



PESQUISAJE PRENATAL

CARATERÍSTICAS DE LOS KITS

- ◉ *Facilidad en la obtención y manipulación de las muestras*
- ◉ *Estandarizados exclusivamente para papel filtro*
- ◉ *Procedimiento manual y automatizado*
 - ◉ *Alta sensibilidad y especificidad*
- ◉ *Costos similares a las técnicas en suero*
- ◉ *Formato para pequeña, media y grande rutina*
- ◉ *Validaciones en diversas e importantes instituciones*



Enfermedades que pueden ser detectadas

VIH
HTLV
SÍFILIS
CHAGAS
RUBEOLA
HEPATITIS B
HEPATITIS C
TOXOPLASMOSE
CITOMEGALOVIRUS



www.prime-diagnostics.com

PRIME DIAGNOSTICS DO BRASIL

Av. João Carlos da Silva Borges, 520
Vila Cruzeiro - São Paulo - SP
CEP 04726-001
Tel (5511) 5641 9249 - Fax: (5511) 5641-3461

PROGRAMA PRENATAL

El **Programa de Prenatal** se caracteriza por la implementación de acciones preventivas y educativas por medio del contacto frecuente y planificado de la embarazada con los servicios de salud, posibilitando la intervención precoz en los problemas que afectan el embarazo y futuramente el recién nacido. Los objetivos básicos del prenatal son:

- Preparar la mujer para la maternidad: instrucción sobre el parto e puericultura.
- Orientaciones sobre hábitos de vida: higiene Prenatal.
- Evitar el uso de medicaciones o medidas que puedan perjudicar el feto.
- Tratar los pequeños disturbios habituales durante el embarazo.
- **Hacer profilaxis, diagnóstico y tratamiento de enfermedades propias del embarazo.**
- Orientar psicológicamente la gestante.

Una de las principales preocupaciones de las instituciones vinculadas a la salud de la mujer y el niño en Latinoamérica en la actualidad es asegurar el acceso, la cobertura y la calidad del acompañamiento prenatal, especialmente la realización de exámenes de laboratorios para el control de enfermedades infecciosas que pueden ser transmitidas de la madre para el recién-nacido, antes, durante o después del embarazo y parto.

Aunque las grandes prioridades de las autoridades e instituciones de salud están dirigidas a cambiar la situación existente con el SIDA y la Sífilis principalmente, el panorama actual todavía es preocupante.

SITUACIÓN CON EL VIH Y SIFILIS EN AMERICA LATINA

- Se calcula que 600.000 personas han muerto en los ultimo 20 años por causa del VIH;
- 2 millones viven con VIH'SIDA en America Latina;
- Aproximadamente 60% de los casos de VIH ocurren entre los 25 y 34 años;
- La incidencia de VIH entre la población de 15 a 49 años es de 0,7%;
- Aumento de la incidencia de VIH entre mujeres;
- La incidencia de Sífilis en America Latina es 3,1 %
- Se estima que de los 330 000 embarazos con resultados positivos en la prueba de sífilis que no reciben tratamiento, 110 000 culminan en el nacimiento de niños con sífilis congénita y un número similar termina en aborto espontáneo.

Atualmente algunos factores relacionados con la falta de infra-estructuras de salud fuera de las grandes capitales limitan la implementación, cobertura y eficiencia de los estudios epidemiológicos de campo y programas de pesquiasaje en países en vias de desarrollo, comenzando por la dificultad para la obtención de la muestra usando la vía tradicional de recolección (sangre venosa), que necesita de personal calificado, así como materiales descartables, tales como: tubos de muestra, jeringuillas, agujas, además de que este tipo de muestra necesita de centrifugación y refrigeración, lo que dificulta el transporte y la manipulación de las mismas.

PROJETO Q-PREVEN

El uso de papel filtro constituye un método barato y conveniente para recolectar, almacenar, transportar y conservar por largos períodos muestras de sangre para ser utilizadas en estudios poblacionales y en programas de pesquiasaje, esto fue demostrado por la experiencia de los programas de pesquiasaje neonatal durante los últimos 40 años para un grupo grande de enfermedades heredo-metabólicas e infecciosas. Gracias al uso de este tipo de muestra, estos programas, inclusive en países menos desarrollados han conseguido excelentes coberturas y por consiguiente posibilitado hacer el diagnóstico, tratamiento y control de diversas enfermedades congénitas, permitiendo la disminución y/o eliminación de las secuelas asociadas a cada enfermedad, algo muy importante cuando se habla de programas de salud preventiva.

Buscando atender estas necesidades un grupo de científicos brasileiros con amplia experiencia en el desarrollo de productos para pesquiasaje utilizando muestras recolectadas en papel filtro, a través de acuerdos con fabricantes de productos para diagnóstico in vitro, iniciaron en 2002 el desarrollo de la línea de kits diagnóstico **Q-PREVEN**, basada en la técnica de ELISA (Inmunoensayo), para ser utilizada en el screening de enfermedades infecciosas en muestras de sangre seca recolectadas en papel filtro S & S 903.

COMPARACIÓN ENTRE LA RECOLECCIÓN EN SUERO Y PAPEL FILTRO

CARACTERÍSTICAS	SORO	PAPEL FILTRO
Local	Estructura compleja	Sin grandes requerimientos
Extracción	Jeringuilla - aguja	Lanceta
Preparación	Centrífuga - Tubo	Secar a temperatura ambiente
Transporte	Refrigerado	Correo convencional

ELISA CONVENCIONAL



ELISA Q-PREVEN



ENFERMEDADES DIAGNOSTICADAS CON LA LINEA Q-PREVEN:

HIV
SIFILIS
TOXOPLASMOSE
RUBEOLA
CITOMEGALOVIRUS

CHAGAS
HEPATITES B
HEPATITES C
HTLV 1+2



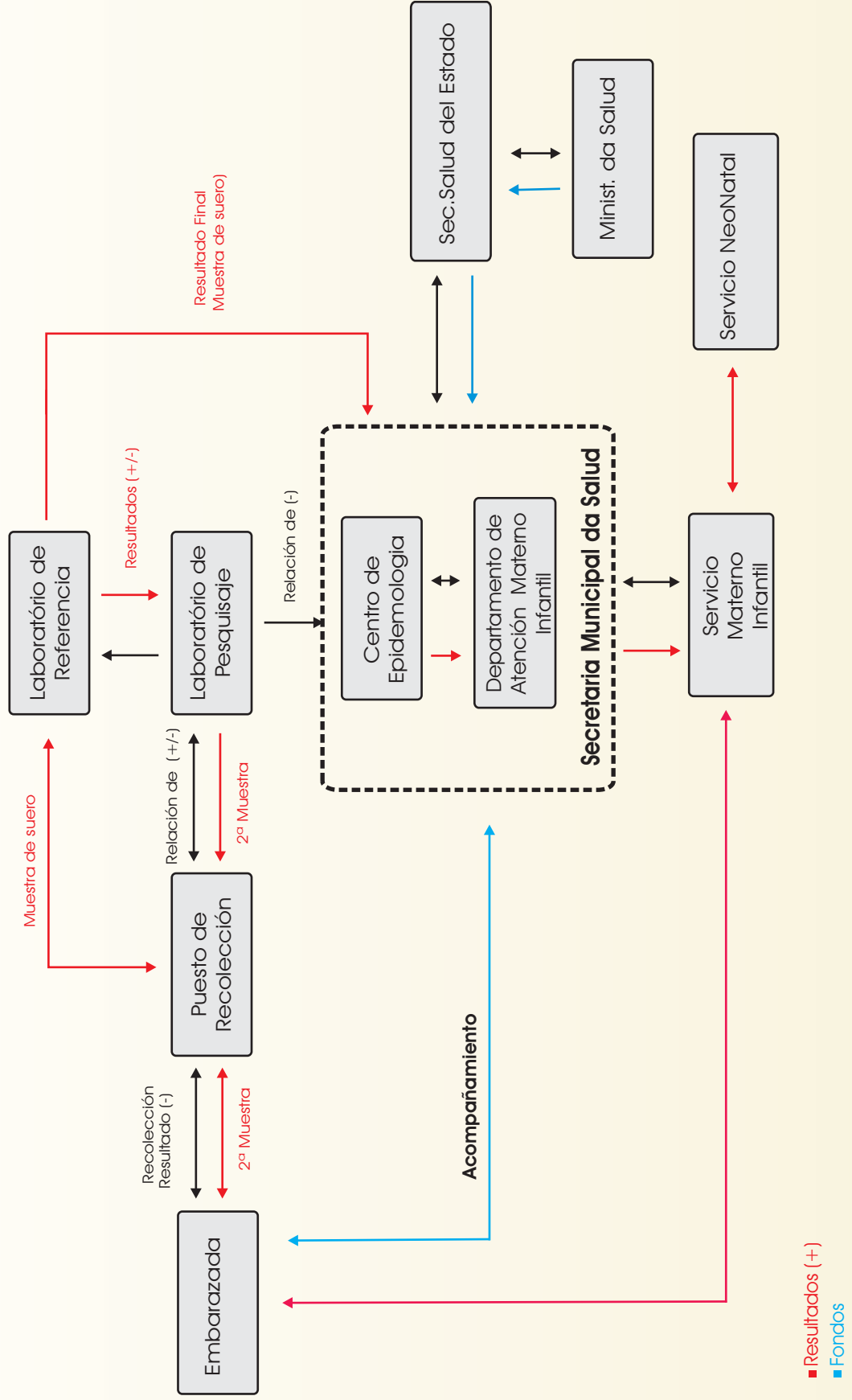
FILOSOFIA DEL PROGRAMA

- **Concepción** : Pesquisaje masivo.
- **Meta del Programa** : 100% de las embarazadas.
- **Metodologia** : sangre seca recoletada en papel de filtro.
- **Objetivo** : Reducción de la morbi-mortalidad materna- infantil.
- **Justificativa** :
 - ✓ Elevado índice de mortalidad materna:
 - ✓ Elevado índice de mal formaciones, abortos espontáneos, natimueertos y fetos muertos.
- Programa esencialmente preventivo

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Facilitar el acceso de las embarazadas a los exámenes del Prenatal;
- Mejorar el conocimiento del perfil epidemiológico de las enfermedades en este grupo, para subsidiar intervenciones;
- Mejorar la calidad de la salud de la mujer;
- Mejorar la calida de la salud del recién-nacido y disminución de la mortalidad infantil
- Aumentar la cantidad de embarazadas examinadas en el Prenatal para las patologías prioritarias;
- Proporcionar la reducción de la prevalencia y de la transmisión vertical de las patologías diagnosticadas, principalmente: HIV, Sífilis , Toxoplasmosie , Citomegalovirus, Rubéola, Hepatitis B ... etc;
- Mejorar el registro y control de las embarazadas.

PROGRAMA PESQUISAJE PRENATAL - LOGÍSTICA



ENFERMEDADES QUE PUEDEN SER INCLUIDAS EN EL PESQUISAJE PRENATAL

TOXOPLASMOSE

El *Toxoplasma gondii* es un protozooario, parásito obligatorio intracelular que es capaz de infectar todas las especies de mamíferos, incluyendo el ser humano. La detección de anticuerpos IgM contra el *Toxoplasma gondii* es un recurso en el diagnóstico de infecciones agudas en pacientes con riesgos asociados como: SIDA, transplantados de órganos y embarazo.

Como la mayoría de las infecciones por el *T. gondii* son asintomáticas o presentan solo síntomas leves en individuos aparentemente saludables, la detección de anticuerpos IgM específicos contra el *T. gondii*, en ausencia de anticuerpos IgG específicos, es de gran importancia en el control de infecciones agudas en mujeres embarazadas, ya que el parásito puede generar graves defectos en el recién nacido.

Como las infecciones por el *T. gondii* son muy severas en pacientes inmunocomprometidos y la enfermedad puede ser fatal, la infección aguda por este parásito debe ser distinguida de otras enfermedades.

Transmisión vertical congénita:

Se considera que la toxoplasmosis sólo puede ser transmitida al feto si es adquirida por la gestante durante la gestación. Por consiguiente, no habrá transmisión en gestaciones consecutivas.

La transmisión durante el primer trimestre de gestación es menos frecuente (cerca de 30%), aunque produce formas más graves de la enfermedad. En el segundo trimestre, la tasa de transmisión es de 30 a 70%, pudiendo llegar las tasas más altas en el tercer trimestre, aunque con menos probabilidades de presentarse la forma neurológica de la enfermedad.

RUBEOLA

El virus de la Rubéola es una pequeña esfera de 55-60 nm de diámetro, y es el único miembro del género *rubivirus* de la familia *Togaviridae*. La determinación de los anticuerpos IgG y IgM específicos contra la Rubéola es muy importante en el diagnóstico serológico de las infecciones por Rubéola Congénita post-natal o primaria, que generan defectos severos en el recién nacido.

Los anticuerpos IgG específicos en el suero, son característicos de enfermedad de larga duración, pero solo la presencia de anticuerpos IgM específicos, es indicativo de riesgo de defectos en recién nacidos. La rubéola es muy peligrosa por la capacidad de producir defectos en el feto en desarrollo si la madre está infectada al principio del embarazo. El síndrome de **rubéola congénita** se presenta en 25% o más de niños nacidos de madres que han sufrido rubéola durante el primer trimestre del embarazo. Aunque todavía se presentan casos su incidencia ha disminuido considerablemente en los países donde la vacunación se realiza a toda la población.

CITOMEGALOVIRUS

La infección congénita por CMV es la causa no genética más común de pérdida de la audición en la infancia. Aproximadamente 1% de todos los niños nacidos en Estados Unidos tienen infección congénita por CMV.

El Citomegalovirus (CMV) es un patógeno humano oportunista, donde la infección tiene una prevalencia mayor entre niños y adultos jóvenes. La infección por CMV es un problema de salud importante en ciertos grupos de pacientes, como recién nacidos, pacientes transplantados de órganos sólidos o médula ósea y pacientes portadores del SIDA. En este grupo de pacientes, el CMV es la mayor causa de morbilidad y mortalidad.

Transmisión Vertical:

- a) Directamente por vía transplacentaria.
- b) Al nacimiento, por ingestión de secreciones internas de lesiones infectadas.
- c) Post-natal, a través de la lactancia o del contacto con secreciones maternas.

En embarazadas la infección primaria durante la gestación es mucho más perjudicial al feto que su reactivación. Aproximadamente de 1 a 2% de las mujeres desarrollan infección primaria durante la gestación.

La tasa de transmisión del citomegalovirus es de 40 a 50% en la infección materna aguda y del 0,5 a 1% en la infección materna crónica.



SÍFILIS:

La Sífilis es una enfermedad infecciosa causada por el *Treponema Pallidum*, sistémica, de evolución crónica, sujeta a períodos de agudización y períodos de latencia y con diversas manifestaciones clínicas, dependiendo de la fase de la enfermedad y de la respuesta individual. El período de incubación varía de 10 días hasta 3 meses y los anticuerpos son generalmente detectados después de 2 a 4 semanas de la lesión primaria.

Muchas pruebas fueron desarrolladas en el pasado para la detección inmunológica del *Treponema Pallidum* (VDRL, PTHA, RPR) y son usados hasta hoy en el diagnóstico de laboratorio. Recientemente, técnicas de ELISA vienen siendo aplicadas en la determinación de anticuerpos totales (“Pesquisa”) contra Sífilis en Bancos de Sangre y en estudios epidemiológicos de enfermedades infecciosas.

La prueba ELISA es hoy en día el mejor método serológico para identificación de sangre proveniente de las personas infectadas por el *Treponema pallidum*, con amplio margen de seguridad. La transmisión puede ser predominantemente sexual o materno-fetal, pudiendo producir, respectivamente, la forma adquirida o congénita de la enfermedad.

La transmisión vertical (madre-concepto) ocurre a través de la diseminación del microorganismo a través de la placenta, de las membranas y fluidos amnióticos pudiendo ocurrir en cualquier fase de la gestación. Contrariamente a lo que se pensaba en el pasado, la infección acomete el feto antes del cuarto mes de gestación. Ocasionalmente el recién nacido puede ser infectado por el contacto con una lesión genital materna. La tasa de transmisión vertical es variable conforme el tiempo de enfermedad y tratamientos maternos: en mujeres no tratadas es de 70 a 100% en caso de enfermedad primaria o secundaria y 30% en la fase latente. La OMS estima en 85% la tasa promedio de transmisión. En madres adecuadamente tratadas, la transmisión es reducida a aproximadamente 1,5%. La muerte perinatal ocurre en 40% de los niños infectados.

SIDA

El Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) fue descrito por primera vez en 1981 y se caracteriza por presentarse una serie de infecciones oportunistas que conducen a la muerte. El agente etiológico del SIDA fue identificado en 1983 como un retrovirus anteriormente desconocido, originariamente llamado de LAV o HTLV-III, y hoy conocido como Virus de la Inmunodeficiencia Humana Tipo 1 (VIH 1). En 1986 fue aislado otro miembro del grupo de los virus de la inmunodeficiencia humana (VIH-2).

El VIH puede ser transmitido por contactos sexuales entre individuos infectados por el HIV, exposición a la sangre (incluyendo el uso compartido de agujas y jeringuillas contaminadas) o ciertos hemoderivados contaminados con HIV y por transmisión de la madre infectada a su feto o hijo durante el período neonatal.

La transmisión vertical de la madre para el recién nacido es responsable por la mayoría de los casos de SIDA en niños. El tratamiento de la embarazada VIH+ aumenta en hasta 70% las probabilidades de bebé nacer sin el virus.

HEPATITIS B

La hepatitis B es una grave infección viral del hígado producido por un virus (HBV) que se transmite a través de fluidos corporales contaminados. Estos fluidos incluyen sangre, semen, secreciones vaginales y saliva. Hay un tratamiento para la hepatitis B pero no es efectivo en todas las personas. Existe una vacuna para prevenir esta seria enfermedad pero la vacuna no protege a las personas que ya tienen la infección. La incidencia de hepatitis B aguda en la gestación es de aproximadamente 0,5%. Las mujeres embarazadas que son portadoras del virus pueden transmitirlo a los recién nacidos a la hora del parto. La hepatitis B puede causar cirrosis (cicatrices en el hígado), insuficiencia hepática, cáncer del hígado y muerte.

Por lo tanto debe ser obligatorio que:

- 1) Todas las mujeres embarazadas deben hacerse la prueba de la hepatitis B.
- 2) Todos los recién nacidos deben recibir la vacuna de la hepatitis B.

Los niños que nacen de madres infectadas con el virus de la hepatitis B deben recibir una inyección de inmunoglobulina, además de la vacuna, dentro de las primeras doce horas de haber nacido. La inmunoglobulina le da al bebé protección inmediata mientras la vacuna estimula la producción de anticuerpos para prevenir la infección.



HEPATITIS C

:
La hepatitis C es una grave infección viral del hígado producido por un virus (HCV) que se transmite a través de fluidos corporales contaminados. Estos fluidos incluyen sangre, semen, secreciones vaginales y saliva. En el 85 % de los casos esta infección se hace crónica pudiendo evolucionar hacia cirrosis o cáncer del hígado con un periodo estimado de evolución de 20 a 30 años, dependiendo de los cuidados y del modo de vida del paciente. Se estima que en Brasil se encuentra entre 2,5 y 4,3 % de la población son portadores de hepatitis C. La transmisión materna fetal es rara, a pesar de ser conocido la forma de transmisión existe un 20 a 30 % de casos que no se puede demostrar la vía de contaminación.

CHAGAS

Es una enfermedad infecciosa parasitaria producida por un protozoario el "Tripanosoma Cruzi", transmitida por la intervención de un insecto "Triatoma Infectans", conocido popularmente como "Chipoen Venezuela o Barbeiro en Brasil". Esta es una enfermedad endémica esparcida por gran parte de América central y América del Sur. Según la OMS existe cerca de 17 millones de portadores de la enfermedad y produce cerca de 50.000 muertes al año. En Brasil existe cerca de 5 % de portadores de la enfermedad.

La transmisión puede ser:

- 1) Por picada de un insecto infectado.
- 2) Por exposición a sangre contaminada (transfusión).
- 3) Transmisión vertical de la madre al recién nacido.

La mujer embarazada con infección aguda o crónica puede transmitir la infección al feto en cualquier periodo de la gestación o la transmisión puede hacerse en el canal del parto por contacto de las mucosas del feto con la sangre infectada de la madre.

La incidencia de esta infección es mayor en áreas rurales o en personas provenientes de zonas de alto riesgo.

HTLV 1+2

El HTLV es un virus de la familia de los retrovirus (similar al HIV), o HTLV 1. Este virus es causa de una variedad de Leucemia (Leucemia de células T del adulto), que es normalmente fatal produciendo una enfermedad neurológica degenerativa con mielopatía crónicas, paresias graves que afecta la deambulación. Se estima que cerca de 15 a 20 millones de personas en el mundo son portadoras de HTLV-1. En Brasil se calcula cerca de 2,5 millones de infectados. El HTLV es transmitido en forma similar al HIV-SIDA. Por medio de fluidos corporales como sangre, esperma, secreciones vaginales o al feto a través del amamantamiento.

SITUACIÓN ACTUAL DE LOS PRODUCTOS Q-PREVEN

REGISTRO EN BRASIL

KIT	ENFERMEDAD	REGISTRO EN BRASIL
Q-PREVEN TOXO IgM	Toxoplasmosis	Aprobado
Q-PREVEN RUBÉOLA IgM	Rubéola	Aprobado
Q-PREVEN CMV IgM	Citomegalovirus	Aprobado
Q-PREVEN HIV 1+2 IgM	AIDS	Aprobado
Q-PREVEN SÍFILIS TOTAL	Sífilis	Aprobado
Q-PREVEN HBsAg	Hepatitis B	En fase final de aprobación

EN FASE FINAL DE DESARROLLO

KIT	ENFERMEDAD
Q-PREVEN CHAGAS	CHAGAS
Q-PREVEN HTLV 1+2	HTLV
Q-PREVEN HCV	Hepatitis C
Q-PREVEN Ant Hbc	Hepatitis B
Q-PREVEN Sífilis IgM	Sífilis Congénita

“La primera línea de kits para pesquisaje de enfermedades infecciosas desarrollada exclusivamente para muestras recolectadas en papel de filtro S&S 903”



**PUBLICACIONES CIENTÍFICAS
Y VALIDACIONES**

Q-PREVEN HIV 1+2 DBS

“Evaluación del kit Q-PREVEN HIV 1+2 desarrollado específicamente para la detección de anticuerpos contra el VIH 1+2 en muestras de sangre seca recolectada en papel filtro”.

Laboratório de Investigações en VIH/SIDA UCS/Caxias do Sul-RS
Caxias do Sul / Febrero- 2005.

Evaluation of Q-PREVEN an HIV-1/2 Assay Developed Specifically for the Detection of Antibodies on Dried Blood Spots



UCS
UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL

De Souza R.¹, Borges L.G.A.¹, Motta L.R.¹, Cauduro de Castro A.²

¹Laboratório de Pesquisa em HIV/AIDS, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, Brazil

²Hospital Nossa Senhora da Conceição, Porto Alegre, Brazil

Introduction: Simple sampling methods that can be applied under difficult field conditions are needed to expand access to diagnosis and treatment. Q-Preven HIV 1+2 (Symbiosis Diagnóstica, Brazil), is an enzymeimmunoassay (ELISA) developed for the detection of antibodies against all strains of HIV specifically in whole blood collected and dried on filter paper (DBS). Our objective was to determine the sensitivity, specificity and predictive values of Q-Preven. We also evaluated the stability of HIV antibody detection on DBS stored at ambient temperature for a period of 35 days.

Methods: 309 sera and whole blood samples were collected in parallel from blood donors and patients attending a reference hospital in southern Brazil from December to January, 2005. Fifty microliters of whole blood-EDTA specimens were transferred to specimen collection paper (grade 903; Schleicher & Schuell) and dried at ambient laboratory temperature for 4 hours prior to storage. Each dried specimen was placed in a plastic bag with desiccant and stored at room temperature (baseline). Samples were tested at two time points from baseline according to the manufacturer's instruction. DBS was screened for the presence of antibodies to HIV by Q-Preven HIV 1 e 2, and sera by ELISA (Cobas Core and Abbott AxSYM HIV-1/2 gO) and HIV RNA reference test for HIV positive specimens (Bayer bDNA, v3.0). The performance characteristics of Q-Preven were calculated using the reference protocol as the gold standard. Samples with discordant results from the reference were retested in triplicate.

Picture 1 - Specimen Collection Kit for DBS



Table 1 - Evaluation Panel

	Anti-HIV Positive	Anti-HIV Negative	Total
Samples	108	201	309
Relative (%)	35%	65%	100%

Results: Two hundred and one samples were HIV negative (65%), and 108 were HIV positive (35%) resulting in the following performance data (Table 2)

Table 2 -Performance

	Positive	Negative	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
Sera	108	201	100%	100%	100%	100%
DBS	109	200	100%	99,5% (97,9%-100%)	99,1% (97%-99%)	100% (98,9-100%)

It is noteworthy that the initial discordant sample (false-positive) was retested resulting in triplicate concordant results. Analyses of stability with high titer positive samples demonstrated no decrease over time in the mean OD ratios after 35 days of room temperature storage.

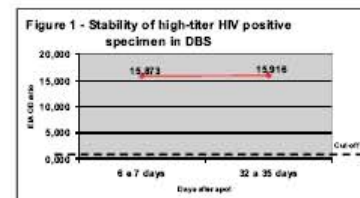


Figure 2 - Optical density resulting from consecutive dilutions of high-titer HIV positive specimen

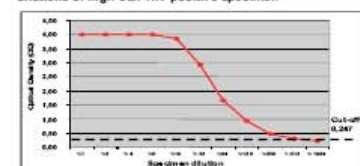
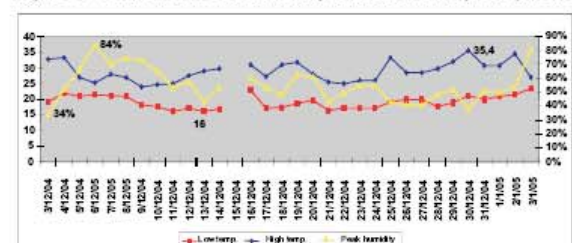


Figure 3 - Temperature and humidity variation during study period



Conclusions: Q-Preven HIV 1 e 2 demonstrated high performance characteristics. The requirement of less blood volume, easy storage and transportation make the assay ideal for use in areas where specimens have to be sent to a centralized testing facility, especially in resource limited settings. Field evaluation of DBS from different settings is underway in our laboratory.

**“Evaluación del Screening Prenatal de VIH
utilizando sangre seca en papel de filtro”**

Asociación de Padres y Amigos de los Excepcionales de Salvador (APAE - SA)
Salvador - Bahia - Brasil



APAE APRESENTA NOVO EXAME PARA DETECTAR AIDS EM GESTANTES

04/11/2005 - 09h50

O único serviço credenciado pelo Ministério da Saúde para realizar o teste do pezinho agora pode se tornar uma referência também na detecção do vírus HIV em gestantes. A Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais - Apae, apresentou ontem, em Salvador, a validação de uma nova técnica de coleta e análise de exame, que utiliza o mesmo material do teste do pezinho: papel de filtro. Além da redução do prazo para o resultado - de 60 para oito dias - e do custo menor em 30%, a adoção do procedimento pela saúde pública pode aumentar o acesso de mulheres grávidas ao exame e favorecer o rastreamento de outras doenças maternas passíveis de transmissão vertical.

Os pesquisadores do Serviço de Referência em Triagem Neonatal da Apae trabalharam durante seis meses na validação da técnica, descoberta no ano passado. Em parceria com a Secretaria de Saúde do Estado da Bahia (Sesab), submeteram ao exame 1.483 pacientes que procuraram atendimento Pré-Natal em três maternidades públicas (Albert Sabin, Tsylla Balbino e Iperba), e especializado no Centro de Referência em DST/Aids de Salvador e na Apae. Os resultados, que incluíram também testes com 25 amostras de sangue de pacientes soropositivos (encaminhadas pelo Hospital Edgard Santos), apontaram concordância de 99,86% entre o método tradicional (Western Blot) e a técnica com papel filtro.

Preconizada pelo Ministério da Saúde, a triagem sorológica para o HIV em gestantes só tem a ganhar com a nova técnica. Qualquer posto de saúde que faz o teste do pezinho estará apto a realizar a coleta do material para o exame do HIV com amostras de sangue seco, e enviá-lo até mesmo por envelope ao laboratório para análise. "A coleta poderá ser feita em qualquer lugar do estado, na mesma rotina de triagem do acompanhamento Pré-Natal. A facilidade e a simplicidade do procedimento favorecem aquilo que recomenda o Ministério da Saúde: o acesso universal ao exame", explica a diretora médica da Apae, Cleusa Zanetti.

Fonte: Correio da Bahia

**PARTICIPACIÓN EN EL CONTROL DE CALIDAD DEL
CENTRO DE CONTROL DE ENFERMEDADES (CDC) - USA**

CERTIFICATE OF PARTICIPATION

Presented to

*Bio-Oxford Importagao, Ltd.
Sao Paulo, Brazil*

For participating in the Quality Assurance Program for Anti-HIV-1 in Dried Blood Spots
that is sponsored by the Newborn Screening Quality Assurance Program,
Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia.

W. Harry Hannon, Ph.D
Chief, Newborn Screening Branch



Diagnóstico de HIV

15/01/2005 - 09:45

Pesquisa brasileira aponta vantagens do uso do papel filtro no diagnóstico do HIV

BRASÍLIA - Pesquisadores da Universidade de Caxias do Sul (UCS) desenvolveram estudo para validar e avaliar as vantagens da "testagem por amostra seca em papel filtro", uma técnica que permite atestar se o paciente tem o vírus HIV e outras doenças, analisando uma pequena amostra de sangue aplicada a um papel, coletada a partir de uma picada no dedo do paciente. A pesquisa, financiada pelo Programa Nacional de DST/Aids e pela Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura (Unesco), avalia o papel filtro em diferentes condições de temperatura e umidade, comparáveis a cidades de outras regiões do país, e servirá para que o governo analise sua utilização em regiões de difícil acesso ou de pouca estrutura laboratorial.

De acordo com o chefe do Laboratório de Pesquisa em HIV e Aids da UCS, Ricardo da Silva de Souza, os resultados da primeira fase da pesquisa foram bastante positivos. A validação confirmou que o papel filtro tem a mesma eficácia da coleta via punção venosa e apontou outros fatores de segurança. A avaliação de sensibilidade no papel filtro para teste anti-HIV (capacidade de dar resultados positivos) apresentou 100% de aproveitamento e a de especificidade (capacidade do teste de identificar as pessoas que não tem o vírus) teve 99,5% de resultados favoráveis.

Ao todo, explica o médico que coordenou a pesquisa, foram analisadas 309 amostras entre 3 de dezembro de 2004 e 3 de janeiro de 2005. "Conseguimos nos certificar que é possível fazer o diagnóstico do HIV com o papel filtro e mostrar que ele funciona, tem estabilidade de até 35 dias sem condições especiais de armazenagem, ou seja, se adapta bem à temperatura ambiente", assegura. Hoje, só uma empresa tem registro na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) para utilizar o papel filtro como método de coleta de sangue e a mesma não é obrigada a apresentar estudo de estabilidade à agência reguladora.

Vantagens - Além de validar o método, a pesquisa mostrou outros pontos positivos dessa forma de amostragem, como a coleta e o armazenamento fáceis, necessidade de pouca estrutura e recursos humanos, capacidade de gerar respostas rápidas (via internet e correio) e baixo custo. "O transporte das amostras convencionais de sangue (via tubos de ensaio) pode alterar as características do sangue se não houver refrigeração adequada e ainda há chances de ocorrer acidentes com o material. Com o papel filtro, o transporte pode ser feito até pelo correio, sem alteração dos resultados", explica. No método tradicional, se o sangue não é refrigerado logo após a coleta, conta Ricardo, é inutilizado. "Reproduzimos as condições da coleta e do transporte e confirmamos que os exames podem ser testados com qualidade, mesmo depois de longo tempo até a análise e diante de variações de temperatura e umidade".

A variação da umidade é um ponto importante porque a amostra é seca e, se o tempo for muito úmido, pode gerar fungos e outros problemas que interferem no resultado. Foram comparadas as variações de temperatura e umidade de Porto Alegre e outras sete capitais (Curitiba, João Pessoa, Manaus, Natal, Rio Branco, Salvador e Teresina), em que foi percebida semelhança entre elas e que não haveria diferença nos resultados e na qualidade das amostras em função dos fatores temperatura e umidade. Com isso, as amostras poderiam vir de qualquer local do país, sem alterar os resultados dos exames.

Embora não fosse um dos objetivos da pesquisa, os pesquisadores fizeram análises preliminares de confirmação dos resultados comparando os dados iniciais, feitos pelo método Elisa, com o Western Blot, um dos exames confirmatórios para HIV. "Não era o nosso objetivo principal, mas confirmamos que os resultados do Elisa são os mesmos do Western Blot. No entanto, vimos nesses resultados preliminares que é importante ter uma quantidade de sangue seco maior que a utilizada no Elisa, deixando o teste mais sensível devido ao tamanho da amostra, ou seja, o ideal é usarmos duas amostras de sangue seco para cada paciente no confirmatório", conta o coordenador da pesquisa.

Piloto - Os pesquisadores finalizaram a primeira fase do projeto, que começou em abril de 2004, e tem como expectativa iniciar a fase seguinte ainda no primeiro semestre desse ano. Nessa etapa, será realizado estudo-piloto em clínicas de **Pré-Natal** em diferentes regiões do país para verificar se os dados apresentados na fase 1 se confirmam na fase 2. "Queremos desenvolver um algoritmo específico para papel filtro na testagem do HIV, ou seja, ter uma seqüência de testes que daria 100% de chances de obter resultado correto com esse método", defende Ricardo.

O outro objetivo da fase 2 é implantar o sistema de devolução dos resultados pela internet e correio, além de oferecer treinamento por meio de cursos presenciais e a distância para orientar os profissionais de saúde a apresentarem os resultados aos pacientes. Segundo o pesquisador, a idéia é associar o diagnóstico via papel filtro a outros programas, como o Saúde da Família, e servir como instrumento de diagnóstico de outras infecções que acometem as gestantes. "Por isso, passamos a validar e testar o papel filtro para toxoplasmose, citomegalovirose, sífilis, herpes, rubéola e HTLV". A intenção do estudo é contribuir para a redução da transmissão vertical (quando o vírus é passado da mãe para o bebê) e outras infecções perinatais por meio do diagnóstico precoce oferecido pelo teste.

“Desempeño de los kits disponibles en Brasil para la detección de anticuerpos Anti VIH 1+2 en muestras en papel de filtro”

Laboratório de Investigações de VIH/SIDA UCS/Caxias do Sul-RS
Caxias do Sul / Fevereiro 2005.

Performance dos testes disponíveis no Brasil para detecção de anticorpos anti-HIV em papel-filtro

Borges¹, L.G.A., Castro², A. C.; De Souza¹, R. S.

¹Laboratório de Pesquisa em HIV/AIDS, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, Brasil.

²Programa de Pós-graduação de Patologia Clínica da FFFCMPA, Porto Alegre, Brasil.



Introdução: As vantagens demonstradas, principalmente nos programas de triagem neonatal, do uso da técnica de coleta de amostras de sangue em suporte de papel-filtro, têm direcionado as atenções para o emprego desta técnica em testes diagnósticos. Dentre todas as vantagens já comprovadas, sabe-se que amostras em DBS (*dried blood spot*) apresentam estabilidade diagnóstica de pelo menos 6 semanas em temperatura ambiente para a detecção de anticorpos. No entanto, há poucos testes disponíveis no mercado para o aproveitamento desta metodologia de coleta em rotina laboratorial.

Objetivo: Este estudo teve por objetivo avaliar a performance dos testes comercializados no Brasil para a detecção de anticorpos anti-HIV 1 e 2 em amostras secas de sangue coletadas em papel-filtro e armazenadas por um período de 6 semanas e superior a 6 semanas.

Materiais e Métodos: Foram avaliados o desempenho dos testes Q-Preven HIV 1 + 2-DBS (Q-Preven Diagnóstico) e Umelisa HIV 1 e 2 Recombinant® (Tecnosuma). Para a avaliação dos testes foi utilizado um painel de amostras em DBS. Este painel foi obtido da transferência de 50 µL de sangue total coletado em tubo de coleta com EDTA para cartão de coleta S&S 903 contendo cinco círculos de aproximadamente 13 mm de diâmetro. Todas as amostras apresentavam um status sorológico conhecido para presença de anti-HIV no soro (Tab.1). Os momentos de testagem das amostras foram diferenciados em amostras armazenadas por períodos de até 6 semanas (n=339 Q-Preven e n=61 Umelisa) ou por mais de 6 semanas (n=76 Q-Preven e n=309 Umelisa). Durante este período as amostras foram conservadas a temperatura ambiente, dentro de saco plástico *ziplock* com dessecante. Todos os resultados obtidos para DBS foram confrontados com o status sorológico das amostras do painel. Foi observada a média mensal da umidade local no período de armazenamento das amostras (Fig.1).

Tabela 1 - Painel HIV 1 e 2 de amostras de sangue coletadas em papel-filtro.

Amostras	Q-Preven	Umelisa
Positivas	168	140
Negativas	247	230
Total	415	370

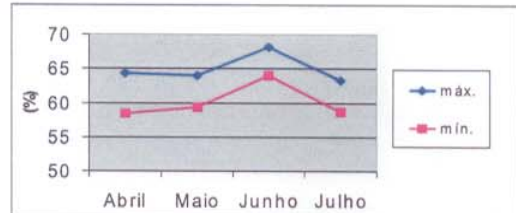


Figura 1 - Média mensal da umidade relativa do ar máxima e mínima registrada no local de armazenamento do painel de amostras.

Resultados e Discussão: Foram obtidos resultados favoráveis a aplicação do método diagnóstico envolvendo sangue seco coletado em papel-filtro. Nenhuma das amostras apresentou resultado indeterminado nos testes Umelisa (Tab.2) e Q-Preven (Tab. 3). Os dois resultados falso positivos (amostras 26N e 204N) apresentados pelo teste Q-Preven (Tab.4) quando submetidos a uma repetição em triplicata apresentaram resultados concordantes, demonstrando uma especificidade de 100%, em um teste repetido. O teste Umelisa HIV 1 e 2 (Tab. 4) apresentou um resultado falso positivo (amostra 122N) e um falso negativo (amostra 47P). Ambos resultados mantiveram-se discordantes quando repetidos em triplicata. Sensibilidade superior foi apresentada pelos testes Q-Preven em relação ao Umelisa quando observado o resultado do teste de ponto final de detecção para diluições seriadas em uma mesma amostra, para os dois testes.

Tabela 2 - Resultado obtido com painel de amostras testadas para Kit Umelisa HIV 1 e 2 Recombinant

Armazenamento	Negativo	Positivo	Total
< 6 semanas	30	31	61
> 6 semanas	200	109	309
Total	230	140	370

Tabela 3 - Resultado obtido com painel de amostras testadas para Kit Q-Preven HIV 1 e 2 - DBS

Armazenamento	Negativo	Positivo	Total
< 6 semanas	204	135	339
> 6 semanas	41	35	76
Total	245	170	415

Tabela 4 - Performance dos testes anti-HIV perante o painel de amostras.

Testes	Q-Preven		Umelisa	
	< 6 semanas	> 6 semanas	< 6 semanas	> 6 semanas
Falso Positivo	2	0	0	1
Falso Negativo	0	0	0	1
Sensibilidade	100%	100%	100%	99,5
Especificidade	99%	100%	100%	99,1
VFP	1	1	1	0,99
VPN	0,98	1	1	0,99

Conclusões: Os dois testes de detecção de anticorpos avaliados apresentaram resultados satisfatórios. Ambos os testes demonstraram qualificação para aplicação diagnóstica em amostras de sangue total seco, quando empregados em um algoritmo de testes que segue o modelo estabelecido pelo Ministério da Saúde.

Referências:

- Frieda Behets et al. Stability of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Antibodies in Whole Blood Dried on Filter Paper and Stored under Various Tropical Conditions in Kinshasa, Zaire. J. Clin. Microbiol. 1992.
NCCLS. Blood Collection on Filter Paper for Screening Programs - Approved Standard Fourth Edition. NCCLS document LA4-A4. vol. 23, n. 21; 2003.



**TESTE DO PEZINHO PARA GRAVIDAS
(PRUEBA DEL PIECITO PARA EMBARAZADAS)**

Revista Crescer Edição 166 setembro 2007

Pergunte ao Dr. Taborda
Edição 166 - Set/07



Teste do pezinho para grávidas

Cresce a utilização de um método alternativo para obter amostras de sangue da grávida e rastrear doenças infecciosas no pré-natal, reduzindo a transmissão de HIV, sífilis, citomegalovírus, toxoplasmose e hepatite B. A amostra é colhida com apenas uma picada no dedo - semelhante ao processo conhecido como "teste do pezinho", feito em recém-nascidos - e armazenada em papel-filtro.

O método é barato e dispensa pessoal qualificado para coleta, armazenamento e transporte. A dificuldade em conseguir amostras de sangue é justamente um dos fatores que colaboram para o Brasil ter altas taxas de transmissão de doenças da mãe para o bebê. Exames pré-natais para identificar doenças transmissíveis é estratégia consagrada mundialmente, mas que não atinge boa parte de nossas gestantes. Hoje, cerca de 80% dos menores de 13 anos com HIV foram contaminados na gestação, no parto ou na amamentação. Um panorama vexatório. Diferentes pesquisas confirmam a boa aplicação do papel-filtro. A técnica foi usada na APAE da Bahia para rastrear o HIV em cerca de 1.500 gestantes e teve resultados iguais aos do teste tradicional em 99,86% dos casos.

Edição 166 09-2007