

## Teste Rápido Combinado em Cassete para Sífilis/VIH 1.2.O (Sangue Total/Soro/Plasma)

### Instruções de Uso

REF IISC-425	Português
--------------	-----------

Um teste rápido para a detecção qualitativa de anticorpos contra o VIH do tipo 1, tipo 2, subtipo O e anticorpos da sífilis (IgG e IgM) contra a *Treponema Pallidum* (TP) em sangue total, soro ou plasma.

Apenas para utilização profissional em diagnóstico *in vitro*.

#### UTILIZAÇÃO PREVISTA

O teste rápido combinado em cassete para sífilis/VIH 1.2.O (sangue total/soro/plasma) é um imunoenensaio cromatográfico rápido para a detecção qualitativa de anticorpos contra o VIH do tipo 1, tipo 2, subtipo O e anticorpos da sífilis (IgG e IgM) contra a *Treponema Pallidum* (TP) em sangue total, soro ou plasma.

#### RESUMO

**Teste rápido para VIH 1.2.O (sangue total/soro/plasma):** o VIH (vírus da imunodeficiência humana) é o agente etiológico da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA). O vírus está envolvido por um envelope lipídico derivado da membrana da célula hospedeira. Estão presentes várias glicoproteínas virais no envelope. Cada vírus contém duas cópias de ARN genômico de sentido positivo. O VIH-1 foi isolado de pacientes com SIDA e complexos relacionados com a SIDA e de pessoas saudáveis com um elevado risco potencial de desenvolver SIDA.<sup>1</sup> O VIH-1 é composto pelos subtipos M e O. As estirpes altamente divergentes do VIH-1 foram reconhecidas, pela primeira vez, em 1990 e agrupadas provisoriamente como subtipo O, uma vez que esta variação tem marcadores de glicoproteína semelhantes ao VIH-1, mas com uma ligeira variação do marcador de proteína. Embora raramente se comparem com o VIH-1 e o VIH-2, as infeções causadas pelo subtipo O foram até agora identificadas em África (Camarões), França e Alemanha. O VIH-2 foi isolado de pacientes com SIDA e de indivíduos seropositivos assintomáticos da África Ocidental.<sup>2</sup> O VIH-1, VIH-2 e subtipo O desencadeiam respostas imunitárias.<sup>3</sup> A detecção de anticorpos do VIH no soro, plasma ou sangue total é a forma mais eficiente e comum de determinar se um indivíduo foi exposto ao VIH e de fazer rastreios ao sangue e produtos sanguíneos para verificar a presença de VIH.<sup>4</sup> Apesar das diferenças nas suas características biológicas, atividades serológicas e sequências genómicas, o VIH-1, VIH-2 e subtipo O apresentam uma forte reatividade cruzada antigénica.<sup>5,6</sup> A maioria dos soros positivos ao VIH-2 pode ser identificada através de testes serológicos baseados em VIH-1.

**O teste rápido para sífilis (sangue total/soro/plasma)** utiliza uma combinação de antígeno duplo de uma partícula revestida de antígeno da sífilis e antígeno da sífilis imobilizado na membrana para detetar qualitativa e seletivamente anticorpos contra a TP (IgG e IgM) no sangue total, soro ou plasma.

A *Treponema Pallidum* (TP) é o agente causador da doença venérea sífilis. A TP é uma bactéria espiroqueta com um envelope exterior e uma membrana citoplasmática.<sup>7</sup> Sabe-se relativamente pouco acerca do organismo em comparação com outros agentes patogénicos bacterianos. De acordo com o Center for Disease Control (CDC), o número de casos de infeção por sífilis tem aumentado acentuadamente desde 1985.<sup>8</sup> Alguns fatores-chave que contribuíram para este aumento incluem a epidemia de cocaína crack e a alta incidência de prostituição entre os utilizadores de drogas.<sup>9</sup> Um estudo relatou uma correlação epidemiológica substancial entre a aquisição e a transmissão do vírus HIV e da sífilis.<sup>10</sup>

Múltiplos estágios clínicos e longos períodos de infeção latente e assintomática são características da sífilis. A sífilis primária é definida pela presença de uma ulceração no local da inoculação. A resposta dos anticorpos à bactéria TP pode ser detetada no prazo de 4 a 7 dias após o surgimento da ulceração. A infeção permanece detetável até o paciente receber um tratamento adequado.<sup>11</sup>

#### PRINCÍPIO

**O teste rápido para VIH 1.2.O (sangue total/soro/plasma)** é um imunoenensaio qualitativo baseado em membrana para a detecção de anticorpos contra o VIH-1, VIH-2 e subtipo O em amostras de sangue total, soro ou plasma. A membrana é pré-revestida com antígenos de VIH recombinantes nas regiões da linha de teste, T1 e T2. A linha de teste T1 é pré-revestida com antígenos de VIH-1 e do subtipo O e a linha de teste T2 é pré-revestida com antígeno de VIH-2. Durante a realização do teste, a amostra de sangue total, soro ou plasma reage com partículas revestidas com antígeno do VIH na tira de teste. A mistura migra, então, cromatograficamente no sentido ascendente na membrana por ação capilar e reage com antígenos do VIH recombinantes na membrana, nas regiões da linha de teste. Se a amostra contiver anticorpos contra o VIH-1 e/ou subtipo O ou VIH-2, será apresentada uma linha colorida na região da linha de teste; se a amostra contiver anticorpos contra o VIH-1 e/ou subtipo O e VIH-2, serão apresentadas duas linhas coloridas nas regiões da linha de teste. Ambos os casos indicam um resultado positivo. Se a amostra não contiver anticorpos contra o VIH-1, subtipo O e/ou VIH-2, não será apresentada qualquer linha colorida na região da linha de teste, o que indica um resultado negativo. Para servir como controle do procedimento, aparece sempre uma linha colorida na região da linha de controle, indicando que foi adicionado o volume adequado da amostra e que ocorreu absorção da membrana.

**O teste rápido para sífilis (sangue total/soro/plasma)** é um imunoenensaio qualitativo baseado em membrana para a detecção de anticorpos contra a TP (IgG e IgM) em sangue total, soro ou plasma. Neste procedimento de teste, o antígeno recombinante da sífilis é imobilizado na região da linha de teste do mesmo. Depois de a amostra ser adicionada ao poço de amostra do cassete de teste, reage com partículas revestidas com antígeno da sífilis no teste. Esta mistura migra cromatograficamente ao longo do comprimento do teste e interage com o antígeno da

sífilis imobilizado. O formato de teste de antígeno duplo pode detectar IgG e IgM nas amostras. Se a amostra contiver anticorpos contra a TP, será apresentada uma linha colorida na região da linha de teste, o que indica um resultado positivo. Se a amostra não contiver anticorpos contra a TP, não será apresentada uma linha colorida nesta região, o que indica um resultado negativo. Para servir como controle do procedimento, aparece sempre uma linha colorida na região da linha de controle, indicando que foi adicionado o volume adequado da amostra e que ocorreu absorção pela membrana.

#### REAGENTES

O cassete de teste contém partículas conjugadas com antígenos recombinantes de VIH 1.2.O, antígenos recombinantes de VIH 1.2.O revestidos numa membrana e partículas revestidas de antígeno de sífilis e antígeno de sífilis revestido na outra membrana.

#### PRECAUÇÕES

- Apenas para utilização profissional em diagnóstico *in vitro*. Não utilize após o prazo de validade.
- Não coma, beba nem fume na área onde as amostras ou as cassetes de teste são manuseadas.
- Não utilize o teste se a embalagem estiver danificada.
- Manuseie todas as amostras como se contivessem agentes infecciosos. Respeite as precauções estabelecidas relativamente aos perigos microbiológicos ao longo de todos os procedimentos e siga os procedimentos padrão para a eliminação adequada de amostras.
- Use vestuário de proteção, tal como batas de laboratório, luvas descartáveis e proteção ocular, aquando da testagem de amostras.
- Após a utilização, o teste deverá ser eliminado de acordo com os regulamentos locais.
- A umidade e a temperatura podem afetar negativamente os resultados.

#### ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

O kit pode ser armazenado à temperatura ambiente ou refrigerado (2 °C-30 °C). O cassete de teste permanece estável até expirar o prazo de validade impresso na embalagem selada. O cassete de teste tem de permanecer na embalagem selada até à utilização. **NÃO CONGELE.** Não utilize após o prazo de validade.

#### COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

- O teste rápido combinado em cassete para sífilis/VIH 1.2.O (sangue total/soro/plasma) pode ser realizado utilizando sangue total (colhido por venopunção ou picada no dedo), soro ou plasma.
- Para colher **amostras de sangue total por picada no dedo**:
  - Lave a mão do paciente com sabão e água morna ou limpe-a com uma gaze com álcool. Deixe secar.
  - Massageie a mão sem tocar no local da punção, esfregando a mão na direção da ponta do dedo médio ou anelar.
  - Perfure a pele com uma lanceta estéril. Limpe o primeiro sinal de sangue.
  - Esfregue suavemente a mão, do pulso até à palma e ao dedo, para que se forme uma gota arredondada de sangue sobre o local da punção.
  - Adicione a amostra de sangue total colhida por picada no dedo ao teste utilizando um **tubo capilar**:
    - Toque com a extremidade do tubo capilar no sangue até o encher até aproximadamente 50 µl. Evite a formação de bolhas de ar.
    - Coloque a teta na extremidade superior do tubo capilar e, em seguida, aperte-a para distribuir o sangue total pela área de amostra do cassete de teste.
- Separe o soro ou o plasma do sangue logo que possível, para evitar hemólise. Utilize apenas amostras claras e não hemolisadas.
- A testagem deve ser realizada imediatamente após a coleta das amostras. Não deixe as amostras à temperatura ambiente durante períodos de tempo prolongados. As amostras de soro e plasma podem ser conservadas entre 2 e 8 °C durante um período máximo de 3 dias. Para armazenamento de longo prazo, as amostras devem ser mantidas abaixo de -20 °C. Se for necessário realizar o teste num prazo de 2 dias a contar da coleta, o sangue total colhido por venopunção deve ser conservado entre 2 e 8 °C. Não congele amostras de sangue total. O sangue total colhido por picada no dedo deve ser testado de imediato.
- Coloque as amostras à temperatura ambiente antes da realização do teste. As amostras congeladas têm de ser completamente descongeladas e bem misturadas antes da realização do teste. As amostras não devem ser congeladas e descongeladas repetidamente.
- Se for necessário expedir as amostras, estas devem ser embaladas em conformidade com os regulamentos locais relativos ao transporte de agentes etiológicos.
- EDTA K2, heparina sódica, citrato de sódio e oxalato de potássio podem ser utilizados como anticoagulantes para a coleta de amostras.

#### MATERIAIS

- |                     |  |  |                  |                     |
|---------------------|--|--|------------------|---------------------|
| • Cassetes de teste | <b>Materiais fornecidos</b>                      | • Conta-gotas  | • Tampão         | • Instruções de Uso |
|                     | <b>Materiais necessários, mas não fornecidos</b> | • Recipientes de coleta de amostras  | • Centrífugadora | • Temporizador      |
|                     |  | • Tubo capilar (apenas para sangue total colhido através de picada no dedo)    |                  |                     |
|                     |  | • Lanceta estéril (apenas para sangue total colhido através de picada no dedo) |                  |                     |

#### INSTRUÇÕES DE USO

Permita que o cassete de teste, a amostra, o tampão e/ou os controles atinjam o equilíbrio à temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes de testar.

1. Coloque a embalagem à temperatura ambiente antes de a abrir. Retire o cassete de teste da embalagem selada e utilize-a assim que possível. Obtem-se os melhores resultados se o ensaio for realizado no espaço de uma hora.

2. Coloque o cassete de teste numa superfície limpa e nivelada.

3. Para **amostras de sangue total colhido por venopunção, amostras de soro ou de plasma**:

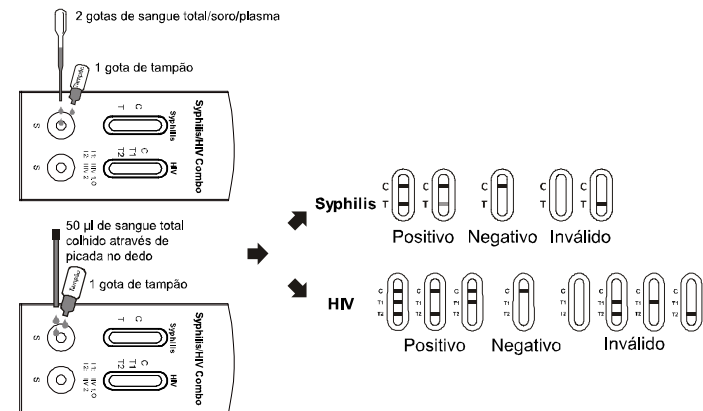
Coloque o cassete de teste numa superfície limpa e nivelada. Segure o conta-gotas verticalmente e transfira 2 gotas de sangue total, soro ou plasma (aproximadamente 50 µl) para os poços de amostra e, em seguida, adicione 1 gota de tampão (aproximadamente 40 µl), respetivamente. Inicie o temporizador. Consulte a ilustração abaixo.

4. Para **amostras de sangue total colhidas por picada no dedo**:

Para utilizar um tubo capilar: encha o tubo capilar e transfira aproximadamente 50 µl da amostra de sangue total colhida por picada no dedo para os poços de amostra do cassete de teste e, em seguida, adicione 1 gota de tampão (aproximadamente 40 µl), respetivamente, e inicie o temporizador. Consulte a ilustração abaixo.

5. Aguarde até que a(s) linha(s) colorida(s) apareça(m). **O resultado do teste deve ser lido no prazo de 10 minutos.** Não interprete os resultados após 20 minutos.

**Nota:** sugere-se que não utilize o tampão decorridos mais de 30 dias após a abertura do frasco.



#### INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

(Consulte a ilustração acima)

#### POSITIVO:

**Positivo para sífilis: aparecem duas linhas coloridas distintas.** Uma linha colorida deve estar na região de controle (C) e a outra deve estar na área de teste (T).

**Positivo para VIH: aparecem duas ou três linhas coloridas distintas.** Uma linha colorida deve aparecer sempre na região da linha de controle (C) e mais uma ou duas linhas coloridas visíveis devem aparecer nas regiões da linha de teste (T1 e/ou T2).

**NOTA:** a intensidade da cor na região da linha de teste (T) varia consoante a concentração de anticorpos contra o VIH ou anticorpos contra a sífilis presentes na amostra. Consequentemente, qualquer tonalidade de cor na região de teste deve ser considerada positiva.

**NEGATIVO: aparece uma linha colorida na região de controle (C).** Não aparece nenhuma linha vermelha ou rosa visível na região de teste (T).

**INVÁLIDO: a linha de controle não aparece.** As razões mais prováveis para a ocorrência de uma falha na linha de controle são a existência de um volume insuficiente de amostra ou a utilização de técnicas de procedimento incorretas. Reveja o procedimento e repita o teste com um novo cassete de teste. Se o problema persistir, interrompa imediatamente a utilização do kit de teste e contacte o seu distribuidor local.

#### CONTROLE DE QUALIDADE

Estão incluídos controles internos do procedimento no teste. Uma linha colorida apresentada na região de controle (C) é um controle de qualidade interno do procedimento. Esta confirma que há um volume suficiente de amostra e que foi aplicada uma técnica de procedimento correta.

Não são facultadas normas de controle com este kit; no entanto, recomenda-se que os controles positivos e negativos sejam testados, como boa prática laboratorial, para se confirmar o procedimento de testagem e verificar o desempenho adequado do teste.

#### LIMITAÇÕES

1. Este teste destina-se apenas à utilização em diagnóstico *in vitro*.
2. Este teste foi desenvolvido apenas para testar amostras de sangue total/soro/plasma. O desempenho do teste utilizando outras amostras não foi comprovado.
3. Este teste é um ensaio de rastreio qualitativo. Não foi concebido para determinar a concentração quantitativa do anticorpo de VIH 1.2.O ou do anticorpo da sífilis.
4. Tal como acontece com todos os testes de diagnóstico, todos os resultados devem ser considerados juntamente com outras informações clínicas disponíveis para o médico.
5. Se o resultado do teste for negativo e os sintomas clínicos persistirem, recomenda-se a realização de testes de acompanhamento adicionais utilizando outros métodos clínicos. Um resultado negativo em qualquer altura não exclui a possibilidade de infeção por VIH 1.2.O e/ou por sífilis.
6. O hematócrito do sangue total deve situar-se entre 25% e 65%.

**【VALORES ESPERADOS】**

O teste rápido combinado em cassette para sífilis/VIH 1.2.O (sangue total/soro/plasma) foi comparado com testes ELISA para a detecção de VIH e testes TPPA para a detecção sífilis de grande implantação no mercado, respetivamente. Demonstra uma precisão geral > 99%.

**【CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO】**

**Sensibilidade e especificidade**

**1. HIV 1.2.O**

O teste rápido para VIH 1.2.O (sangue total/soro/plasma) identificou corretamente amostras de um painel de seroconversão e foi comparado com um teste ELISA comercial para a detecção de VIH de grande implantação no mercado utilizando amostras clínicas. Os resultados mostram que a sensibilidade relativa do teste rápido para VIH 1.2.O (sangue total/soro/plasma) é > 99,9% e a especificidade relativa é de 99,8%.

Método	ELISA			Resultados totais
	Resultados	Positivo	Negativo	
Teste rápido para VIH 1.2.O (sangue total/soro/plasma)	Positivo	201	1	202
	Negativo	0	523	523
	<b>Resultados totais</b>	201	524	725

Sensibilidade relativa: > 99,9% (IC\* de 95%: 98,5% - 100%) \*Intervalos de confiança

Especificidade relativa: 99,8% (IC\* de 95%: 98,9% - 100%);

Precisão: 99,9% (IC\* de 95%: 99,2% - 100%).

**2. Sífilis**

O teste rápido para sífilis (sangue total/soro/plasma) identificou corretamente amostras de um painel de desempenho e foi comparado com um teste TPPA comercial para a detecção de sífilis de grande implantação no mercado utilizando amostras clínicas. Os resultados mostram que a sensibilidade relativa do teste rápido para sífilis (sangue total/soro/plasma) é de 99,7% e a especificidade relativa é de 99,8%.

Método	TPPA			Resultados totais
	Resultados	Positivo	Negativo	
Teste rápido para sífilis (sangue total/soro/plasma)	Positivo	311	1	312
	Negativo	1	412	413
	<b>Resultados totais</b>	312	413	725

Sensibilidade relativa: 99,7% (IC\* de 95%: 98,2% - 100%) \*Intervalos de confiança

Especificidade relativa: 99,8% (IC\* de 95%: 98,7% - 100%);

Precisão: 99,7% (IC\* de 95%: 99,0% - 100%)

**Precisão Intraensaio**

A precisão intraensaio foi determinada utilizando 20 réplicas de seis amostras: uma negativa, uma positiva baixa de VIH-1, uma positiva elevada de VIH-1, uma positiva de VIH-2, uma positiva baixa de sífilis e uma positiva elevada de sífilis. Os valores negativos e positivos foram corretamente identificados 100% das vezes.

**Interensaio**

A precisão interensaio foi determinada utilizando 20 ensaios independentes de seis amostras: uma negativa, uma positiva baixa de VIH-1, uma positiva elevada de VIH-1, uma positiva de VIH-2, uma positiva baixa de sífilis e uma positiva elevada de sífilis. Foram testados três lotes diferentes do teste rápido combinado para sífilis/VIH 1.2.O (sangue total/soro/plasma) durante um período de 10 dias utilizando as amostras negativas e positivas acima. As amostras foram corretamente identificadas 100% das vezes.

**Reatividade cruzada**

O teste rápido para VIH 1.2.O (sangue total/soro/plasma) foi testado pelas amostras positivas a IgG anti-HAMA, IgG anti-RF, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, IgG anti-VHC, IgG anti-sífilis, IgG anti-H. Pylori, IgM anti-mono-nucleose infecciosa, IgG anti-rubéola, IgM anti-rubéola, IgG anti-citomegalovírus, IgM anti-citomegalovírus, IgG anti-toxoplasmose e IgM anti-toxoplasmose. Os resultados não demonstraram a ocorrência de qualquer reatividade cruzada.

O teste rápido para sífilis (sangue total/soro/plasma) foi testado pelas amostras positivas a IgG anti-HAMA, IgG anti-RF, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, IgG anti-VHC, IgG anti-VIH, IgG anti-H. Pylori, IgM anti-mono-nucleose infecciosa, IgG anti-rubéola, IgM anti-rubéola, IgG anti-citomegalovírus, IgM anti-citomegalovírus, IgG anti-toxoplasmose e IgM anti-toxoplasmose. Os resultados não demonstraram a ocorrência de qualquer reatividade cruzada.

**Substâncias interferentes**

Foram adicionadas as seguintes substâncias potencialmente interferentes a amostras negativas e positivas a anticorpos de VIH e anticorpos de sífilis.

Paracetamol:	20 mg/dl	Cafeína:	20 mg/dl
Ácido acetilsalicílico:	20 mg/dl	Ácido genticóico:	20 mg/dl
Ácido ascórbico:	2 g/dl	Albumina:	2 g/dl
Creatina:	200 mg/dl	Hemoglobina:	1000 mg/dl
Bilirrubina:	1 g/dl	Ácido oxálico:	60 mg/dl

Nenhuma das substâncias, na concentração testada, interferiu com o ensaio.

**【BIBLIOGRAFIA】**

- Chang, SY, Bowman, BH, Weiss, JB, Garcia, RE and White, TJ. The origin of HIV-1 isolate HTLV-IIIB. Nature (1993) 3:363:466-9
- Arya, SK, Beaver, B, Jagodzinski, L, Ensoli, B, Kanki, PJ, Albert, J, Fenyo, 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
- Caetano JA Immunologic aspects of HIV infection. Acta Med Port (1991) 4 Suppl 1:52S-58S

- 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): 42-48
- Travers, K, Mboup, S, Marlink, R, Gueye-Nidaye, A, Siby, T, Thior, I, Traore, I, Dieng-Sarr, A, Sankale, JL and Mullins, C. Natural protection against HIV-1 infection provided by HIV-2. Science (1995) 268:1612-1615
- Greenberg, AE, Wiktor, SZ, DeCock, KM, Smith, P, Jaffe HW and Dondero, TJ, Jr. HIV-2 and natural protection against HIV-1 infection. Science (1996) 272:1959-1960
- Claire M. Fraser. Complete genome sequence of Treponema Pallidum, the Syphilis spirochete, Science 1998; 281 July: 375-381
- Center for Disease Control. Recommendations for diagnosing and treating Syphilis in HIV-infected patients. MMWR Morb. Mortal Wkly Rep. 1988; 37: 601
- Aral R. Marx. Crack, sex and STD, Sexually Transmitted Diseases, 1991; 18:92-101
- J.N.Wasserheit. Epidemiological Synergy: Interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases, Sexually Transmitted Diseases 1992; 19:61-77
- Johnson Phillip C. Testing for Syphilis, Dermatologic Clinic 1994; 12 Jan: 9-17

**Índice de símbolos**

	Consultar as instruções de uso ou consultar as instruções de uso eletrónicas		Contém o suficiente para <n> testes		Limite de temperatura
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Código do lote		Número de catálogo
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada e consultar as instruções de uso		Data de validade		Não reutilizar
	Cuidado		Fabricante		

