

Avaliação do InstantScreen na rotina, um ensaio ultra rápido para detecção de anticorpos anti-HIV-1/2*

Evaluation of InstantScreen under routine, an ultra rapid HIV-1/2 assay for the detection of HIV antibodies

Leonardo R. Motta¹; Ricardo S. de Souza¹; Vicent Wong²; Orlando Gómez-Marin³; Charles D. Mitchell³ & Heinrich H. Repke²

RESUMO – Objetivo: Avaliar o InstantScreen Rapid HIV-1/2 (GAIFAR GmbH, Alemanha), em condições de rotina em Caxias do Sul, RS, Brasil. Métodos: 781 amostras de soro foram coletadas de doadores de sangue, de pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), de gestantes e de crianças (<12 meses de idade) atendidas em instituições de saúde locais. Os testes foram realizados entre o dia 1º de abril até 20 de dezembro de 2001. O soro foi pesquisado para a presença de anticorpos anti-HIV pelo InstantScreen assim como por testes de referência (Genscreen HIV-1/2 Version 2, Sanofi Pasteur; ICE HIV-1.0.2, Murex Diagnostics; e Abbott AxSYM HIV-1/HIV-2, Abbott Diagnostics). Resultados: 780 amostras testadas obtiveram os seguintes dados de desempenho: sensibilidade (IC = 95%) 160/160 = 100% (98-100%); especificidade (IC=95%) 620/620=100% (99-100%). Conclusão: O teste se mostrou de alta confiabilidade. As membranas do teste podem ser removidas, servindo de opção para a documentação permanente. Devido a facilidade de execução o teste é adequado para ser utilizado nas mais variadas condições de trabalho.

PALAVRAS-CHAVE – Diagnóstico, teste rápido, vírus da imunodeficiência humana.

SUMMARY – Objective: To evaluate InstantScreen Rapid HIV-1/2 (GAIFAR GmbH, Germany) under routine conditions in Caxias do Sul, Brazil. Methods: 781 sera samples collected from blood donors, patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS), pregnant women and children (<12 months of age) attending local health centres. Tests were conducted between April 1, and December 20, 2001. Serum was screened for the presence of antibodies to HIV by InstantScreen as well as reference tests (Genscreen HIV-1/2 Version 2, Sanofi Pasteur; ICE HIV-1.0.2, Murex Diagnostics; and Abbott AxSYM HIV-1/HIV-2, Abbott Diagnostics). Results: 780 samples were tested resulting in the following performance data: sensitivity (95% CL) 160/160 = 100% (98-100%); specificity (95% CL) 620/620=100% (99-100%). Conclusion: The reliability of the test exceeds that of most laboratory assays. The test membranes can be removed, providing the option for permanent documentation. Accordingly, the test is suitable for use in any setting.

KEYWORDS – Diagnostics, rapid test, human immunodeficiency virus.

INTRODUÇÃO

A Síndrome Imunodeficiência Adquirida (SIDA) é causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), HIV tipo 1 (HIV-1)¹ e HIV tipo 2 (HIV-2)². A SIDA se propagou rapidamente, sendo que a maioria das infecções ocorrem em países em desenvolvimento pela transmissão através das transfusões de sangue³, contato sexual⁴, uso de drogas intravenosas⁵ ou através da transmissão perinatal⁶.

Como a transmissão do HIV é prevenível, o exame para HIV é uma importante estratégia de prevenção. O teste garante um diagnóstico precoce que, em caso de resultado positivo, pode retardar o aparecimento de doenças e faz com que o indivíduo deixe de transmitir o vírus involuntariamente.

O diagnóstico do HIV pode ser realizado através das seguintes metodologias: ensaio imunoenzimático (EIE ou ELISA), Western Blot, aglutinação de partículas, quimioluminescência, imunofluorescência indireta (IFI), detecção do RNA viral, pesquisa de antígeno p24 e testes rápidos⁷.

Testes sorológicos como ensaio imunoenzimático, ensaios de aglutinação de partículas e Western Blot para detecção de anticorpos anti-HIV tem sido úteis

no screening e no diagnóstico da infecção causada pelo HIV. Embora os ensaios imunoenzimáticos sejam amplamente utilizados por sua excelente sensibilidade, apresentam elevado custo, necessitam instrumentação auxiliar e apresentam metodologia complexa para serem realizados em campo. Os ensaios de aglutinação de partículas são, também, amplamente utilizados já que não requerem instrumentação complexa. Entretanto o tempo para obtenção dos resultados pode ser superior a uma hora, não sendo adequados para o uso em situações de emergência⁸. Considerando as limitações descritas acima, a utilização de um teste rápido para detecção de anticorpos anti-HIV permite a obtenção de resultados rápidos, com baixo custo, sensibilidade e especificidade adequadas, que podem ser utilizados em qualquer instalação.

O objetivo deste estudo foi avaliar um novo teste rápido, mais especificamente, o InstantScreen Rapid HIV-1/2 (GAIFAR GmbH, Alemanha), em condições de rotina em Caxias do Sul, RS, Brasil

MATERIAL E MÉTODOS

No período de 1º de abril a 20 de dezembro de 2001 foram coletadas 781 amostras de soro, provenientes de

Recebido em 10/5/2003

Aprovado em 12/01/2004

*Trabalho realizado no Laboratório de Pesquisa em HIV/AIDS da Universidade de Caxias do Sul (UCS)

¹Laboratório de Pesquisa em HIV/AIDS da Universidade de Caxias do Sul (UCS); ²German-American Institute for Applied Biomedical Research GmbH (GAIFAR);

³Division of Immunology/Infectious Diseases - Dept. of Pediatrics - University of Miami

pacientes doadores de sangue, pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida, gestantes e crianças (<12 meses de idade) atendidas em instituições de saúde locais. As amostras de sangue foram obtidas através de punção de sangue periférico, em tubos sem anticoagulante, em condições estéreis para obtenção de soro, o qual foi centrifugado e separado no período máximo de 3 horas após a coleta e refrigerado logo em seguida.

O InstantScreen é um teste ultra rápido para detecção de anticorpos anti-HIV-1 e anti HIV-2, que permite a obtenção dos resultados em tempo inferior a um minuto. O InstantScreen utiliza a uma tecnologia proprietária, baseada no uso de antígenos epítipo-combinantes que compreendem as regiões mais preservadas do HIV-1 e HIV-2. A construção deste antígenos utiliza a tecnologia de engenharia genética, o que resultou em um número aumentado de epítipos altamente antigênicos e a eliminação de locais que promovem ligações inespecíficas dos anticorpos.

São necessários 20mL de sangue total ou 10mL de soro ou plasma para execução do teste. A execução do InstantScreen consiste de três etapas que podem ser completadas em menos de um minuto:

(1) misturar a amostra de sangue, soro ou plasma, com o diluente (solução 1) e transferir para a membrana do teste;

(2) adicionar o detector (solução 2) à membrana do teste e;

(3) adicionar a solução de lavagem (solução 3). Todos os materiais acompanham o kit, que conta inclusive com lancetas e capilares para coleta do sangue.

Se a amostra não contiver anticorpos anti-HIV-1 ou anti-HIV-2, aparecerá um ponto azul no lado esquerdo da membrana. Este é controle do teste, indicando que o teste foi executado corretamente. Dois pontos azuis são indicativos de que a amostra analisada contém anticorpos anti-HIV-1 ou anti-HIV-2. Dependendo da titulação ou composição do anticorpo, que varia de paciente para paciente, a intensidade de cor do ponto pode ser mais ou menos intensa que a do ponto controle. O teste é dado como inválido, quando não houver a formação do ponto controle na membrana, indicando que o teste foi executado incorretamente, ou que há um problema com a amostra. Nestes casos, é recomendável coletar uma nova amostra para repetição do teste.

O seu sistema de detecção baseado em OCA-particles (Optimal Catch Avidity Particles) permite que o InstantScreen seja armazenado a temperatura ambiente (-20°C a +45°C).

O resultado obtido pelo InstantScreen, foi comparado aos obtidos através testes de referência (Genscreen HIV-1/2 Version 2, Sanofi Pasteur; ICE HIV-1.0.2, Murex Diagnostics; e Abbott AxSYM HIV-1/HIV-2, Abbott Diagnostics).

RESULTADOS

Das 780 amostras testadas foram obtidos os seguintes dados de desempenho: sensibilidade (IC = 95%) 160/160 = 100% (98-100%); especificidade (IC = 95%) 620/620 = 100% (99-100%).

As amostras que obtiveram resultado positivo foram submetidas ao método confirmatório de Western Blot, obedecendo os critérios propostos pelo Ministério da Saúde e Organização Mundial da Saúde (OMS).

É digno de nota que um bebê de seis meses de idade, nascido de uma mãe HIV-positiva, obteve resultado negativo pelo InstantScreen, enquanto dois ELISAs e um Western Blot deram resultado positivo. Seis meses mais tarde ambos, os testes de referência e o InstantScreen, confirmaram o status soro-negativo da criança.

DISCUSSÃO

Quando comparado a outros testes rápidos disponíveis comercialmente no Brasil, o InstantScreen demonstrou algumas vantagens. Enquanto a maioria dos testes requer volumes superiores a 50mL de sangue total, o InstantScreen requer apenas 20mL de sangue total, ou apenas 10mL de soro ou plasma. Não requer quaisquer equipamentos além daqueles contidos no kit. Por se tratar de um exame de baixa complexidade na execução, o InstantScreen não necessita pessoal altamente especializado. Outra característica marcante é a leitura visual do resultado em menos de 1 minuto.

Os testes são embalados individualmente e apresentam longo prazo de validade (2 anos), permitindo a realização do teste em laboratórios que apresentam número pequeno de testes. Além disso, o InstantScreen não requer refrigeração, podendo ser armazenado a temperatura ambiente (-20°C a +45°C). Essa característica é importante para o uso do mesmo em zonas rurais ou de difícil acesso, nas quais eletricidade ou refrigeração podem não estar disponíveis.

O teste ideal para o diagnóstico rápido do HIV seria um teste de fácil e rápida execução, baixo custo, com alta sensibilidade e especificidade, em que os resultados sejam fáceis de interpretar, que possa ser armazenado a temperatura ambiente, que apresente amplo prazo de validade e que não necessite equipamentos auxiliares para execução⁹. O InstantScreen preenche esses critérios e provou ser uma importante ferramenta no diagnóstico da infecção causada pelo HIV.

REFERÊNCIAS

1. Barre-Sinoussi, F., Chermann, J.C., Rey, F., et al. Isolation of T-lymphotrophic retrovirus from patient at risk for acquired immunodeficiency virus (AIDS). *Science* 220: 868-971. 1983.
2. Clavel, F., Guetard, D., Brun-Vezinet, F., Charmaret, S., Rey, M.A., Santos-Ferrera, M.O., et al. Isolation of a new human retrovirus from W. Africa patients with AIDS. *Science* 233:343-346. 1986.
3. Carson, J.L., Russel, L.B., Taragin, M.I., Sonnenberg, F.A., Duff, A.E., Bauer, S. The risk of blood transfusion: the relative influence of acquired immunodeficiency syndrome and non-A, non-B hepatitis. *Am. J. Med.* 92: 45-52. 1992.
4. Mastro, T.D., Satten, G.A., Nopkesorn, T., Sangkharomya, S., Longini Jr., I.M. Probability of female-to-male transmission of HIV-1 in Thailand. *Lancet* 343: 204-207. 1994.
5. Gibbs, D.A., Hamill, D.N., Magruder-Habib, K. Populations at increased risk of HIV infection: current knowledge and limitations. *J. Acquir Immune Defic Syndr* 4(9): 881-889. 1991.
6. Sherwen, L.N. Human immunodeficiency virus infection during the perinatal period: a review of literature concerning pregnant women and neonates. *J. Perinatol* 15(1): 54-66. 1995.
7. Ferreira, A.W., Ávila, S.L.M. Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto-Imunes. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1996.
8. Arai, H., Petchclai, B., Khupulsup, K., Kurinura, T., Takeda, K. Evaluation of a Rapid Immunochromatographic Test for Detection of Antibodies to Human Immunodeficiency Virus. *J. Clin. Microbiol.* 37(2): 367-370. 1999.
9. Malone, J.D., Smith, E.S., Sheffield, J., Bigelow, D., Hyams, K.C., Beardsley, S.G., Lewis, R.S., Roberts, C.R. Comparative evaluation of six rapid serological tests for HIV-1 antibody. *J. Acquir Immune Defic. Syndr.* 6:115-119. 1993.

Endereço para correspondência

Leonardo R. Motta

Lab. de Pesquisa em HIV/AIDS - Univ. de Caxias do Sul (UCS) - S/502 - Bl. S

Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130 - Bairro Petrópolis

Caxias do Sul - RS - Brasil CEP: 95001-970

e-mail: lrmotta@terra.com.br