

Aula 7

Teste rápido para investigação da infecção pelo HIV por meio do kit *TEST BIOEASY STANDARD DIAGNOSTIC (SD)*

■ Princípio do teste

O teste rápido *HIV TEST BIOEASY STANDARD DIAGNOSTIC (SD)*, utilizado para investigar a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV, do *inglês* *Human Immunodeficiency Virus*), baseia-se na tecnologia de imunocromatografia de fluxo lateral. Esse teste permite a detecção de anticorpos das classes IgG, IgM e IgA, específicos para HIV-1, incluindo grupo O, e HIV-2 em sangue total, soro ou plasma.

Trata-se de um teste qualitativo que utiliza um conjugado composto por antígenos recombinantes associados com ouro coloidal. Esse conjugado está impregnado na membrana presente no dispositivo de teste e funciona como revelador do teste.



Figura 1 – Kit *HIV TEST BIOEASY STANDARD DIAGNOSTIC*.

O dispositivo contém uma área denominada janela de leitura de resultados. Na parte acima da janela, há as letras C e T, que delimitam, respectivamente, a área de CONTROLE e a área de TESTE. Na parte abaixo da janela, vê-se os algarismos 1 e 2, que marcam a área de teste e onde estão localizados, respectivamente, os antígenos de captura recombinantes de HIV-1 (gp41, p24) e os antígenos de captura recombinantes de HIV-2 (gp36). Além dos algarismos, pode-se observar o caractere C, que corresponde à área de controle processual do teste.

Ao adicionar a amostra no dispositivo de teste, havendo a presença de anticorpos anti-HIV, estes se ligam ao conjugado composto pelos antígenos recombinantes HIV 1/2 (gp41, p24 e gp36) associados ao ouro coloidal e migram ao longo da membrana para a área de teste (T). À medida que o complexo anticorpo-conjugado se liga na área de teste (T), uma linha visível é formada nas regiões 1 e (ou) 2 do dispositivo, de acordo com o tipo de anticorpo presente na amostra.

Em seguida, independentemente da presença de anticorpos anti-HIV e ocorrência de reação na área de teste (T), a amostra continua a migrar até a área do controle (C), onde sempre deve aparecer uma linha colorida.

O aparecimento da linha de controle (C) indica que os procedimentos do teste foram realizados de maneira adequada e que os reagentes estão funcionando corretamente. Caso a amostra não apresente anticorpos anti-HIV, você observará somente a linha colorida na área de controle (C).

A Figura 2 ilustra o funcionamento do teste.

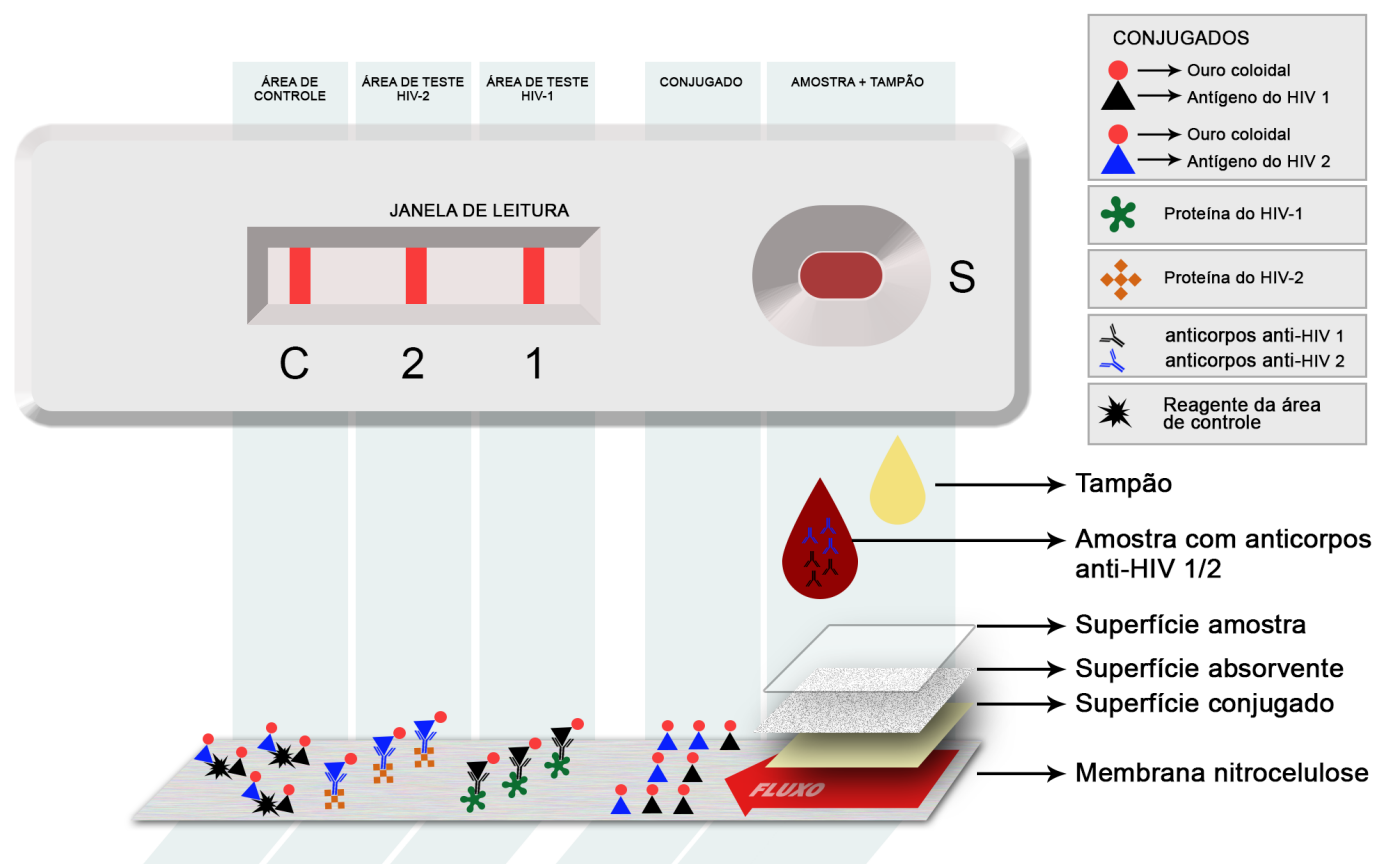


Figura 2 – Resumo do funcionamento do kit TEST BIOEASY STANDARD DIAGNOSTIC (SD).

Composição do kit TEST BIOEASY STANDARD DIAGNOSTIC (SD)

O conjunto diagnóstico, ilustrado na Figura 3, tem os componentes a seguir apresentados.

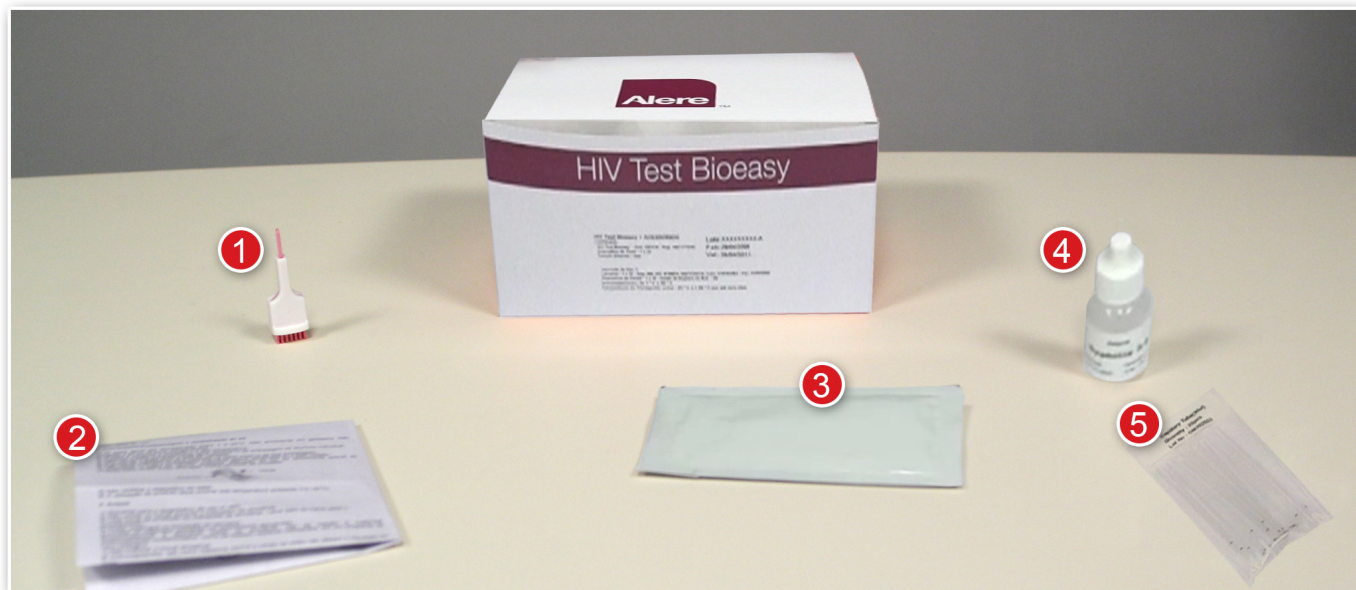


Figura 3 – Caixa do kit TEST BIOEASY STANDARD DIAGNOSTIC (SD).

- 1 Lanceta para punção digital.
- 2 Manual de instruções
- 3 Envelopes lacrados contendo:



um dispositivo (ou placa) de teste pronto para uso;

um sachê com sílica.

- 4 Frascos de solução diluente.
- 5 Tubos capilares



O número de lote da embalagem externa deve ser utilizado no registro da sua rotina diária, no protocolo de registro dos testes, para a identificação e controle de validade do kit. Embora dispositivos de teste, diluentes e lancetas também apresentem números de lote individuais, o número de controle a ser considerado é o da caixa da embalagem externa.

Materiais complementares

Além dos elementos fornecidos no kit, são necessários os seguintes materiais para a execução do teste rápido:

- Equipamentos de proteção individual (EPIs); luvas descartáveis, óculos de proteção ou protetor facial, jaleco ou avental.;
- Equipamento para marcar tempo (cronômetro ou relógio);
- Álcool 70%;
- Algodão ou gaze;
- Água sanitária ou solução de hipoclorito de sódio entre 2,0 a 2,5%;
- Recipiente para descarte de material biológico e perfurocortante.
- Caneta tipo marcador para escrever no dispositivo de teste
- Papel absorvente para forrar a área onde serão feitos os testes rápidos

Cuidados e precauções para utilização

O manuseio e a execução dos testes rápidos requerem alguns cuidados.

O teste, exclusivo para diagnóstico in vitro, deve ser realizado por pessoas que tenham participado de capacitação técnica, presencial ou por meio de ensino a distância.

Não é permitida a utilização de reagentes após a data de validade definida pelo fabricante, que vem estampada na embalagem do kit. Também não se permite a mistura de reagentes de kits com números de lote ou origens diferentes. O dispositivo de teste é descartável, ou seja, sua reutilização não é possível.

Por fim, o kit deve ser manipulado com a adoção das precauções de utilização que se aplicam aos produtos potencialmente infecciosos, o que inclui não ingerir, não inalar e descartar os componentes apenas em local apropriado.



Todas as amostras devem ser consideradas potencialmente infectantes, e devem ser manipuladas e descartadas de acordo com as precauções de utilização e descarte recomendadas, no Brasil, pela RDC/ANVISA n.º 306 de 07/12/2004, ou em conformidade com a regulamentação em vigor, no país de utilização.

Condições de armazenamento e estabilidade

Os componentes do kit permanecerão estáveis até a data de validade indicada nas respectivas embalagens, se forem conservados nas condições exigidas, listadas a seguir:

- Não utilizar após a data de validade (o prazo de validade do kit é indicado na parte externa de sua embalagem).
- Manter no envelope lacrado até a utilização.
- Não congelar o kit.
- Não expor o kit ao Sol.
- Proteger da umidade. O kit deve estar com o sachê contendo gel de sílica intacto. Descartar o teste se houver qualquer alteração de cor do dessecante (sílica) de amarelo para verde. Essa alteração indica excesso de umidade
- Conservar o kit em temperatura entre 1 e 30°C.
- Segundo a bula o fabricante recomenda não guardar em geladeira



Os *kits* podem ser armazenados em temperatura ambiente (armários ou estantes), **desde que dentro da faixa recomendada pelo fabricante.**

Caso não seja possível controlar a temperatura do local de armazenamento, os *kits* devem ser acondicionados em caixas térmicas e retirados apenas na hora do uso.



Figura 4 – Exemplos de caixas térmicas disponíveis no mercado

Coleta da amostra e realização do teste

Para realizar o teste rápido por punção digital, é necessário que a coleta da amostra seja feita respeitando as recomendações do fabricante.

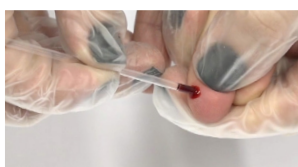
Abra o envelope, retire o dispositivo de teste e coloque-o numa superfície plana, livre de vibração, limpa e forrada por uma folha de papel absorvente descartável. Em seguida, identifique o dispositivo de teste com as informações do paciente que considerar pertinentes (nome, número ou iniciais). A seguir, você acompanhará uma instrução passo a passo para a realização do teste rápido.

1



Selecione o dedo para punção, higienize a área a ser puncionada e faça a punção do dedo com o auxílio de uma lanceta retrátil.

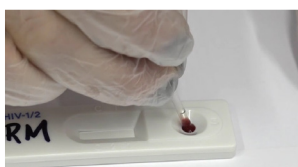
2



Colete a amostra com auxílio do capilar, preenchendo até a marca indicada (20 μ l).

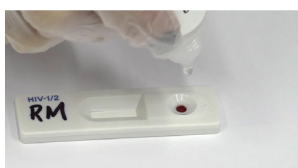


3



Em seguida, coloque o capilar na posição vertical e dispense o volume coletado na área do dispositivo de teste indicada com um "S" (do inglês *sample*, ou amostra, em português), encostando levemente o capilar na cavidade.

4



Imediatamente após a aplicação da amostra, com o frasco na posição vertical, adicione quatro gotas de diluente na área em que foi colocada anteriormente a amostra (S).

5

Acione o cronômetro, após a colocação do diluente e faça a leitura do teste entre 10 e 20 minutos.

Cuidado para não gerar bolhas, que podem levar à adição de volume inadequado de solução diluente ao poço. Caso isso ocorra, repita o teste com a realização de uma nova coleta e a utilização de um novo dispositivo de teste.

Para assegurar que a reação ocorra corretamente, é fundamental não mexer no dispositivo de teste antes do término da reação. Além disso, é importante que não haja vibração na superfície onde o teste está sendo realizado. Quando isso ocorre, o resultado do teste pode ser inválido.

Interpretação dos resultados

Após realizar os procedimentos descritos no passo a passo, é hora de fazer a interpretação dos resultados. Os resultados deverão ser lidos entre 10 e 20 minutos, após a adição da solução diluente.

Não realizar a leitura após 20 minutos da adição do diluente.



Após os vinte minutos a leitura não poderá ser efetuada, pois aparecerão resultados FALSO POSITIVOS. Isso ocorre devido às diversas proteínas inespecíficas presentes na amostra testada, que podem ligar-se ao ouro coloidal presente na membrana do dispositivo e fixarem-se às linhas T1 e T2, aparentando positividade. A leitura desse teste após o tempo recomendado de 20 minutos, trará um resultado errôneo e por isso, após o tempo determinado, o dispositivo de teste deverá ser descartado.

Resultado reagente

A amostra é considerada reagente para HIV-1 quando surgem duas linhas coloridas na janela de leitura: linha colorida na área de controle (C) e uma linha colorida na área de teste (T) que contém o número “1”.



Figura 5 – Interpretação de resultado reagente para anti-HIV-1 no kit HIV TEST BIOEASY.

A amostra é considerada reagente para HIV-2, quando surgem duas linhas coloridas na janela de leitura: linha colorida na área de controle (C) e uma linha colorida na área de teste (T) que contém o número “2”.

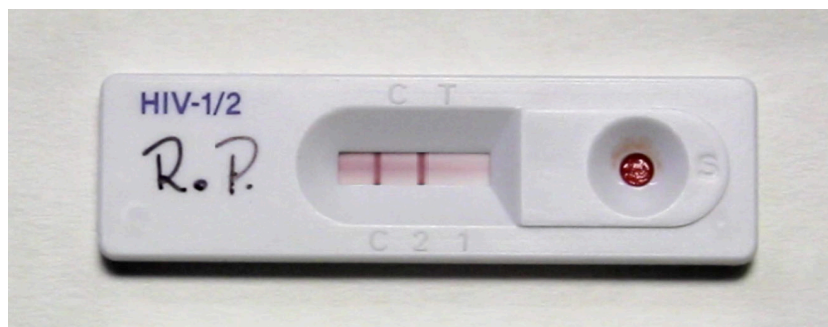


Figura 6 – Interpretação de resultado reagente para anti-HIV-2 no kit HIV TEST BIOEASY.



Em caso de suspeita de infecção pelo HIV-2, entre em contato com a Coordenação de Laboratório do Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais, da Secretaria de Vigilância em Saúde, do Ministério da Saúde (DDAHV – SVS/MS), pelo e-mail: clab@aims.gov.br.

Existem situações de resultado reagente nas quais podem ocorrer o aparecimento das três linhas: linha colorida na área de controle (C) e duas linhas coloridas na área de teste (T), presentes na região dos números “1” e “2” (Figura 7).

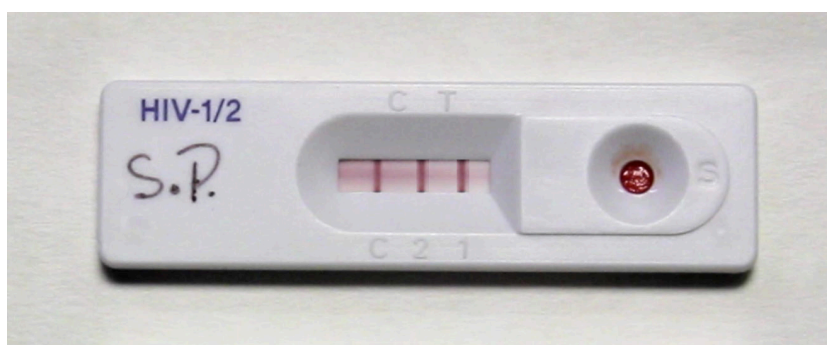


Figura 7 – Interpretação de resultado reagente para anti-HIV-1 e anti-HIV-2 no kit HIV TEST BIOEASY.

Se a intensidade da cor da linha da área de teste (T) que contém o número “1” for maior que a da linha da área de teste (T) que contém o número “2”, interprete o resultado do teste como HIV-1 reagente.

Se a intensidade da cor da linha da área de teste (T) que contém o número “2” for maior que a da linha da área de teste (T) que contém o caractere “1”, interprete o resultado do teste como HIV-2 reagente.



A infecção pelo HIV-2 é rara no Brasil. A dupla infecção, por HIV-1 e HIV-2, é ainda mais rara. A ocorrência de reatividade dupla – ou seja, presença de linhas reativas nas regiões 1 e 2 da área de teste (T) –, quando observadas no HIV TEST BIOEASY STANDARD DIAGNOSTIC (SD), é provavelmente causada por reatividade cruzada, em função de certa homologia existente nas sequências de aminoácidos do HIV-1 e HIV-2.

Resultado não reagente

Quando o resultado for não reagente, aparecerá somente uma linha colorida na área de controle (C).

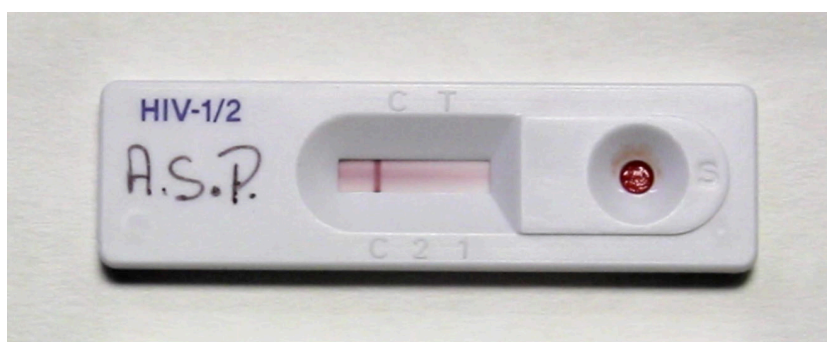


Figura 7 – Interpretação de resultado não reagente no kit HIV TEST BIOEASY.

Teste inválido

O teste inclui um sistema de controle interno de migração, representado por uma linha colorida que aparece na área de controle (C). Conforme indicado no folheto que contém as instruções de uso definidas pelo fabricante, essa linha confirma que o teste foi corretamente executado e que o resultado obtido é válido.

Se a linha de controle (C) não aparecer dentro do tempo determinado pelo fabricante para leitura do resultado – isto é, entre 10 e 20 minutos após a adição do diluente –, o teste não será considerado válido, mesmo que apareça alguma linha colorida na área de teste (T).

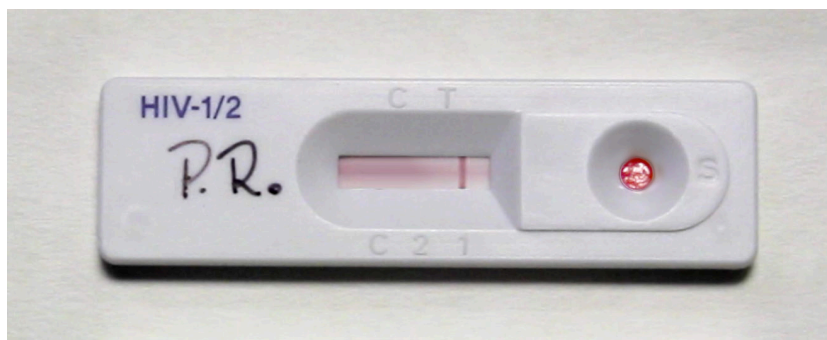


Figura 8 – Dispositivo apresentando resultado de teste inválido no kit HIV TEST BIOEASY.

Algumas das causas prováveis para a invalidação do teste podem ser o armazenamento inadequado dos kits, um volume insuficiente de amostra, um volume incorreto de solução diluente e a simples execução incorreta. Se o resultado obtido em um teste for inválido, leia novamente as instruções do fabricante e repita o teste com a utilização de um novo dispositivo. Se o problema persistir, não utilize mais nenhum teste desse lote.

Guarde o kit utilizado, informe ao Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais, da Secretaria de Vigilância em Saúde, do Ministério da Saúde (DDAHV – SVS/MS) o ocorrido e abra um chamado no Serviço de Atendimento ao Consumidor (SAC) da empresa fornecedora do kit.

Limitações do procedimento

O teste rápido para o diagnóstico da infecção pelo HIV apresenta algumas limitações que devem ser atentamente observadas.

Resultados falso-negativos podem ocorrer caso o teste seja utilizado em amostras de pacientes conhecidamente soropositivos, que estejam recebendo ou que tenham recebido terapia antirretroviral.

Um resultado não reagente não exclui a possibilidade de infecção pelo HIV, dado que o teste detecta apenas anticorpos anti-HIV. A produção desses anticorpos pelo indivíduo que tenha sido infectado pelo HIV recentemente, pode levar algumas semanas. Persistindo a suspeita clínica, deve-se repetir o teste, após 30 dias.

Embora um resultado reagente possa indicar infecção pelo HIV, a confirmação do diagnóstico somente poderá ser feita após a realização de pelo menos mais um teste, conforme determinado pela Portaria n.º 29 de 17 de dezembro de 2013.

A realização do teste não é indicada para a investigação da infecção pelo HIV em crianças com idade inferior a 18 meses. Isto porque, nas amostras das crianças, podem ser detectados anticorpos maternos, transferidos ao bebê por via placentária.



O diagnóstico em crianças abaixo de 18 meses deve ser realizado por meio de testes moleculares.

Referências

Manual de uso (bula) do *kit HIV test Bioeasy*