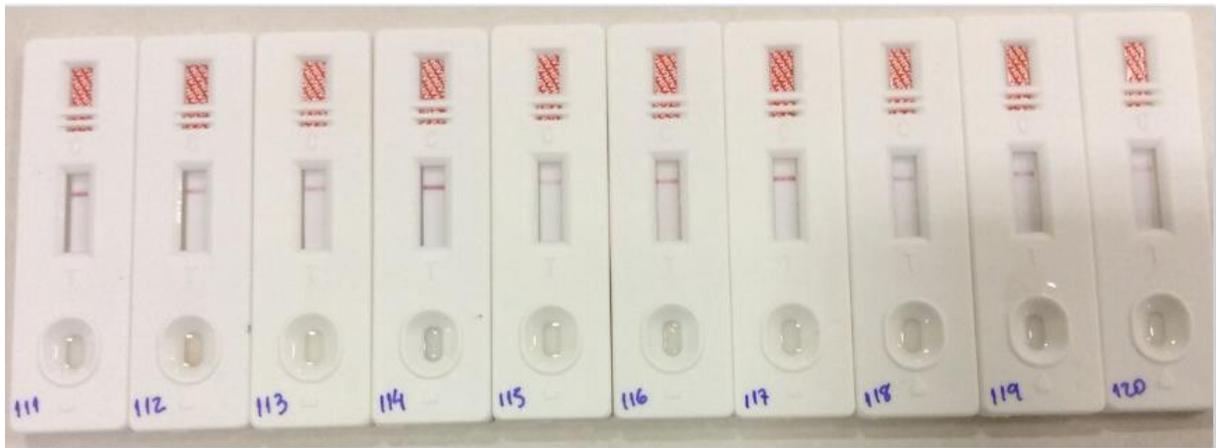


**Imuno-rápido HIV 1&2 (Wama Diagnóstica)**

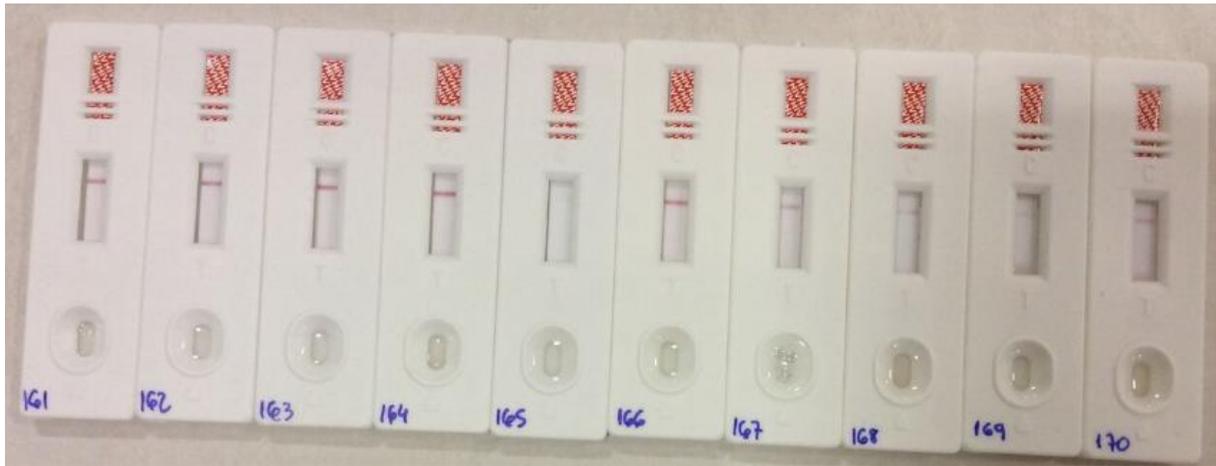


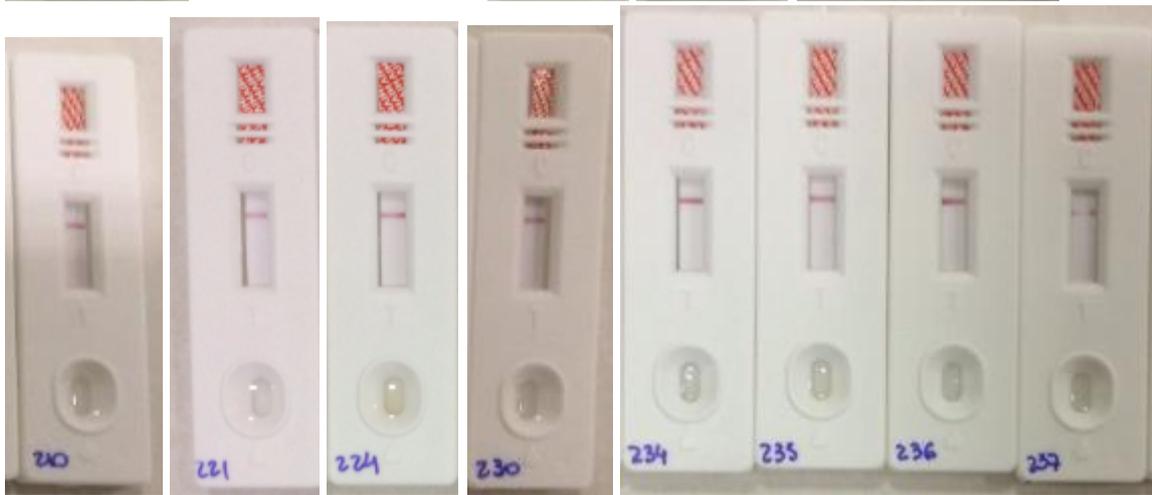
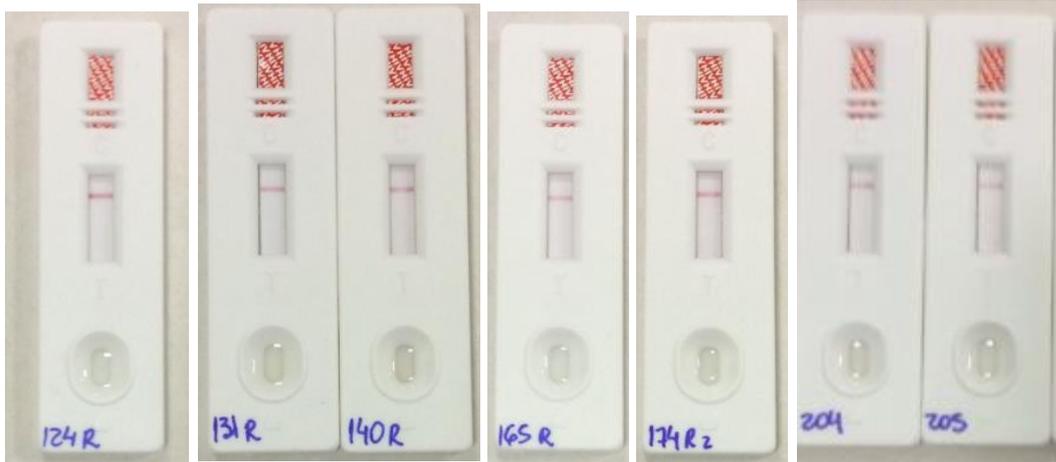






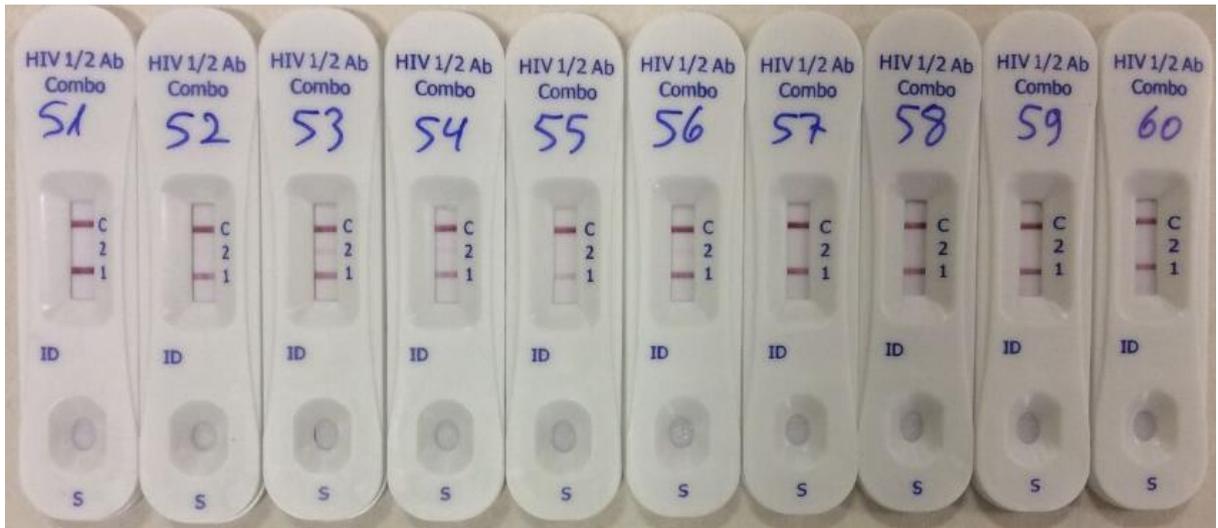
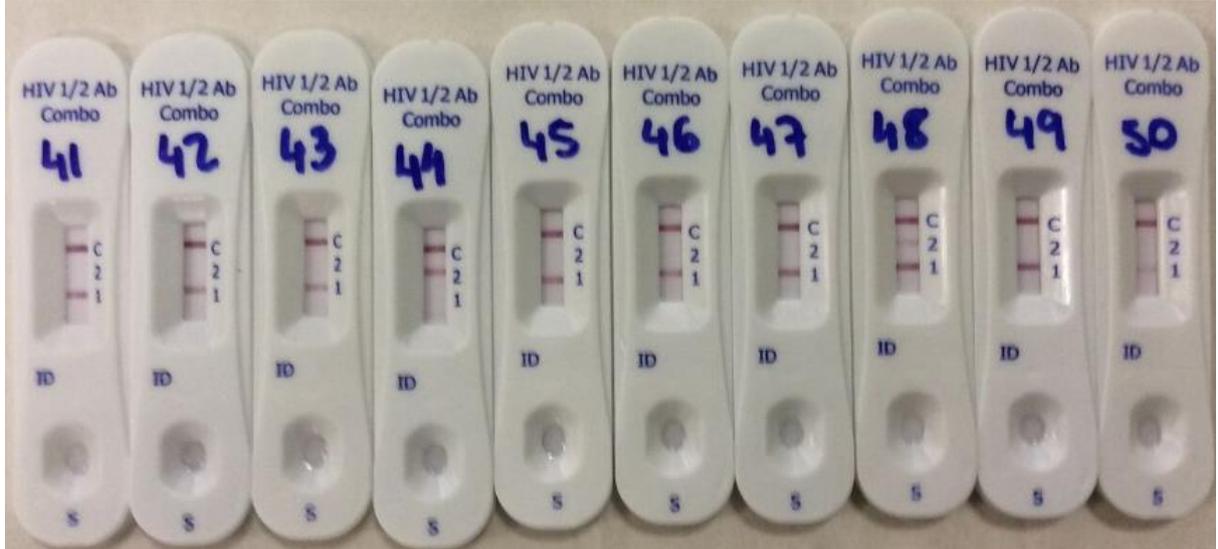
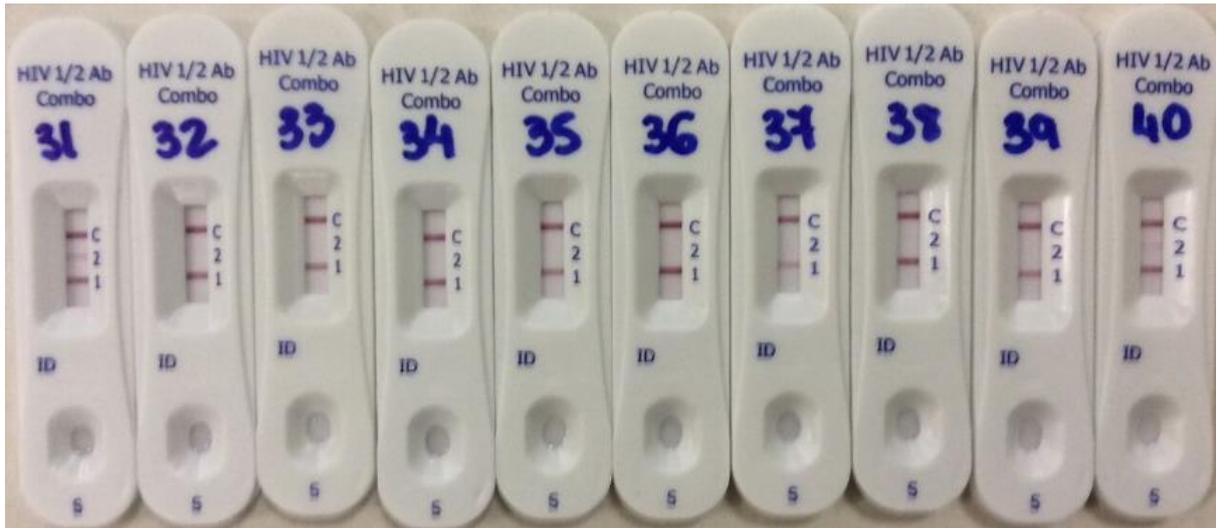


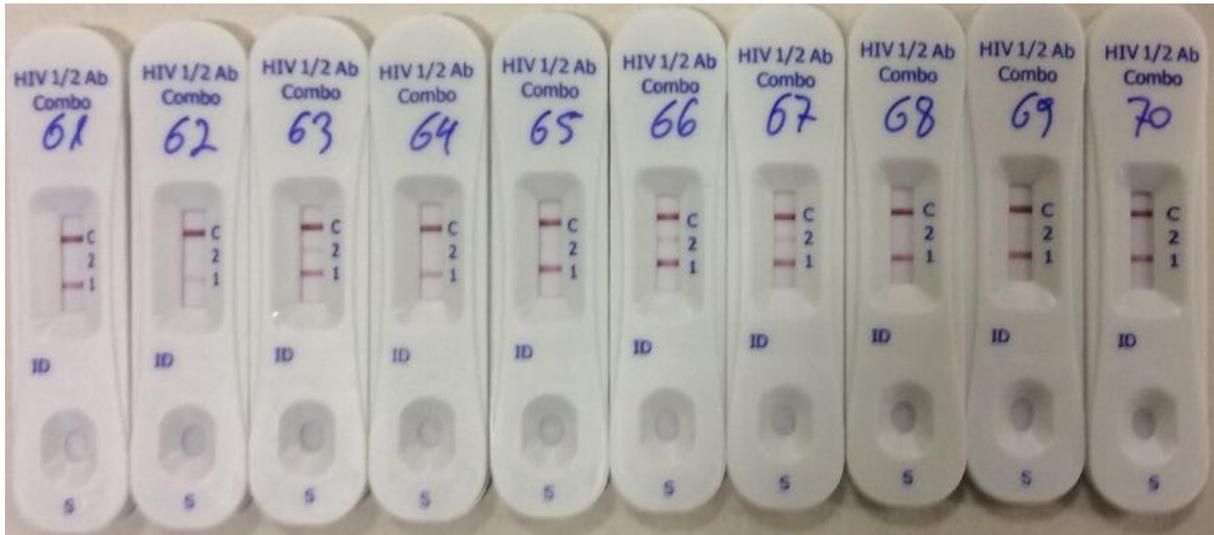




**Interkit HIV 1 e2 (Interteck Katal)**



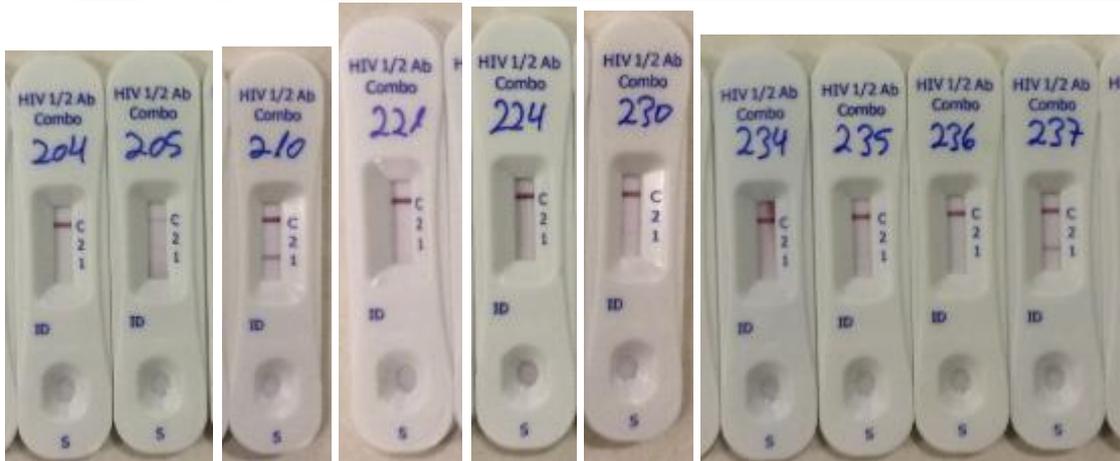


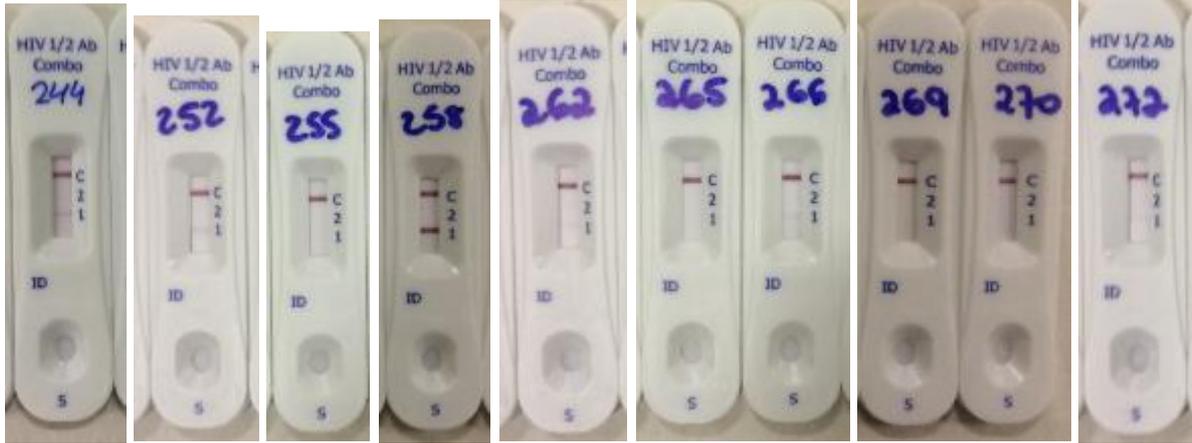




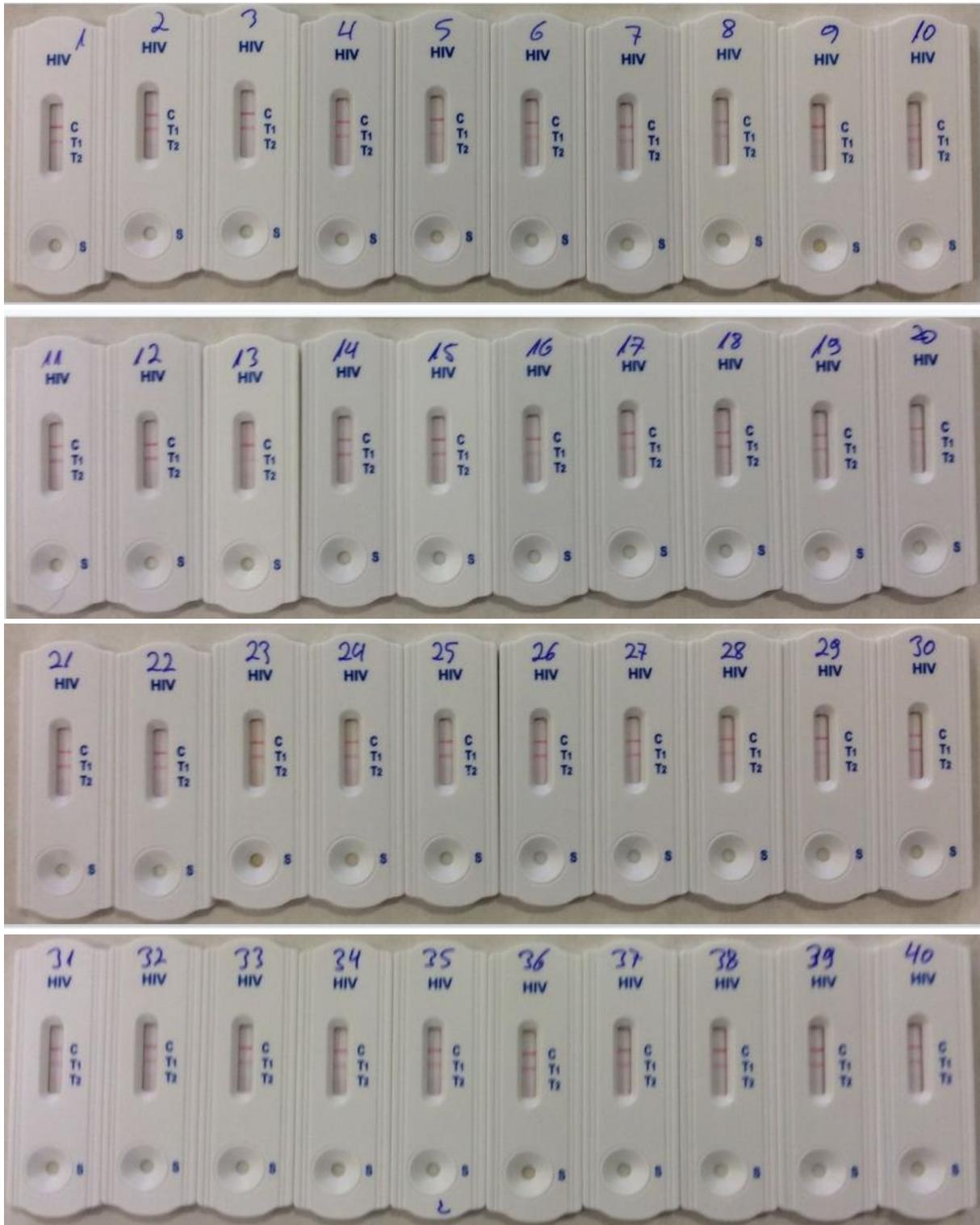


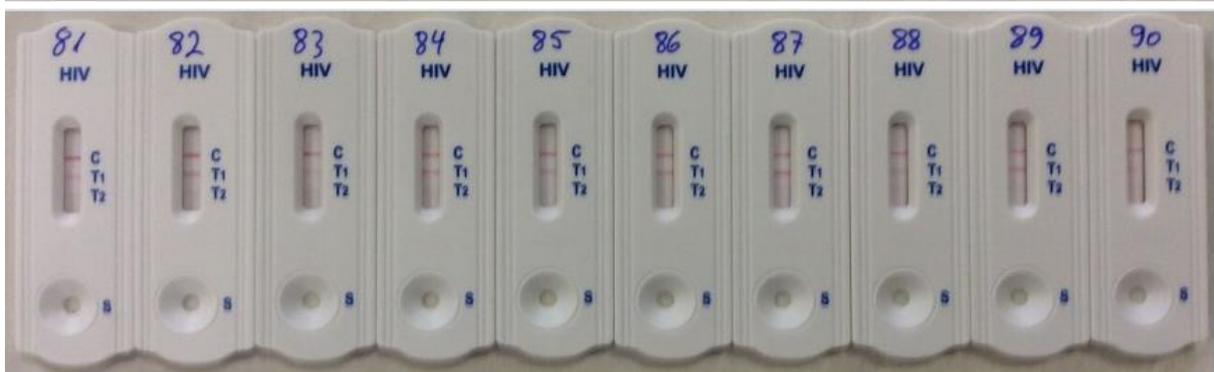
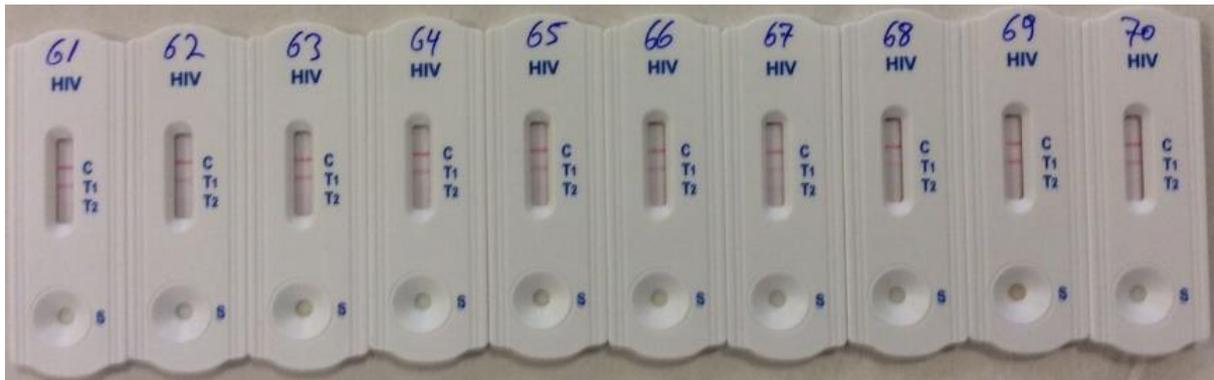
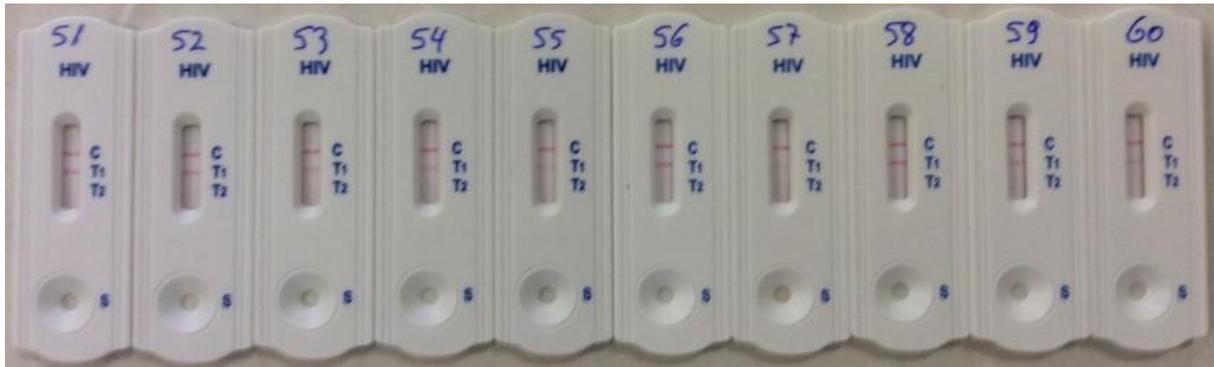
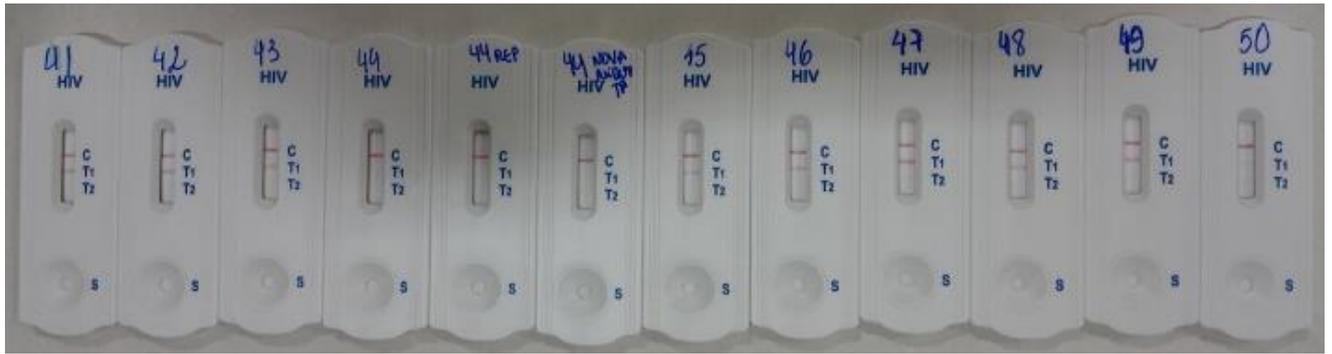


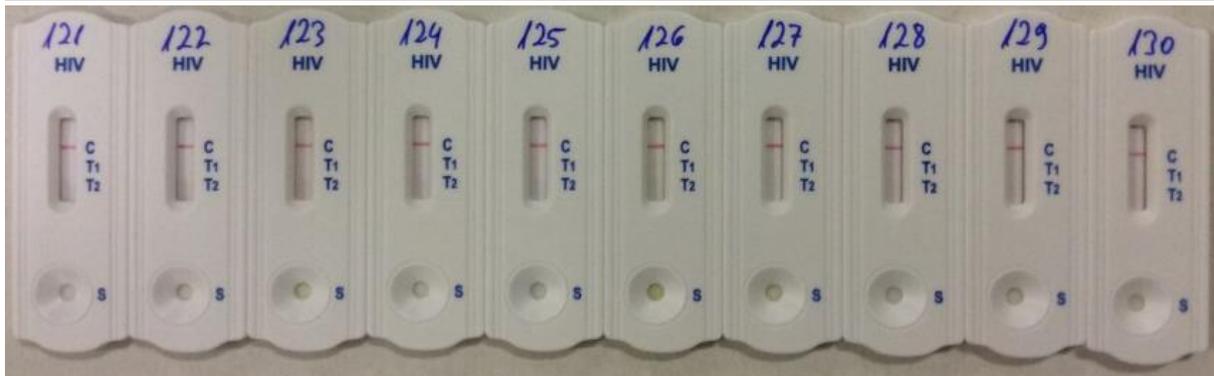
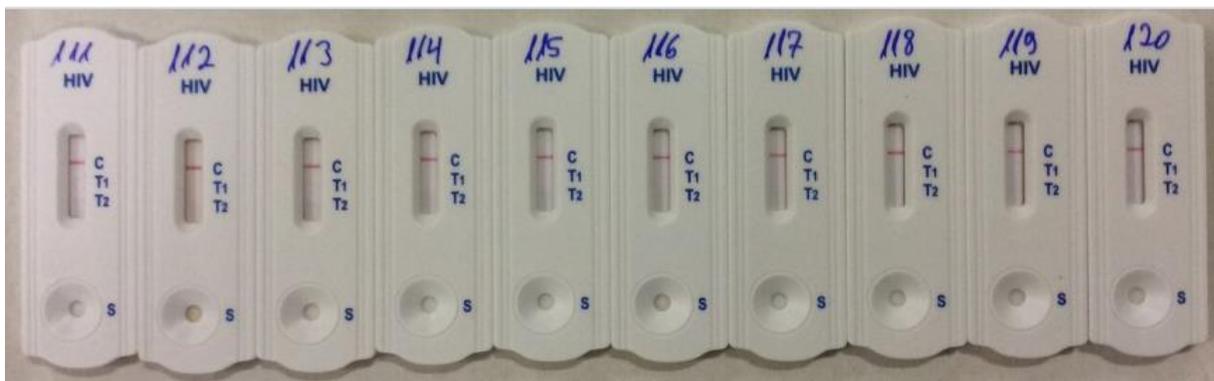
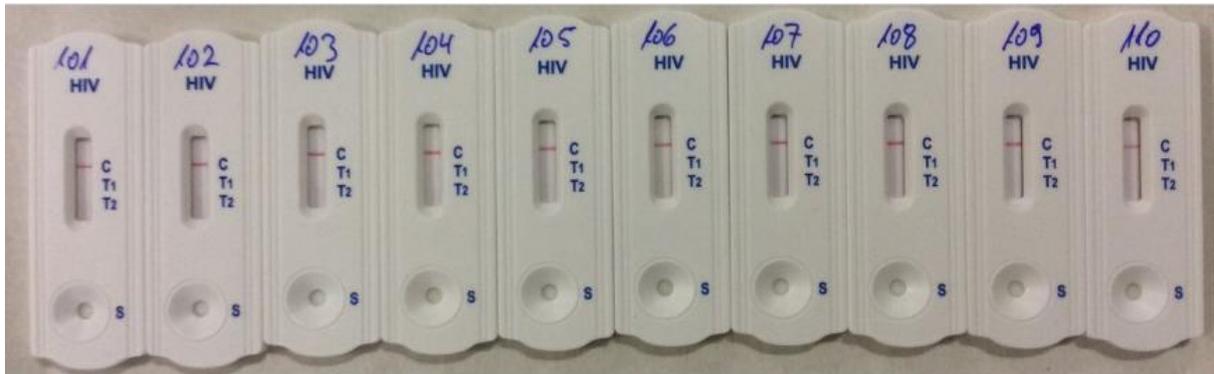
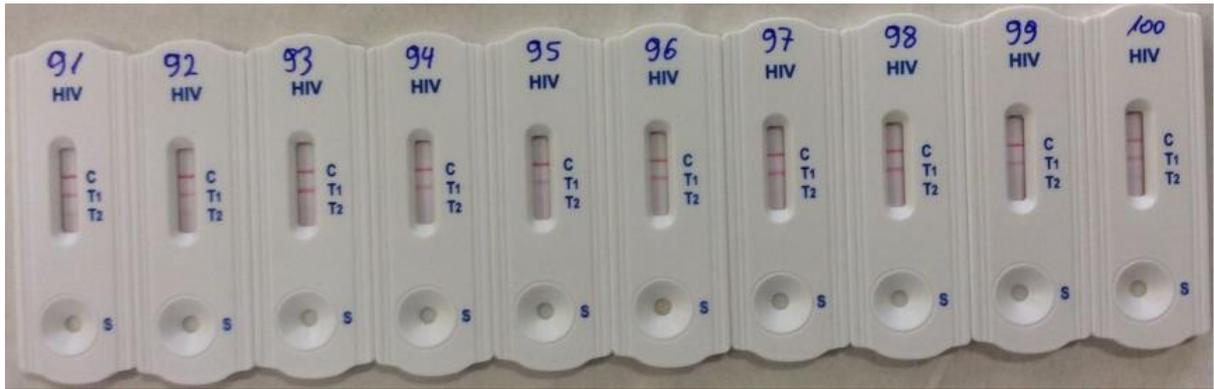


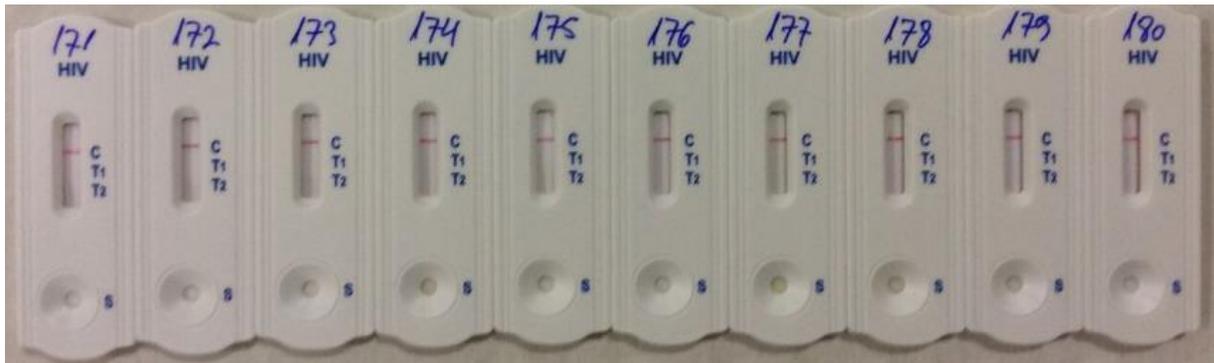
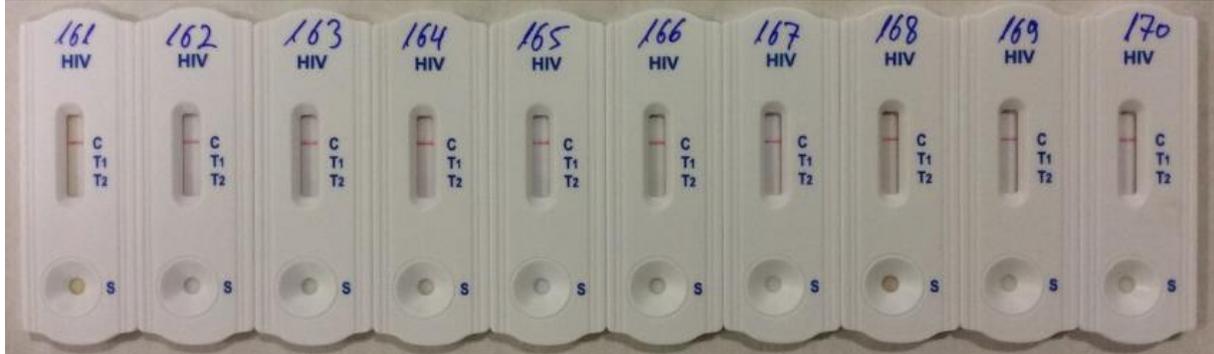
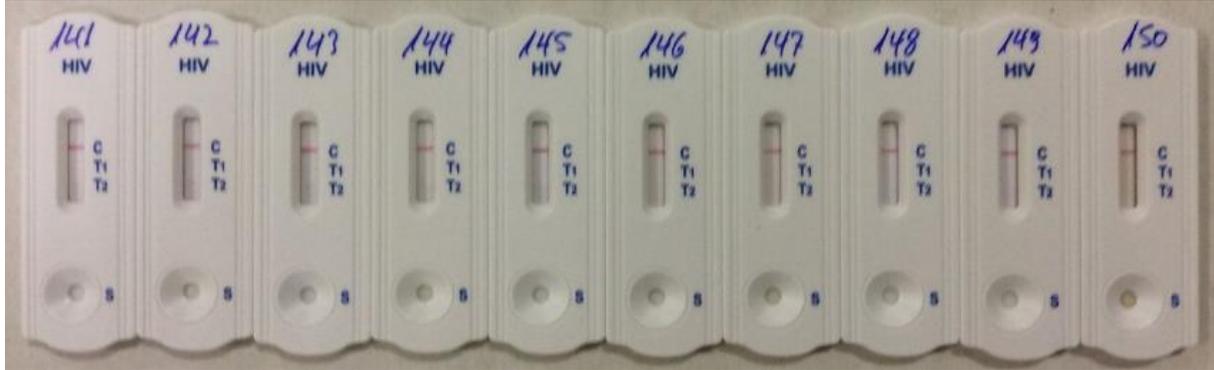
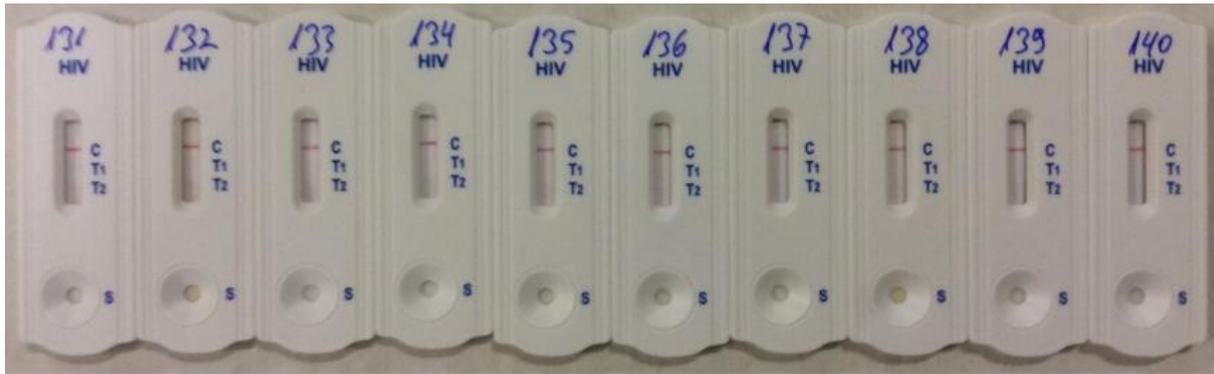


### HIV 1/2/O Tri-line (ABON)

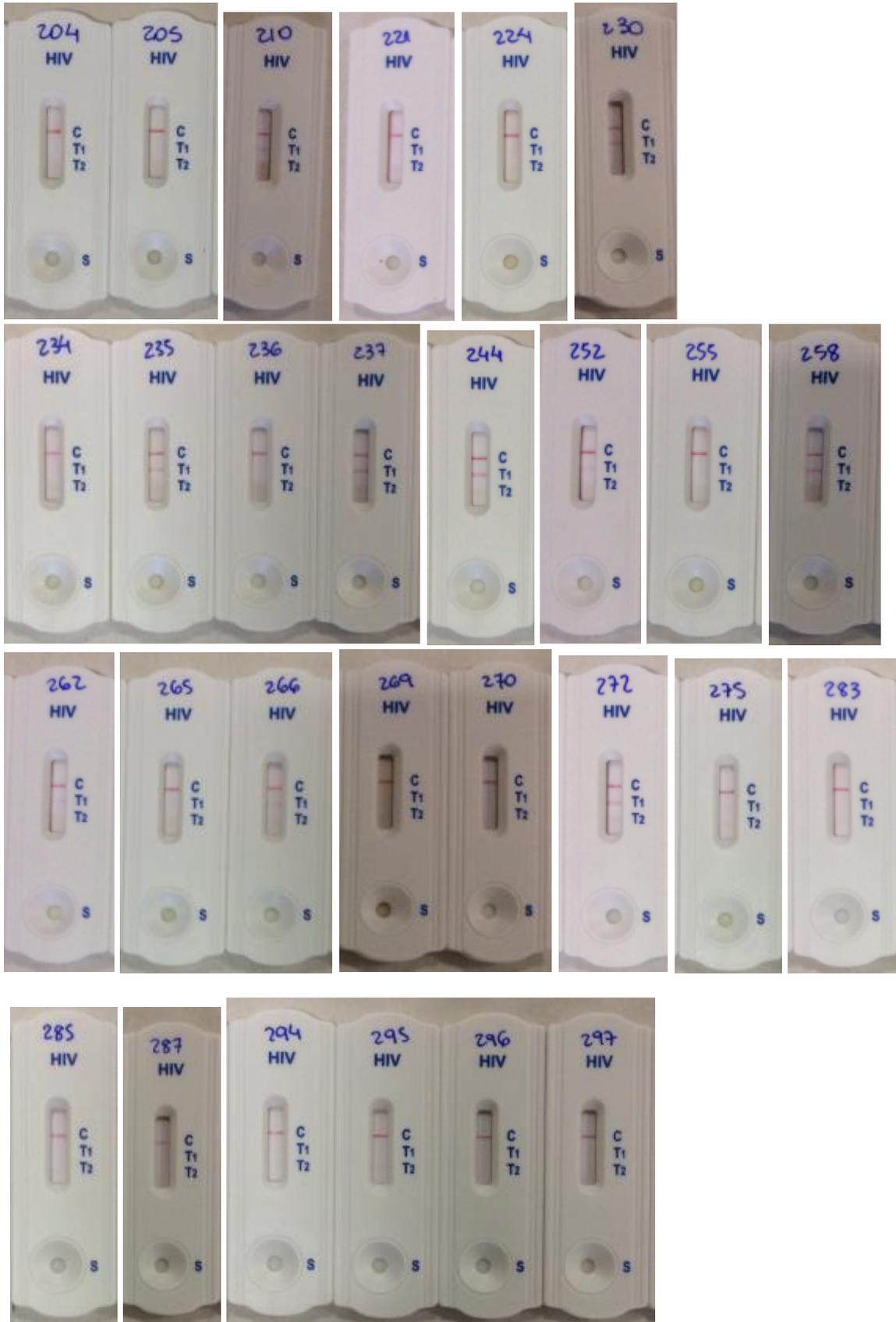












### HIV Test Bioeasy (Bioeasy)

