

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)

Princípio do teste rápido TR DPP® HIV 1/2 Bio-Manguinhos (FO)

O teste rápido TR DPP® HIV 1/2 Bio-Manguinhos (FO), utilizado para investigar a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV, do inglês *Human Immunodeficiency Virus*), baseia-se na tecnologia de imunocromatografia e utiliza plataforma de duplo percurso, que permite detectar anticorpos específicos para o HIV-1, incluindo o grupo O, e HIV-2. Esse kit permite a utilização de fluido oral, soro, plasma e sangue total.



Figura 1 – Kit de teste TR DPP® HIV 1/2 de Bio-Manguinhos (FO)

Trata-se de um teste qualitativo, baseado na combinação de antígenos de HIV-1 e HIV-2 ligados a uma membrana (fase sólida), anticorpos específicos e um conjugado de proteína A com partículas de ouro coloidal, que é o revelador do resultado do teste.

O dispositivo é composto por duas regiões denominadas poços e pela janela de leitura de resultados. Na janela de leitura de resultados, existem as áreas de teste (T) e de controle (C). A área de teste (T) é revestida com antígenos de HIV-1 e HIV-2, onde se ligam os anticorpos anti-HIV, quando estão presentes nas amostras. A região de controle (C) corresponde ao controle processual do teste.

Ao adicionar a amostra de fluido oral no poço 1, previamente eluída no tampão de eluição, ela migra até a região da janela de leitura de resultados. Se a amostra apresentar anticorpos anti-HIV, estes vão se ligar aos antígenos impregnados na área de teste (T).

Após a migração da solução (tampão de eluição + amostra) ao longo do dispositivo de teste, deve-se adicionar o tampão de corrida ao poço 2. Esse tampão fará com que o conjugado de proteína A com ouro coloidal migre até a janela de leitura de resultados.

Caso tenha anticorpos específicos para o HIV previamente ligados aos antígenos na área de teste (T), o conjugado vai se ligar a esses anticorpos e aparecerá uma linha (roxa/rosa). Na ausência de anticorpos, a linha (roxa/rosa) não aparecerá na área de teste (T).

Em ambos os casos, a amostra continuará a migrar ao longo da membrana, produzindo uma linha (roxa/rosa) na área de controle (C). Isso demonstra o funcionamento adequado dos reagentes e a validação do teste.

A Figura 2 ilustra o funcionamento do teste.

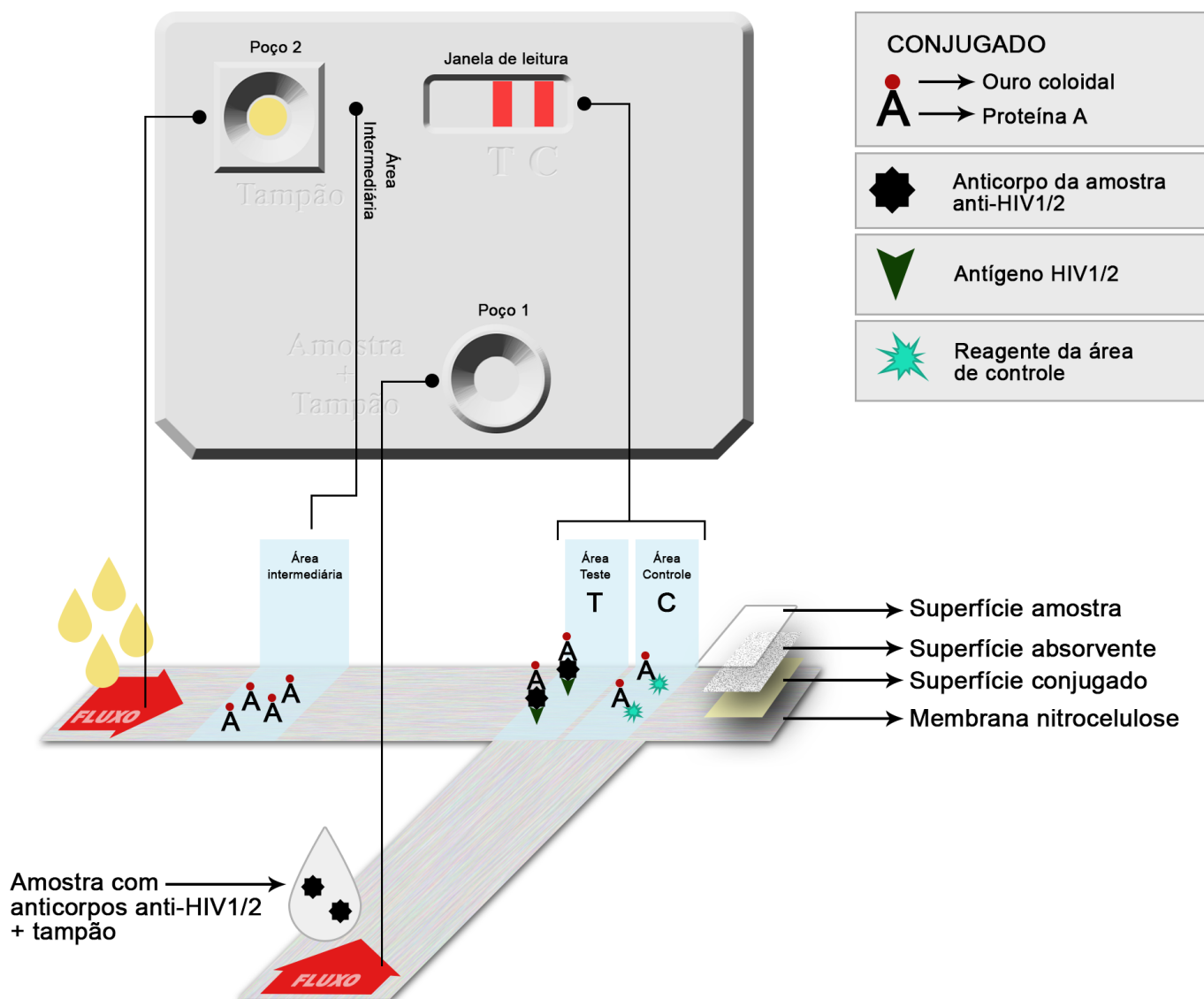


Figura 2 – Resumo do funcionamento do kit TR DPP® HIV 1/2 Bio-Manguinhos com amostra de fluido oral (FO).

Composição do kit TR DPP® HIV 1/2 Bio-Manguinhos (FO)

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



Figura 3 – Embalagem e componentes do kit TR DPP® HIV 1/2 Bio-Manguinhos (FO).

- 1 Frasco com solução tampão de corrida.
- 2 Manual com instruções de uso.
- 3 Envelopes lacrados contendo o dispositivo de teste DPP.
- 4 Frasco para eluição da amostra.
- 5 Coletor para fluido oral.



O número de lote impresso na embalagem 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 e tampão 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:

- Equipamento de proteção individual (EPI): luvas descartáveis, jaleco ou avental.
- Equipamento para marcar tempo (cronômetro ou relógio);
- 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 execução dos testes rápidos necessitam de alguns cuidados.

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

Utilize os reagentes de cada kit até a data de validade definida pelo fabricante, estampada na parte externa da embalagem. Quando acabar o dispositivo de teste ou qualquer reagente do kit, jogue todo o restante fora em recipiente apropriado.

O dispositivo de teste é descartável e ele deve ser conservado no envelope lacrado até o momento da utilização.

Para a manipulação do kit, deverão ser adotadas todas as precauções que se aplicam aos produtos potencialmente infecciosos, o que inclui não ingerir nem inalar tais produtos, bem como descartar os seus 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 nº 306 de 07/12/2004 e suas atualizações, 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:

- Para uso exclusivo *in vitro*;
- Utilizar até a data de validade;
- Manter o dispositivo no envelope lacrado até a utilização;
- Proteger da umidade e da luz solar;
- Conservar o kit em temperatura entre 2 e 30°C.



Os *kits* podem ser armazenados em geladeira (4 a 8°C), mas nunca no congelador, ou 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 com amostra de fluido oral, é necessário que a coleta da amostra seja feita respeitando as recomendações do fabricante. Antes de iniciar o teste, lembre-se de deixar os reagentes atingirem a temperatura ambiente.

Certifique-se de que, nos 5 minutos que antecedem o teste, o indivíduo não tenha comido, fumado, bebido, inalado qualquer substância, escovado os dentes ou praticado qualquer atividade oral que possa ter deixado resíduos.

Caso o indivíduo tenha realizado alguma dessas ações, é indispensável que seja orientado para lavar a boca com água e a aguardar cerca de 5 minutos.



Quando o indivíduo estiver usando batom, solicite que o remova antes da coleta da amostra.

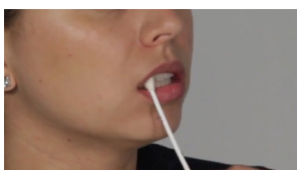
Antes da coleta, forre, com papel absorvente, uma superfície plana e livre de vibração, onde será realizado o teste.

Em seguida, abra um envelope e retire o dispositivo de teste. Identifique o dispositivo e o frasco para eluição da amostra com as informações do indivíduo que considerar pertinentes (nome, número ou iniciais).

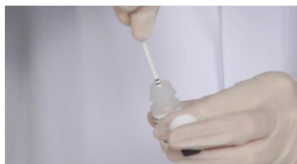
Leia, a seguir, as instruções passo a passo para a realização do teste rápido.

1

Desenrosque a tampa branca do frasco para eluição da amostra, mantendo a tampa colorida do dosador fechada.

2

Retire o coletor de fluido oral do envelope individual lacrado, entregue-o ao indivíduo e oriente-o a inseri-lo acima dos dentes, pressionando, gentilmente, toda a superfície das gengivas superior e inferior, quatro vezes. Todo o processo deve levar em torno de 15 -30 segundos.

3

Insira o coletor de fluido oral no frasco de eluição, de modo que este toque no fundo do frasco. Quebre a haste do coletor no ponto de quebra e, em seguida, recoloca a tampa.

4

Homogeneíze gentilmente o frasco, fazendo movimentos circulares sobre uma superfície plana, por 10 segundos.

5

Desenrosque somente a tampa colorida do dosador e, com o frasco na posição vertical, adicione duas gotas da solução no poço 1 do dispositivo de teste. Evite a formação de bolhas de ar ao dispensar as gotas.

6

Acione o cronômetro e marque 5 minutos. Observe que na janela de leitura existem duas linhas: uma linha azul na área de teste (T) e uma linha verde na área de controle (C). Após os 5 minutos, essas linhas deverão desaparecer.

7

Em seguida, com o frasco do tampão na posição vertical e sem tocar o dispositivo do teste, adicione quatro gotas de tampão de corrida ao poço 2. Evite a formação de bolhas de ar ao dispensar as gotas.

8

Acione o cronômetro após a colocação do diluente e faça a leitura do teste entre 10 e 25 minutos.

Cuidados durante da realização do teste

Para assegurar que a reação ocorra corretamente, é fundamental que o teste seja realizado em superfície plana e sem vibrações. Não mexa no dispositivo de teste antes do término da reação. A presença de bolhas de ar nos passos 5 e 7, reduz o volume adicionado aos poços 1 ou 2. Caso isso ocorra, repita o teste com a utilização de um novo dispositivo de teste.

No passo 6, caso as linhas não desapareçam, descarte o dispositivo do teste e repita o procedimento, desde o início, utilizando um novo dispositivo do mesmo lote.

Interpretação dos resultados

Após realizar os procedimentos descritos no passo a passo, é hora de fazer a interpretação dos resultados.

Os resultados poderão ser interpretados a partir de 10 minutos, após a adição do tampão.

Não realizar a leitura após 25 minutos da adição do diluente.

Resultado reagente

Quando o resultado for “reagente”, aparecerão duas linhas de coloração roxa/rosa: uma na área de controle (C) e uma na área de teste (T).

A intensidade da cor da linha roxa/rosa na área de teste (T) pode variar. Independentemente da intensidade da cor dessa linha, o resultado é considerado reagente (ver Figura 5).

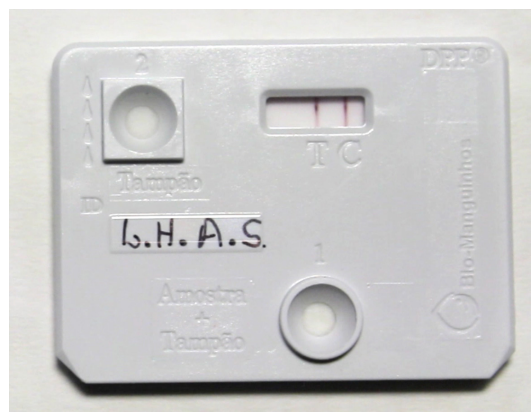


Figura 5 – Interpretação de resultado reagente do kit TR DPP® HIV 1/2 Bio-Manguinhos (FO).

Resultado não reagente

Quando o resultado for “não reagente”, aparecerá somente uma linha roxa/rosa na área de controle (C) e não aparecerá nenhuma linha na área de teste (T) (ver Figura 6).

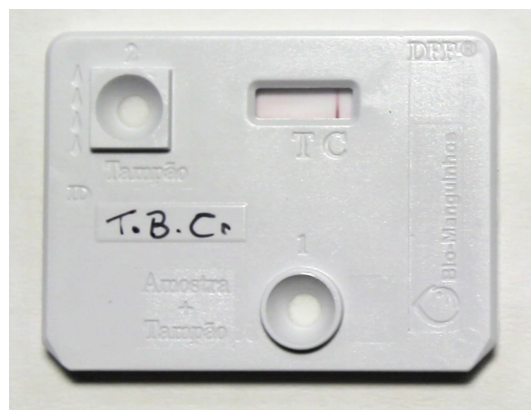


Figura 6 – Interpretação de resultado não reagente do kit TR DPP® HIV 1/2 Bio-Manguinhos (FO).

Teste inválido

O teste inclui um sistema de controle interno de migração representado por uma linha roxa/rosa que aparece na área de controle (C). Conforme indicado no folheto, que contém as instruções de uso definidas pelo fabricante, essa linha confirma o funcionamento adequado dos reagentes.

Se a linha de controle (C) não aparecer dentro do tempo estabelecido pelo fabricante para leitura do resultado – isto é, após 10 minutos da adição do tampão de corrida –, o teste não será considerado válido, mesmo que a linha roxa/rosa na área de teste (T) apareça

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 tampão e a simples execução incorreta do teste.

Quando o teste for inválido, repita o teste utilizando um novo dispositivo do mesmo lote. Caso o problema persistir, não utilize mais nenhum teste desse lote.

Guarde o kit utilizado, informe o ocorrido ao Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais, da Secretaria de Vigilância em Saúde, do Ministério da Saúde (DDAHV – SVS/MS) 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 anticorpos anti-HIV. A produção desses anticorpos pelo indivíduo pode levar algumas semanas após ter ocorrido a contaminação pelo HIV. 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.