



WL Check

HIV 1+2

Para a detecção de anticorpos anti-HIV-1, anti-HIV-1 grupo O e anti-HIV-2 em soro, plasma e sangue total

SIGNIFICADO CLÍNICO

Os vírus da imunodeficiência humana (HIV-1 e HIV-2) são os agentes causadores do Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Estes retrovírus são transmitidos pela exposição a certos fluidos corporais infectados, principalmente secreções genitais e sangue ou produtos contaminados derivados do sangue e por passagem através da placenta. Em indivíduos infectados com estes vírus, aparecem anticorpos como resposta do sistema imunológico à invasão viral. A detecção destes anticorpos é utilizada como ferramenta de diagnóstico.

Os Centros para o Controle e a Prevenção de Enfermidades de EE.UU. (CDC), na sua iniciativa "Advancing HIV Prevention" (AHP) destacam a importância da utilização de provas rápidas de detecção de HIV para facilitar o acesso ao diagnóstico precoce em regiões de alta prevalência, em indivíduos de alto risco ou em regiões onde outros métodos de diagnóstico como ELISA, Western Blot ou amplificação de ácidos nucleicos não estão disponíveis. Também são de grande utilidade no momento do parto, especialmente para o diagnóstico de mulheres que não tenham sido controladas durante a gravidez.

Além disso, as provas rápidas constituem uma ferramenta diagnóstica que pode desempenhar um papel importante em campanhas de prevenção e diagnóstico em entornos clínicos e não clínicos, facilitando assim a detecção precoce da infecção.

WL Check HIV 1+2 é uma prova rápida que detecta juntamente a presença de anticorpos anti-HIV-1, anti-HIV-1 grupo O e anti-HIV-2.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

WL Check HIV 1+2 é um ensaio imunocromatográfico "in vitro", de leitura visual, para a detecção qualitativa de anticorpos contra os vírus HIV-1 e HIV-2 em soro, plasma e sangue total. A prova consiste em um cassete plástico que contém:

- uma membrana de nitrocelulose sensibilizada com antígenos recombinantes para HIV-1 (gp41) e HIV-2 (gp36) na região de prova "T".
- um parche impregnado com antígenos recombinantes específicos para HIV-1 (gp41) e HIV-2 (gp36) conjugados a ouro coloidal.

A amostra e o tampão são acrescentados na cubeta de amostra "S" solubilizando e misturando-se com o conjugado de antígenos recombinantes. Em seguida, a mistura migra por capilaridade através da membrana de nitrocelulose. Se a amostra é reativa, os anticorpos anti-HIV-1 e HIV-2 presentes, formarão um complexo com os antígenos conjugados a

ouro coloidal. Este complexo, posteriormente, irá ligar aos antígenos imobilizados na região de prova "T" da membrana de nitrocelulose, formando uma linha de cor rosa-vermelho roxo. A ausência desta linha indica um resultado negativo. Como controle de procedimento, a prova inclui uma região de controle "C" de cor azul claro que muda a cor rosa-vermelho roxo após a passagem da amostra. A ausência desta linha invalida os resultados.

MATERIAL FORNECIDO

A. Reagente A: cassete plástico composto por uma membrana de nitrocelulose sensibilizada com antígenos recombinantes específicos para HIV-1 e HIV-2 e conjugado de antígenos recombinantes. Pronto para uso.

B. Reagente B: tampão borato de sódio 15 mM, azida 0,95 g/L, agente tensoativo, pH 9,1. Pronto para uso.

INSTRUÇÕES DE USO

O Material fornecido é pronto para uso.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Micropipeta automática para medir os volumes indicados.
- Dispositivo de 20 uL descartável para coleta de sangue total capilar (só fornecido em algumas apresentações).
- Pontas descartáveis.
- Relógio alarme ou cronômetro.
- Material para coleta de amostra.
- Luvas descartáveis, guarda-pó, proteção ocular.
- Recipiente para o descarte de resíduos biológicos.
- Hipoclorito de sódio.

PRECAUÇÕES

- Ler as instruções de uso completamente antes de realizar a prova e seguir as instruções cuidadosamente.
- Não realizar a prova se a embalagem estiver danificada.
- Não utilizar os reagentes ultrapassada a data de vencimento indicada na embalagem.
- Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".
- A prova fornece um resultado qualitativo e visual. É necessária uma boa fonte de luz para a leitura dos resultados.
- Não misturar reagentes de diferentes lotes.
- Não utilizar reagentes de outra origem.
- Não tocar a membrana de nitrocelulose com os dedos.
- Seguir as práticas de biossegurança quando utilizar as amostras e os reagentes:
 - . Manipular todas as amostras de pacientes como potencialmente infecciosas.
 - . Utilizar luvas, guarda-pó e proteção ocular.

- . Não pipetar com a boca.
- . Não comer, beber, fumar, utilizar maquiagem nem manipular óculos de contato nas áreas de trabalho.
- . Limpar e desinfetar as salpicaduras de amostras ou reagentes utilizando hipoclorito de sódio (concentração final 5%) ou outro desinfetante apropriado. Inativar o material utilizado em autoclave durante 1 hora a 121°C.
- Evitar a formação de bolhas na cubeta de amostra "S" tanto ao colocar a amostra como o Reagente B. Quando colocar o Reagente B, descartar qualquer gota com bolhas.
- Durante a prova, colocar o cassete sobre uma superfície limpa, aplanada e sem vibrações.
- Não agitar o cassete durante a prova.
- O cassete e o dispositivo são descartáveis, não reutilizar. Descartar em recipientes para resíduos com risco biológico.
- O Reagente B contém azida sódica em baixas concentrações como conservador.
- Os reagentes e as amostras devem ser descartados conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

O kit é estável a 2-30°C até a data de vencimento indicada na embalagem. Não congelar. Caso seja armazenado sob refrigeração, deve-se assegurar que o envelope atinja temperatura ambiente antes de se utilizar. Caso contrário será favorecida a umectação.

O cassete deve ser mantido na sua embalagem original fechada. Não abrir o envelope até que esteja pronto para uso.

AMOSTRA

Soro, plasma e sangue total coletada por punção venosa ou punção capilar

- a) Coleta:** coletar as amostras em forma asséptica e de modo a evitar a hemólise.
- Soro: coletar sem anticoagulantes. Separar o soro do coágulo de imediato para evitar hemólise. Pode-se utilizar soro coletado em tubos com acelerador e gel separador.
 - Plasma: coletar com EDTA, citrato ou heparina.
 - Sangue total (punção venosa): coletar com EDTA, citrato ou heparina.
 - Sangue total (punção capilar): coletar com o dispositivo descartável (só fornecido em algumas apresentações). Realizar a prova de imediato. Caso seja utilizado outro dispositivo, é responsabilidade do usuário avaliar o dispositivo para coleta de sangue total capilar.

b) Estabilidade e armazenamento:

- Soro e plasma: conservar entre 2-10°C. Caso a prova não seja realizada no prazo de 5 dias, conservar a amostra a -20°C. Não é recomendável realizar vários ciclos de congelamento e descongelamento. Isto pode gerar resultados errados. Se utilizar amostras congeladas, as mesmas devem ser homogeneizadas e centrifugadas antes de usar.
- Sangue total (punção venosa): pode ser conservado até 3 dias a 2-10°C. Não congelar.
- Sangue total (punção capilar): utilizar de imediato. Não congelar.

c) Substâncias interferentes: em soros e plasmas enrique-

cidos não são observadas interferências por:

- . Hemólise: até 1,1 g/dL de hemoglobina.
- . Lipemia: até um equivalente de triglicérides de 1500 mg/dL após enriquecer com Intralipid®.
- . Bilirrubina: até 30 mg/dL
- . Ácido ascórbico: até 50 mg/dL.

d) Transporte: caso as amostras devam-se transportar, embalar conforme as especificações legais referentes ao transporte de material infeccioso.

PROCEDIMENTO

1- Os reagentes e as amostras devem estar a temperatura ambiente (18-30°C) antes de utilizar.

2- Extrair o cassete do envelope de imediato antes de utilizar.

3- Colocar o cassete em uma superfície limpa, aplanada e sem vibrações.

4- Colocar a amostra na superfície absorvente da cubeta de amostra "S".

PARA SORO OU PLASMA

- Colocar 10 uL com micropipeta automática.

- Esperar 10-15 segundos até que seja absorvida a amostra.

- Adicionar 3 gotas (100 uL) de Reagente B na cubeta de amostra "S".

- Iniciar o cronômetro.

PARA SANGUE TOTAL

- Colocar 20 uL com micropipeta automática*.

- Esperar 10-15 segundos até que seja absorvida a amostra.

- Adicionar 3 gotas (100 uL) de Reagente B na cubeta de amostra "S".

- Iniciar o cronômetro.

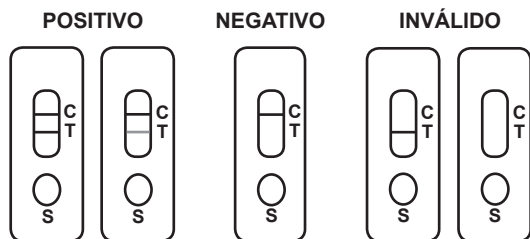
Nota: *caso seja utilizado sangue total capilar, utilizar o dispositivo de 20 uL descartável (só fornecido em algumas apresentações).

5- Em ambos os casos, ler os resultados entre 20-30 minutos. Não ultrapassar os 30 minutos posto que podem se obter resultados errados. Algumas amostras positivas reagem de imediato enquanto outras reagem mais lentamente dentro do tempo especificado de leitura. Devido às características particulares de algumas amostras, a cor de fundo da membrana pode ser ligeiramente rosa, sem afetar a interpretação dos resultados.

CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO DA PROVA

- O cassete tem uma linha azul clara na região de controle "C" para identificar a determinação **WL Check HIV 1+2**. Indica que os componentes da prova estão presentes e ativos.
- Quando realizar a prova, a linha azul clara deve mudar para rosa-vermelho roxo. A mudança de cor indica que foi adicionado o volume correto de amostra, que a sua migração foi apropriada e que o procedimento foi realizado corretamente.
- O usuário deve realizar o controle de qualidade do kit conforme a regulação vigente.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS



Resultado Positivo (2 linhas): observam-se 2 linhas rosa-vermelho roxo, uma na região de prova “T” e outra na região de controle “C”. A intensidade de cor da linha “T” depende da amostra estudada. Todo cor rosado visível embora seja

muito débil, deve ser interpretado como positivo. O resultado é positivo embora as intensidades de cor das linhas “T” e “C” sejam diferentes.

Resultado Negativo (1 linha): observa-se uma linha rosa-vermelho roxo na região de controle “C”. Não aparece linha de cor na região de prova “T”.

Resultado inválido: a ausência da linha de cor rosa-vermelho roxo na região de controle “C” invalida o resultado embora esteja presente ou não a linha rosa-vermelho roxo na região de prova “T”. Um resultado inválido, geralmente indica um erro no procedimento ou um problema com a amostra. Com algumas amostras podem aparecer dificuldades como migração incompleta, amostra muito viscosa ou presença de fibrina. Em qualquer caso, revisar o procedimento, centrifugar nuevamente a amostra e repetir a prova com um novo cassete.

Algoritmo de interpretação	
Amostra original	
Resultado Positivo por WL Check HIV 1+2	Resultado Negativo por WL Check HIV 1+2
Repetir por duplicado	
Uno ou ambos duplicados Positivos por WL Check HIV 1+2	Ambos duplicados Negativos por WL Check HIV 1+2
POSITIVO	NEGATIVO
Realizar outra prova (ex.: ELISA) e confirmar por Western Blot	

Nota: devem-se considerar as regulações específicas de cada país para o diagnóstico de infecção por HIV.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- **WL Check HIV 1+2** é uma prova complementar no diagnóstico de HIV. Qualquer resultado obtido com esta prova deve ser comparado com os dados clínicos do paciente antes de realizar o diagnóstico definitivo.
- Um resultado negativo não exclui a possibilidade de infecção por HIV. Pode-se obter um resultado falso negativo nas seguintes circunstâncias:
 - Níveis baixos de anticorpos anti-HIV nos primeiros estágios da infecção.
 - Infecção com uma variante do vírus que não é detectada com esta prova.
 Portanto, os resultados negativos devem ser interpretados com atenção especialmente em pacientes com presença de sintomas clínicos e fatores de risco. É recomendável analisar uma nova amostra obtida com posterioridade.
- Amostras positivas com **WL Check HIV 1+2** indicam a presença de anticorpos anti-HIV-1 e anti-HIV-2. Estas amostras devem ser repetidas utilizando outro método (como ELISA) e confirmadas por Western blot. O diagnóstico pode ser estabelecido depois de interpretar os resultados junto com os dados clínicos do paciente.
- Para um resultado positivo, a intensidade de cor da linha “T”, não necessariamente tem correlação com a concentração

de anticorpos anti-HIV específicos presentes na amostra.

- Podem-se obter resultados falsos positivos nas seguintes situações: enfermidades autoimunes, tuberculose, lupus eritematoso sistêmico, gravidez, vacinação contra a hepatite B e outras imunizações, hemodiálise, enfermidade hepática e outras enfermidades.
- **WL Check HIV 1+2** foi desenvolvido para a detecção de anticorpos contra HIV-1 e HIV-2 em soro, plasma e sangue total humano. Não utilizar outros líquidos biológicos como saliva, líquido cefalorraquidiano ou urina.
- Podem-se obter resultados errados com amostras de soro ou plasma com aspecto turvo devido a contaminação bacteriana ou por ter sido submetidas a vários ciclos de congelamento e descongelamento.
- A utilização de amostras inativadas por calor pode originar resultados errados.
- Não utilizar pools de amostras ou amostras diluídas.
- Vide Substâncias interferentes em AMOSTRA.

DESEMPENHO

a) Sensibilidade

Sensibilidade Clínica em Painéis de Performance

Em um estudo realizado com diferentes painéis comerciais internacionais, obtiveram-se os seguintes resultados:

- PRB 108 (Anti-HIV 1 Low Titer Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): detectaram-se 13 das 14 amostras reativas.
- PRB 109 (Anti-HIV 1 Low Titer Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): detectaram-se 15 das 19 amostras reativas.
- PRB 204 (Anti-HIV 1 Mixed Titer Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): detectaram-se 23 das 23 amostras reativas.
- WWRB303 (Worldwide HIV Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): detectaram-se 13 das 14 amostras reativas para HIV-1 grupo M (subtipos A, B, C, D, F e G), HIV-1 grupo O e HIV-2.
- WWRB350 (Worldwide HIV Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): detectaram-se 18 das 18 amostras reativas para HIV-1 grupo M (subtipos A, CRF02_AG, B, C, D, CRF01_AE, F, G e H).
- PRB 601 (HIV-1 Incidence/Prevalence Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): detectaram-se 15 das 15 amostras reativas para HIV-1 correspondentes a infecções recentes e de longa duração.
- PRZ 204 (Anti-HIV-1/2 Combo Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): detectaram-se 14 das 14 amostras reativas para HIV-1 e HIV-2.
- PRZ 205 (Anti-HIV-1/2 Combo Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): detectaram-se 14 das 14 amostras reativas para HIV-1 e HIV-2.
- PRZ 207 (Anti-HIV-1/2 Combo Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): detectaram-se 14 das 14 amostras reativas para HIV-1 e HIV-2.
- PP 0508 (Panel de Performance para HIV, Q Panel, Brasil): detectaram-se 16 das 16 amostras reativas.
- PP 0409 (Panel de Performance para HIV, Q Panel, Brasil): detectaram-se 16 das 16 amostras reativas.

Sensibilidade Clínica em Painéis de Soroconversão

Em um estudo realizado com diferentes painéis comerciais internacionais de soroconversão (Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics), obtiveram-se os seguintes resultados:

Nome do painel	Dias desde o primeiro sangrado	Tempo (dias) no qual a amostra é reativa	
		WL Check HIV 1+2	Western Blot (dados Sera Care)
PRB 904-D	0, 21, 49, 92, 99	92	92
PRB 912-L	0, 9, 14, 16, 28, 30	0	9
PRB 916-P	0, 4, 9, 15, 30, 35	30	30
PRB 919-S	0, 9, 11	9	9
PRB 924-X	0, 2, 8, 10, 26, 33, 35, 40	33	35 (Indet)
PRB 925-Y	0, 10, 18, 22, 44, 49	44	44 (Indet)
PRB 929-AD	0, 4, 14, 18, 21, 25, 28	25	25 (Indet)
PRB 930-AE	0, 3, 7, 10	7	10 (Indet)
PRB 944-AT	0, 2, 7, 9, 14, 16	14	14 (Indet)
PRB 947-AW	0, 9, 11, 20	9	9 (Indet)
PRB 949-AY	0, 6, 9, 18, 20	20	20 (Indet)

PRB 951-BA	0, 2, 8, 11, 15, 19	19	Negativo até 19 dias
PRB 952-BB	0, 7, 10, 14, 17, 21	17	14 (Indet)
PRB 953-BC	0, 3, 7, 10	10	Negativo até 10 dias
PRB 966	0, 2, 20, 22, 30, 35, 37, 44, 48, 51	48	Negativo até 51 dias

Indet: indeterminadas

Sensibilidade Clínica em Painéis de amostras reativas

Em um estudo de 68 amostras reativas que incluem 4 amostras HIV-1 grupo O, provenientes de uma instituição hospitalar, foram detectadas as 68 amostras.

Em outro estudo foram suplementados 30 amostras de sangue total com 30 soros positivos para HIV e foram avaliados em paralelo os sangues inteiros suplementados e os respectivos soros. Foram detectadas a totalidade das amostras (sangues inteiros e soros).

Em outro estudo foram avaliados em paralelo, 15 amostras reativas de soro e plasma obtidas do mesmo paciente. Para 10 de estas amostras também foi avaliado sangue inteira obtida por punção capilar. Obtiveram-se resultados positivos para todos os tipos de amostras.

b) Especificidade

Em um estudo realizado com 1122 amostras de soros, plasmas e sangue total provenientes de três centros de saúde diferentes, foi obtida uma especificidade de 99,91% com um IC_{95%} = 99,49% - 99,98%.

Em outro estudo realizado com 417 amostras de banco de sangue, a especificidade obtida foi de 99,76% com um IC_{95%} = 98,65% - 99,96%. Para 100 amostras das 417 foram avaliadas em paralelo, amostras de soro e plasma do mesmo paciente y para 40 destas 100 amostras também foi avaliado sangue total obtido por punção capilar. Obtiveram-se resultados negativos para todos os tipos de amostras.

Em outro estudo realizado com 393 amostras de soros e plasmas de três centros de saúde diferentes, foi obtida uma especificidade de 99,24% com um IC_{95%} = 97,78% - 99,74%. Também foi estudado a possibilidade de obter reações cruzadas analisando amostras provenientes de 440 indivíduos com diferentes condições clínicas que podem originar reações inespecíficas para a prova **WL Check HIV 1+2**. Estas condições incluem mulheres grávidas, pacientes hemodialisados, pacientes com enfermidades autoimunes ou enfermidades infecciosas diferentes a HIV (Chagas, HTLV, hepatite C, hepatite B, sífilis, outras). Para esta população, a especificidade foi 98,18% com um IC_{95%} = 96,45% - 99,08%.

c) Precisão

Foi avaliada a precisão da prova seguindo o protocolo EP5-A recomendado pelo CLSI (ex NCCLS). Os estudos foram realizados com 4 amostras positivas com diferentes níveis de reatividade e com 1 amostra negativa. Foram realizados 2 ensaios diários avaliando cada amostra por duplicado durante 20 dias. Os resultados foram lidos aos 20 minutos em um leitor imunocromatográfico e em forma visual. As amostras positivas foram sempre reativas e a amostra negativa foi sempre não reativa.

	Linha T					Linha C				
	Média (DO)	Intra-ensaio		Total		Média (DO)	Intra-ensaio		Total	
		P	CV	P	CV		P	CV		
Amostra positiva 1	0,221	0,027	12,36%	0,032	14,36%	0,676	0,066	9,69%	0,078	11,61%
Amostra positiva 2	0,085	0,018	20,88%	0,021	24,23%	0,686	0,077	11,22%	0,087	12,61%
Amostra positiva 3	0,271	0,044	16,40%	0,049	18,02%	0,702	0,070	9,94%	0,076	10,80%
Amostra positiva 4 (em diluição)	0,049	0,017	35,79%	0,017	35,36%	0,679	0,075	11,11%	0,085	12,59%
Amostra negativa	(-)	NC	NC	NC	NC	0,591	0,073	12,34%	0,104	17,61%

N = 80; (-) = não reativo por leitura visual; NC = Não Corresponde

APRESENTAÇÃO

- 25 determinações (Cód. 1690019)
- 25 determinações c/disp. descartáveis (Cód. 1690020)

REFERÊNCIAS


- Centro Nacional de referencia para el SIDA (<http://www.cnrsida.org.ar>)
- Centers for Disease Control and Prevention: Rapid HIV Testing (<http://www.cdc.gov/hiv/topics/testing/rapid/index.htm>)
- Greenwald JL, Burstein GR, Pincus J, Branson B. - A rapid review of rapid HIV antibody tests. - Curr. Infect. Dis. Rep. 8/2:125 (2006).
- Centers for Disease Control and Prevention: Advancing HIV Prevention: New Strategies for a Changing Epidemic, United States, 2003. MMWR 2003, 52:329-332. (<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5215a1.htm>)
- Centers for Disease Control and Prevention: Notice to Readers: Protocols for Confirmation of Reactive Rapid HIV Tests. MMWR 2004, 53:221-222 (<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5310a7.htm>)
- Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline. EP5-A, Vol. 19, Nº 2, NCCLS.
- User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline. EP12-A, Vol. 22, Nº 14, NCCLS.
- Procedures and Devices for the Collection of Diagnostic Capillary Blood Specimens; Approved Standard, 5ª Edição. H4-A5, Vol. 24, Nº 21, CLSI (ex NCCLS).
- Evaluation of Stability of In Vitro Diagnostic Reagents. Approved Guideline. EP-25A, Vol. 29, Nº 20, CLSI (ex NCCLS).


EXPLICAÇÃO DOS SÍMBOLOS


Disp. **Desc.**


Dispositivos descartáveis

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.


 Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"


 Representante autorizado na Comunidade Europeia

 Uso médico-diagnóstico "in vitro"

 Conteúdo suficiente para <n> testes


 Data de validade


 Limite de temperatura (conservar a)

 Não congelar

 Risco biológico

 Volume após da reconstituição

 Conteúdo


 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Caústico


 Irritante

 Consultar as instruções de uso

 Calibrador

 Controle

 Controle Positivo

 Controle Negativo

 Número de catálogo

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina