

# HIV Ag Confirmatory Test

Teste confirmatório do antígeno do HIV

12001101 122

2 x 20 testes

Português

## Função

Imunoensaio para a confirmação *in vitro* da presença do antígeno HIV p24 em amostras de soro e plasma humanos repetidamente reactivas ou limítrofes (borderline), quando testadas com o teste Elecsys HIV Ag.

## Características<sup>1,2,3,4,5,6,7,8,9</sup>

O teste confirmatório Elecsys HIV Ag baseia-se no princípio da neutralização de anticorpos específicos.<sup>1</sup> Os anticorpos policlonais específicos do HIV Ag ligam-se a epítopos imunodominantes do antígeno HIV p24, bloqueando os locais de ligação dos anticorpos utilizados no ensaio Elecsys HIV Ag.

## Princípio do teste

O princípio do teste baseia-se no pré-tratamento das amostras com reagente confirmatório e com reagente de controlo, seguido pelo ensaio com o teste Elecsys HIV Ag. Em paralelo, deverá efectuar-se o controlo positivo, Elecsys PreciControl HIV Ag 2, de modo a verificar o desempenho do teste.

### Pré-tratamento das amostras:

- As amostras que são repetidamente reactivas ou limítrofes (borderline) no teste Elecsys HIV Ag são tratadas em paralelo com o reagente confirmatório e com o reagente de controlo e, de seguida, incubadas. Os anticorpos anti-HIV contidos em excesso no reagente confirmatório neutralizam qualquer HIV Ag presente na amostra. No teste Elecsys HIV Ag subsequente, isto leva a uma redução do valor do índice de cutoff (ICO) (sinal da amostra/cutoff) em comparação com o valor obtido para a amostra com reagente de controlo que tenha sido medido em paralelo.

### Teste do HIV Ag:

- 1ª incubação: O antígeno HIV-p24 presente na amostra ou no controlo pré-tratado (50 µl) reage com um anticorpo monoclonal específico de HIV p24 Ag biotinilado e com um anticorpo específico de HIV p24 Ag marcado com complexo de ruténio<sup>a</sup>, formando um complexo sandwich.
- 2ª incubação: Após a incorporação das micropartículas revestidas de estreptavidina, o complexo formado liga-se à fase sólida pela interacção da biotina e da estreptavidina.
- A mistura de reacção é aspirada para a célula de leitura, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eléctrodo. Os elementos não ligados são então removidos com ProCell. A aplicação de uma corrente eléctrica ao eléctrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador.
- Os resultados são determinados automaticamente pelo software Elecsys comparando o sinal de electroquimioluminescência obtido no produto de reacção da amostra com o sinal do valor de cutoff anteriormente obtido pela calibração do ensaio HIV Ag. Segue-se uma verificação manual da validade do teste e a interpretação dos resultados.

a) Complexo Tris(2,2'-bipiridil)ruténio(II) (Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>)

## Reagentes - soluções de trabalho

Dispositivo Elecsys HIV Ag Confirmatory Test, Ref. 12001101 - 2 x 20 testes

Frasco 1	Reagente confirmatório (tampa preta), 2 frascos com 1,0 ml cada: Soro humano, positivo para anticorpos anti-HIV; capacidade de neutralização (CN) > 90% para o Elecsys PreciControl HIV Ag 2; conservante.
Frasco 2	Reagente de controlo (tampa branca), 2 frascos com 1,0 ml cada: Soro humano, anti-HIV negativo; conservante.

## Precauções e advertências

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais.

Elimine todos os resíduos de acordo com os regulamentos locais.

Ficha de segurança fornecida a pedido, para uso profissional.

Todo o material de origem humana deve ser considerado como potencialmente infeccioso.

O reagente de controlo (frasco 2) foi preparado exclusivamente com sangue de doadores testados individualmente e que, segundo os métodos aprovados pela FDA, estão isentos de HBsAg e de anticorpos para o HCV e HIV.

O soro com anticorpos anti-HIV utilizado no reagente confirmatório (frasco 1) foi testado para a detecção de infecções pelos vírus da hepatite B e da hepatite C. Os resultados foram negativos.

O soro contendo anticorpos anti-HIV foi inativado com β-propiolactona e radiação UV.

Contudo, como nenhum método ou inactivação pode excluir com total segurança o risco de potencial infecção, o material deve ser tratado com o mesmo cuidado que é utilizado com as amostras dos pacientes. Em caso de exposição, cumpra as instruções das autoridades de saúde competentes.<sup>10,11</sup> Os reagentes não podem ser utilizados após o fim do prazo de validade indicado.

**Evite a formação de espuma com todo tipo de reagentes e amostras (amostras de pacientes, calibradores e controlos).**

## Preparação dos reagentes

Os reagentes do dispositivo estão prontos a ser utilizados. Evite contaminação. Conserve a 2-8°C depois de usar.

## Conservação e estabilidade

Conservar a 2-8°C.

Estabilidade das soluções 1 e 2:

em frasco fechado a 2-8°C: até ao fim do prazo de validade indicado após abertura a 2-8°C: 4 semanas

## Colheita e preparação das amostras

Amostras que foram repetidamente reactivas no teste Elecsys HIV Ag. Também se aplicam as condições referentes à estabilidade e colheita das amostras descritas para o teste Elecsys HIV Ag.

## Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".

## Materiais necessários (mas não fornecidos)

- Ref. 11971611, dispositivo de reagentes Elecsys HIV Ag para 100 testes (os materiais necessários para a realização do teste Elecsys HIV Ag estão descritos no folheto informativo do teste Elecsys HIV Ag)
- Analisador Elecsys 2010 ou MODULAR ANALYTICS E170

## Realização do ensaio

### Pré-tratamento das amostras:

- Para amostras positivas e limítrofes (borderline) com um índice de cutoff ≥ 0,95  
200 µl de amostra + 50 µl de reagente confirmatório  
200 µl de amostra + 50 µl de reagente de controlo  
Homogeneizar bem.

O Elecsys PreciControl HIV Ag 2, que é o controlo positivo, deverá ser sempre executado em paralelo como verificação do desempenho:

- Para o controlo  
200 µl de PreciControl HIV Ag 2 + 50 µl de reagente confirmatório  
200 µl de PreciControl HIV Ag 2 + 50 µl de reagente de controlo  
Homogeneizar bem.

### Interpretação da mistura de reacção:

30-120 minutos a 15-25°C ou de um dia para o outro a 2-8°C.

### Teste Elecsys HIV Ag:

As amostras pré-tratadas são colocadas na zona destinada a amostras e registadas através da introdução dos dados de identificação da amostra. O ensaio Elecsys HIV Ag é realizado de acordo com as instruções fornecidas no folheto informativo do dispositivo.

## Calibração

Para mais informações sobre a calibração, frequência da calibração e verificação da calibração, consulte os dados fornecidos no folheto informativo do dispositivo de reagentes do teste Elecsys HIV Ag.

## Controlo de qualidade

O Elecsys PreciControl HIV Ag 2 deverá ser sempre realizado em paralelo com as amostras que necessitam de confirmação. Para a verificação do teste confirmatório é necessário o índice de cutoff do Elecsys PreciControl HIV Ag 1 determinado no teste Elecsys HIV Ag.

A verificação é feita pelo utilizador.

Para o teste Elecsys HIV Ag, aplicam-se as condições indicadas no folheto informativo.



# HIV Ag Confirmatory Test

cobas

## Teste confirmatório do antígeno do HIV

### Cálculo

O analisador calcula automaticamente o valor de cutoff com base nas medições dos dois calibradores Elecsys HIV Ag (Ca1 e Ca2) incluídos no dispositivo.

Os resultados de uma amostra são apresentados como reactivos, limítrofes (borderline) ou não reactivos, e sob a forma de um índice de cutoff (ICO) = (sinal da amostra/cutoff).

O índice de cutoff é necessário para a avaliação do teste confirmatório.

### Limitações – interferências<sup>12</sup>

No teste Elecsys HIV Ag aplicam-se as informações apresentadas no folheto informativo dos reagentes do teste, na secção "Limitações - interferências".

Em casos muito raros, factores influenciadores podem dar origem a um resultado reactivo no teste Elecsys HIV Ag que depois não é confirmado no teste Elecsys HIV Ag Confirmatory, apesar de a amostra conter concentrações diminutas de antígeno p24 do HIV-1.

Em amostras negativas para o anticorpo HIV de pessoas que apresentam sinais de infecção pelo HIV, é necessário realizar testes de HIV-RNA e/ou testes feitos com amostras de seguimento, no caso de o teste Elecsys HIV Ag ter revelado resultados negativos ou falso-reativos, de modo a confirmar os resultados obtidos anteriormente.

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do paciente, o exame clínico e outros resultados.

### Avaliação e interpretação dos resultados

#### Verificação da validade do teste:

Antes da avaliação, tem de verificar-se a validade do teste. A avaliação pode ser realizada quando, além das condições que se aplicam ao teste Elecsys HIV Ag, são respeitados os seguintes critérios:

- A neutralização (N) do Elecsys PreciControl HIV Ag 2 com o reagente confirmatório tem de ser > 90% da obtida com o reagente de controlo:

$$N = \frac{\text{ICO PC HIVAG2 com reag. de controlo} - \text{ICO PC HIVAG2 com reag. conf.}}{\text{ICO PC HIVAG2 com reag. de controlo} - \text{ICO PreciControl 1 (teste HIV Ag)*}} \times 100$$

Se N for < 90%, é necessário verificar as condições de teste. Sempre que necessário, repetir o teste com reagente recém-colocado.

- Para que a avaliação da amostra seja válida, o índice de cutoff da amostra com o reagente de controlo tem de ser  $\geq 0,9$ .

#### Avaliação e interpretação dos resultados:

- Cálculo da neutralização - N (%):

$$N = \frac{\text{ICO amostra com reag. de controlo} - \text{ICO amostra com reag. confirm.}}{\text{ICO com reag. de controlo} - \text{ICO PreciControl 1 (teste HIV Ag)*}} \times 100$$

Para confirmar o resultado positivo de uma amostra, a neutralização da amostra com o reagente confirmatório tem de ser > 50% da obtida com o reagente de controlo.

#### Interpretação:

N < 50% = amostra negativa ou falsamente reactiva

N > 50% = positiva

\* Índice de cutoff de Elecsys PreciControl HIV Ag 1 não tratado utilizado para controlo de qualidade no teste Elecsys HIV Ag.

### Dados específicos sobre o desempenho<sup>12</sup>

São apresentados a seguir dados representativos do pré-tratamento manual das amostras, seguido pela determinação no analisador Elecsys 2010.

Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

### Precisão

A reprodutibilidade dos passos do teste executados manualmente foi determinada com 3 soros de concentrações diferentes de HIV Ag (8-10 vezes por amostra com os reagentes de controlo e de confirmação).

Após um período de incubação de 30 minutos a 20°C, as amostras pré-tratadas foram analisadas no analisador Elecsys 2010 utilizando reagentes, calibradores e controlos Elecsys.

Resultados do teste HIV Ag original - sem pré-tratamento das amostras (intra-ensaio n = 8-10):

Amostra	Média ICO	DP ICO	CV %
Soro humano, negativo	0,46	0,04	9,4
Soro humano, positivo fraco	5,06	0,14	2,8
Soro humano, positivo	58,0	1,56	2,7
PreciControl HIV Ag 2	36,7	2,15	5,9

Resultados após pré-tratamento manual das amostras:

Amostra	Reagente de controlo			Reagente confirmatório		
	Média ICO	DP ICO	CV %	Média ICO	DP ICO	CV %
Soro humano, negativo	0,44	0,03	7,0	0,42	0,04	8,8
Soro humano, positivo fraco	4,13	0,12	2,9	0,46	0,03	7,4
Soro humano, positivo	31,5	1,22	3,9	0,64	0,06	9,5
PreciControl HIV Ag 2	23,3	0,67	2,9	0,49	0,07	14,5

### Bibliografia

- "Akte AIDS" Supplement der MMW zum Welt AIDS Tag 1. Dez. München Med Wschr 1997;139 Suppl 1:1-129.
- Hammer S, Crumpacker C, D'Aquila R, Jackson B, Lathey J, Livnat D, et al. Use of Virologic Assays for Detection of Human Immunodeficiency Virus in Clinical Trials: Recommendation of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. J Clin Microbiol 1993;31(10):2557-2564.
- Chamberland ME, Castro KG, Haverkos HW, Miller BI, Thomas PA, Reiss R, et al. Acquired Immunodeficiency Syndrome in the United States: An Analysis of Cases Outside High-Incidence Groups. Ann Intern Med 1984;101(5):617-623.
- Arlevsky NZ, Pollack H, Rigaud M, Kaul A, Krasinski K, Borkowsky W. Shortened survival in infants vertically infected with human immunodeficiency virus with elevated p24 antigenemia. J Pediatr 1995;127(4):538-543.
- Goudsmit J, Lange JM, Krone WJ, Teunissen MB, Epstein LG, Danner SA, et al. Pathogenesis of HIV and its implications for the serodiagnosis and monitoring of antiviral therapy. J Virol Methods 1987;17(1/2):19-34.
- Couroucé AM, Barin F, Maniez M, Janot L, Noel L, Elghouzi MH. Effectiveness of assays for antibodies to HIV and p24 antigen to detect very recent HIV infections in blood donors. AIDS 1992; 6(12):1548-1550.
- Mulder JW, Lange JMA, de Wolf F, Houweling JTM, Bakker M, Coutinho J, et al. Serum p24 antigen levels in untreated and zidovudine-treated HIV-1 infected subjects. J Med 1990;37:4-10.
- Bowen PA, Lobel SA, Caruana RJ, Leffell MS, House MA, Rissing JP, et al. Transmission of Human Immunodeficiency Virus (HIV) by Transplantation: Clinical Aspects and Time Course Analysis of Viral Antigenemia and Antibody Production. Ann Int Med 1988;108:46-48.
- Schüpbach J, Flepp M, Pontelli D, Tomasik Z, Lüthy R, Böni J. Heat-mediated immune complex dissociation and enzyme-linked immunosorbent assay signal amplification render p24 antigen detection in plasma as sensitive as HIV-1 RNA detection by polymerase chain reaction. AIDS 1996;10(10):1085-1090.
- Occupational Safety and Health Standards: bloodborne pathogens. (29 CFR Part 1910.1030). Fed. Register. July 1, 2001;17:260-273.
- Directiva do Conselho (2000/54/CEE). Jornal Oficial das Comunidades Europeias Nº. L262 de 17 de Out., 2000.
- Documentação da Roche Diagnostics.

### NOTA PARA O COMPRADOR: LIMITED LICENSE

A aquisição deste produto permite que o comprador o utilize exclusivamente para diagnóstico in vitro humano pela tecnologia ECL. Nenhuma patente geral ou outra licença de qualquer tipo, à excepção deste direito específico de uso de compra, é concedida por este meio. Este produto não pode ser usado pelo comprador na pesquisa/desenvolvimento em ciências da vida, em testes de auto-diagnóstico, na identificação/desenvolvimento de drogas ou em qualquer utilização ou teste veterinário, alimentar, de água ou ambiental.

Para mais informações, consulte o manual do operador adequado ao analisador, as folhas de aplicação respectivas, a informação do produto e os folhetos informativos de todos os componentes necessários.




# HIV Ag Confirmatory Test

Teste confirmatório do antígeno do HIV

cobas

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem. As alterações dos parâmetros de teste do código de barras do reagente que já foram introduzidas devem ser editadas manualmente.  
©2005 Roche Diagnostics

CE 0123

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

