

HIV

Antígeno e anticorpos contra o vírus da imunodeficiência humana (CLIA)

Informações do pedido

Número de catálogo	Tamanho de embalagem
HIV111	2 ×50 testes
HIV112	2 ×100 testes

Uso pretendido

O ensaio de HIV série CL é um imunoenensaio quimioluminescente de determinação quantitativa simultânea do antígeno p24 do HIV, e anticorpos para HIV-1 e/ou HIV-2 no soro ou plasma humano.

Resumo

Vírus da imunodeficiência humana (HIV) é o agente etiológico que causa a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), que pertence ao retrov írus, classificada na categoria de Lentivírus, subgênero de imunodeficiência primata. O HIV é transmitido por contato sexual, exposição ao sangue ou hemoderivados, ou infecção pré-natal do feto ou recém-nascido.¹

Há dois tipos de vírus de imunodeficiência humana, HIV-1 e HIV-2, ambos compostos de vários subtipos genéticos^{2, 3}. Os subtipos prevalentes em áreas diferentes podem variar. O HIV-1 é classificado em três grupos principais: Grupo M (principal), Grupo O (secundário) e Grupo N (não M e não O).⁴⁻⁶ Entre o Grupo M do HIV-1 há nove subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J e K) e formas recombinantes circulantes (CRFs). O HIV-1 é o vírus do HIV mais amplamente transmitido.⁴ O Grupo O e o Grupo N do HIV-1 foram descobertos em Camarões, que são raros e endêmicos somente no centro-oeste africano. No entanto, as infecções do Grupo O foram identificadas em outras áreas também.^{5, 6} O HIV-2 é classificado nos subtipos genéticos A-H, entre os quais A e B são os subtipos mais endêmicos.⁷

Quando o HIV infecta seres humano, o sistema imunológico do corpo humano responde gerando uma variedade de anticorpos para as proteínas do vírus do HIV. Os anticorpos contra a proteína de membrana trans (TMP) do vírus são os primeiros a aparecer na soroconversão de pacientes infectados por HIV. Além disso, a resposta anti-TMP continua relativamente alta em todo o curso da doença. Portanto, os anticorpos anti-TMP são bons alvos para o ensaio de HIV.⁸⁻¹³ Além do anticorpo, a 4ª geração do ensaio de HIV também destina-se ao antígeno p24 do HIV no soro ou plasma para a identificação dos indivíduos recém-infectados.^{14, 15}

O ensaio de HIV da Mindray pertence à 4ª geração do ensaio de HIV que detecta anticorpos HIV-1 (inclusive o Grupo M e O) e HIV-2, bem como o antígeno p24 do HIV antes da soroconversão, diminuindo a janela de detecção e melhorando a sensibilidade da detecção da infecção precoce por HIV.

Princípios do ensaio

O ensaio de HIV série CL é um ensaio sanduíche de dois sites para determinar o nível de antígeno p24 do HIV e os anticorpos para HIV-1 e/ou HIV-2.

Na primeira etapa, a amostra, a solução de tratamento de amostra, micropartículas paramagnéticas revestidas com p24 mAb anti-HIV e micropartículas revestidas com antígenos HIV-1 e HIV-2 específicos são adicionados em um frasco de reação. Após a incubação, o antígeno p24 do HIV na amostra se liga especificamente ao anticorpo monoclonal revestido com micropartículas, enquanto os anticorpos HIV-1 e HIV-2 na amostra se ligam às micropartículas revestidas com antígeno HIV-1 ou HIV-2. Depois, as micropartículas são capturadas magneticamente, enquanto outras substâncias não vinculadas são removidas por lavagem.

Na segunda etapa, solução de diluente, anticorpo monoclonal p24 com identificação ALP anti-HIV e antígenos HIV-1 e HIV-2 com identificação ALP são adicionados ao frasco de reação. Após a incubação, o anticorpo monoclonal p24 com identificação ALP anti-HIV e os antígenos HIV-1 e HIV-2 com identificação ALP formarão um sanduíche com o antígeno p24 do HIV ou o anticorpo HIV-1 ou HIV-2 capturado pela micropartícula, respectivamente. Depois, as micropartículas são capturadas magneticamente, enquanto outras substâncias não vinculadas são removidas por lavagem.

Na terceira etapa, a solução do substrato é adicionada ao veículo de reação. O substrato é catalisado pelo ALP no complexo imunológico capturado nas micropartículas. A reação quimioluminescente resultante é medida como unidades de luz relativa (RLUs) por um fotomultiplicador embutido no sistema. Há uma relação direta entre a quantidade de antígeno p24, o anticorpo HIV-1 ou HIV-2 ou ambos na amostra e as RLUs geradas durante a reação. A presença ou ausência de antígeno p24 do HIV e anticorpos HIV-1 ou HIV-2 na amostra é determinada pela comparação do sinal de quimioluminescência da reação ao sinal de corte determinado na calibração. Um índice de corte (COI) é calculado por RLU da amostra/RLU de ponto de corte.

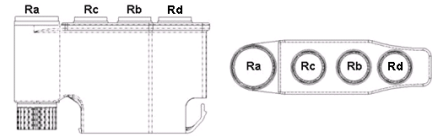
Componentes reagentes

O kit de reagentes é composto por quatro componentes: Ra, Rb, Rc e Rd. O componente não pode ser trocado, e as informações detalhadas de cada componente são listadas abaixo:

Ra	Micropartículas paramagnéticas revestidas com antígenos específicos HIV-1/2 recombinantes (<i>E. Coli.</i>) e anticorpo monoclonal p24 do HIV (IgG do camundongo) no tampão HEPES com conservante.
Rb	Antígenos específicos HIV-1/2 recombinantes com identificação ALP (<i>E. Coli.</i>) e anticorpo monoclonal p24 do HIV (IgG do camundongo) no tampão TRIS com conservante.
Rc	Diluentes de amostra no tampão TRIS com conservante.
Rd	Bloqueadores no tampão TRIS com conservante.

A posição de cada componente é mostrada na figura abaixo (vista frontal à esquerda e vista superior à

direita):



Armazenamento e estabilidade

O kit de reagentes de HIV não aberto permanece estável por até um ano inteiro quando armazenado em temperaturas entre 2 °C e 8 °C. A data de validade real está presente no rótulo.

O kit de reagentes de HIV pode ser armazenado onboard e usado por no máximo 28 dias após a abertura em 2~8 °C.

Preparação do reagente

Ra: Pronto para usar

Rb: Pronto para usar

Rc: Pronto para usar

Rd: Pronto para usar

Materiais necessários, mas não fornecidos

Analisador de Imunoensaio Quimioluminescente da série CL da Mindray

Cat. N° HIV211: Calibradores de HIV, 1 × 2,0 mL para cada nível de calibrador C0 e C1

Cat. N° HIVN311: Controle negativo de HIV Ag/Ab 3 × 2,0 mL

Cat. N° HIVN312: Controle negativo de HIV Ag/Ab 6 × 2,0 mL

Cat. N° HIVP311: Controle positivo de HIV Ag/Ab 12 × 2,0 mL

(Controle positivo de HIV Ag: 6 × 2,0 mL, controle positivo de HIV Ab: 6 × 2,0 mL)

Cat. N° HIVP312: Controle positivo de HIV Ag/Ab 6 × 2,0 mL

(Controle positivo de HIV Ag: 3 × 2,0 mL, controle positivo de HIV Ab: 3 × 2,0 mL)

Cat. N° CS511: Solução de substrato, 4 × 115 mL

Cat. N° WB411: Tampão de lavagem

Frasco de reação

Sistema do equipamento

Analisador de Imunoensaio Quimioluminescente da série CL da Mindray

Coleta e preparação do espécime

O soro humano é recomendável para este ensaio. Centrifugue as amostras em 3500 rpm por no mínimo 10 minutos após a formação do coágulo ser concluída. As amostras devem ser testadas assim que possível, após a coleta da amostra e o tratamento pré-analítico. Teste as amostras dentro de duas horas após a centrifugação. Caso o teste não seja concluído em 12 horas, transfira o sobrenadante para tubos para armazenamento. As amostras deverão ser fechados e refrigerados a 2~8°C. Se os testes forem ser atrasados por mais de 7 dias, as amostras deverão ser congeladas a -20°C ou abaixo.

Evite ciclos repetidos de congelação e descongelação, o que pode causar deterioração da amostra. A amostra pode ser usada depois de, no máximo, cinco ciclos de congelamento e descongelamento. As amostras anteriormente congeladas devem ser misturadas bem e cuidadosamente depois de descongeladas e centrifugadas a 10000g por 10 minutos.

Não use a amostra com as seguintes condições:

- inativada por calor
- maciçamente hemolisada
- contaminação microbiana evidente
- fibrina ou outros resíduos visíveis

Procedimento do ensaio

Para obter o procedimento de ensaio ideal, os operadores devem ler o manual de operação do sistema relacionado com atenção, para obter informações suficientes, como instruções de operação, preservação e administração da amostra, precauções de segurança e manutenção. Prepare todos os materiais necessários para o ensaio também.

Antes de carregar o kit de reagentes de HIV no instrumento pela primeira vez, inverta o frasco fechado do reagente suavemente por pelo menos 30 vezes para ressuspensão das micropartículas, que se acomodaram durante a remessa ou armazenamento. Inspeção visualmente o frasco para assegurar que as micropartículas tenham sido bem misturadas. Se as micropartículas permanecerem coladas no frasco, continue invertendo até que elas sejam totalmente misturadas. Se não for possível homogeneizar as micropartículas de novo, é recomendável não usar esse frasco de reagente. Entre em contato com o Serviço de Atendimento da Mindray para obter ajuda. Não inverta o frasco do reagente aberto.

Este ensaio requer 100 µL de volume de amostra para um único teste. Esse volume não inclui o volume morto do contêiner da amostra. Um volume adicional é necessário ao realizar mais testes da mesma amostra. Os operadores devem consultar o manual de operação do sistema e o requisito específico do ensaio para determinar o volume mínimo da amostra.

Calibração

As informações de calibração são armazenadas no código de barras anexado no pacote de reagente e calibrador. Ao realizar a calibração, verifique as informações dos códigos de barras no sistema primeiro, e depois teste os calibradores em dois níveis. É necessário calibrar antes de qualquer teste de HIV. A recalibração é recomendável a cada 4 semanas ou quando um novo lote de reagente é usado, ou os controles de qualidade estão fora do intervalo especificado. Para obter instruções detalhadas de calibração, consulte o manual de operação do sistema.

Controle

Para verificar a confiabilidade do sistema do ensaio, os controles de qualidade devem ser executados pelo menos uma vez a cada 24 horas, após o carregamento de um novo pacote de reagente ou depois de cada calibração. Dois controles para este ensaio são o Controle negativo de HIV e o Controle

positivo de HIV da Mindray.

Os resultados do controle de qualidade devem estar dentro dos intervalos aceitáveis. Se um controle estiver fora do intervalo especificado, os resultados do teste associado serão inválidos e as amostras precisarão ser retestadas. Talvez seja necessário recalibrar. Consulte o manual de operação do sistema para verificar o sistema. Se os resultados do controle de qualidade ainda estiverem fora do intervalo especificado, entre em contato com o Serviço de Atendimento da Mindray para obter ajuda.

Cálculo

O analisador série CL calcula a média dos sinais de RLU de ambos os calibradores C1 e C0.

O analisador série CL calcula o resultado de HIV com base na proporção de RLU de amostra para RLU de corte (índice de corte, COI) de cada espécime e controle.

RLU de corte = [(RLU média de C1 - RLU média de C0) x Coeficiente de calibração] + RLU média de C0

O coeficiente de calibração é específico para cada lote de reagente e calibrador.

COI = RLU de amostra/RLU de corte

Interpretação dos resultados

As amostras com COI<1,00 são não reativas no ensaio de HIV da Mindray. Essas amostras são consideradas negativas para HIV, e não precisam de mais testes.

Amostras com um COI ≥1,00 são consideradas inicialmente reativas.

Todas as amostras inicialmente reativas devem ser transferidas para um tubo de centrifuga e centrifugadas a ≥10.000 RCF (força centrífuga relativa) por 10 minutos e, em seguida, testadas em duplicata.

Se COI for <1,00 em ambos os retestes, essa amostra será considerada negativa para o antígeno p24 de HIV e os anticorpos HIV-1/2.

Se COI for ≥ 1,00 em um dos retestes, a amostra será considerada como várias vezes reativa, e será positiva para o antígeno p24 de HIV ou anticorpos HIV-1/2, ou positiva para o antígeno e os anticorpos.

As amostras várias vezes reativas devem ser confirmadas de acordo com o procedimento recomendado pela entidade reguladora, como testes de Western Blot e RNA de HIV.

Limitação de medida

O resultado de HIV em uma determinada amostra pode variar, dependendo dos ensaios de fabricantes diferentes, devido às diferenças nos métodos do ensaio, calibração e especificidade do reagente. Os resultados do ensaio devem ser usados em conjunto com outros dados, como sintomas, resultados de outros testes, histórico clínico etc. para tomar decisões clínicas.

Características de desempenho

Sensibilid.

A sensibilidade para p24 de HIV no ponto de corte é <2 IU/mL. A precisão da medição é rastreável para o padrão internacional de antígeno p24 de HIV da OMS (código NIBSC: 90/636).

505 amostras foram clinicamente diagnosticadas

com infecção por HIV e classificadas como status da doença. Dentre elas, cinco amostras são positivas para o anticorpo HIV-O, 30 são positivas para o anticorpo HIV-2 e 23 são positivas para o antígeno p24 de HIV. O ensaio de HIV no sistema Mindray CL-2000i detectou 505 amostras como positivas, com a taxa de coincidência positiva em 100%.

Precisão

O ensaio de HIV série CL foi projetado para ter uma precisão de ≤10% (dentro do CV do dispositivo). A precisão foi determinada de acordo com o Comitê Nacional para Normas de Laboratórios Clínicos (NCCLS), Protocolo EP5-A2¹⁴. Três níveis de controles de qualidade foram testados em duplicata em duas execuções separadas por dia, em um total de 20 dias, usando um único lote de reagentes e uma única curva de calibração. Os dados de precisão estão resumidos na tabela abaixo.

Amostra	Média (COI)	CV na série	Entre o CV da execução	CV no dispositivo
Controle negativo	0,14	2,42%	3,44%	6,46%
Controle positivo 1	6,95	1,15%	2,98%	3,40%
Controle positivo 2	5,95	1,18%	3,02%	3,66%

Especificidade

Hemoglobina até 500 mg/dL, bilirrubina até 20 mg/dL, triglicerídeos até 3.000 mg/dL, proteína total até 10 g/dL, fator reumatoide (RF) até 1500 IU/mL, anticorpo anti-DNA (ANA) até 400 U/L e anticorpo anti-humano de camundongo (HAMA) não interferem no ensaio de HIV. Essas substâncias mostram menos de 10% de interferência nas concentrações indicadas.

O Kit de HIV da Mindray foi avaliado quanto a possíveis substâncias com reação cruzada em indivíduos com condições médicas não relacionadas à infecção por HIV. Pelo menos 5 amostras contendo cada uma das substâncias possivelmente interferentes das seguintes (HAV, Anti-HBs, HCV, HEV, HGV, Anti-HTLV-I/II, HBsAg, TP, EBV, RV, CMV, HSV-1, Toxo, rodela, *E.coli*, Yeast e Lentivírus) são testadas pelo kit de HIV da Mindray e um kit de reagentes de referência. Todos os resultados são consistentes entre o ensaio da Mindray e o ensaio de referência.

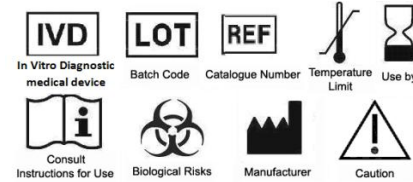
1021 amostras foram consideradas negativas por métodos de referência. O ensaio de HIV no sistema Mindray CL-2000i detectou 1019 amostras como negativas, enquanto 2 amostras foram consideradas positivas, com uma especificidade diagnóstica de 99,8%.

Avisos e precauções

- 1. Apenas para diagnóstico *in vitro*.
- 2. Siga todas as regras ao manusear reagentes de laboratório e adote as precauções de segurança necessárias.
- 3. Devido às diferenças na metodologia e especificidade do anticorpo, os resultados de teste da mesma amostra podem ser diferentes durante o uso de kits de reagentes de fabricantes diferentes no sistema da Mindray

- ou com o uso de kits de reagentes da Mindray em outros sistemas.
- 4. Não use kits de reagentes com a data de expiração vencida.
- 5. Não use reagentes misturados de lotes diferentes.
- 6. Sempre mantenha o pacote de reagente na posição vertical para assegurar que nenhuma micropartícula seja perdida antes do uso.
- 7. Não é recomendável usar o pacote de reagente aberto a mais de 28 dias.
- 8. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida se as instruções no encarte deste pacote não forem seguidas.
- 9. Todos os espécimes e detritos de reação devem ser considerados potencialmente perigosos. As amostras e os detritos de reação devem ser manuseados de acordo com os regulamentos e diretrizes locais.
- 10. A folha de dados de segurança de material (MSDS) está disponível mediante solicitação.

Símbolos Gráficos



Bibliografia

- 1. Schochetman G, George JR, editors. AIDS Testing: A Comprehensive Guide to Technical, Medical, Social, Legal, and Management Issues. 2nd ed. New York: NY Springer-Verlag; 1994.
- 2. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T-lymphotropicretrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983; 220:868-71.
- 3. Clavel F, Guetard D, Brun-Vezinet F et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* 1986; 233:343-6.
- 4. Peeters M. Recombinant HIV sequences: their role in the global epidemic. Em: Kuiken C, Foley B, Hahn B, et al, editors. *HIV Sequence Compendium 2000*. Los Alamos, NM: Los Alamos National Laboratory, 2000:54-73. (Disponível on-line em <http://hiv-web.lanl.gov>)
- 5. Khouri ME, et al. Hepatitis B: Epidemiological, immunological, and serological considerations emphasizing mutation. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo* 2004; 59(4):216-224.
- 6. Ayoub A, Souquieres S, Njinku B, et al. HIV-1 group N among HIV-1-seropositive individuals in Cameroon. *AIDS* 2000; 14:2623-5.
- 7. Peeters M, Gueye A, Mboup S, et al. Geographical distribution of HIV-1 group O viruses in Africa. *AIDS* 1997; 11:493-8.
- 8. Gao F, Yue L, Robertson DL, et al. Genetic diversity of human immunodeficiency virus type 2: evidence for distinct sequence

- subtypes with differences in virus biology. *J Virology* 1994; 68:7433-47.
- 9. Sarngadharan MG, Popovic M, Bruch L, et al. Antibodies reactive with human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) in the serum of patients with AIDS. *Science* 1984; 224:506-8.
- 10. Allan JS, Coligan JE, Barin F, et al. Major glycoprotein antigens that induce antibodies in AIDS patients are encoded by HTLV-III. *Science* 1985; 228:1091-4.
- 11. Barin F, McLane MF, Allan JS, et al. Virus envelope protein of HTLV-III represents major target antigen for antibodies in AIDS patients. *Science* 1985; 228:1094-6.
- 12. Hunt JC, Johnson-Paepke J, Boardway K, et al. Discrimination between HIV-1 and HIV-2 seropositive individuals using mouse monoclonal antibodies directed to HIV transmembrane proteins. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1990;6: 883-98.
- 13. Clavel F, Guyader M, Gutard D, et al. Molecular cloning and polymorphism of the human immune deficiency virus type 2. *Nature* 1986; 324:691-5.
- 14. Allain J-P, Laurian Y, Paul DA, et al. Serological markers in early stages of human immunodeficiency virus infection in haemophiliacs. *Lancet* 1986; 2(8518):1233-6.
- 15. Goudsmit J, De Wolf F, Paul DA, et al. Expression of human immunodeficiency virus antigen (HIV-Ag) in serum and cerebrospinal fluid during acute and chronic infection. *Lancet* 1986; 2(8500):177-80.
- 16. CLSI. EP5-A2: Vol. 24, No. 25, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method; Approved Guideline – Second Edition.

© 2017 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Todos os direitos reservados

Fabricante: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Endereço: Mindray building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 P.R.China

Endereço de e-mail: service@mindray.com.cn

Tel: +86-755-26582888

Fax: +86-755-26582680