J Bras Patol Med Lab. 2020; 56: 1-5.

10.5935/1676-2444.20200055

Influência do prazo de validade no desempenho analítico de teste rápido para o diagnóstico do HIV

Influence of expiration date on analytical performance of rapid tests for HIV diagnosis

Feliciana L. O. Marinho[1-3]; Nelson Luiz L. Santos[2]; Suzane P. F. Neves[1]; Leonardo S. Vasconcellos[1, 3]

1. Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. 2. Instituto Hermes Pardini, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.
3. Grupo de Pesquisa em Patologia Clínica/Medicina Laboratorial da Faculdade de Medicina da UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

RESUMO

Introdução: Os testes rápidos (TR) são ideais para fornecer resultados laboratoriais em até 30 minutos, em diversas situações e locais, mesmo em comunidades mais carentes. Como qualquer outro insumo laboratorial, eles só podem ser utilizados dentro do prazo de validade. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi comparar o desempenho analítico do TR Interkit HIV 1 e 2® (Interteck Katal, Belo Horizonte, Brasil) em dois momentos: dois anos antes e uma semana antes do vencimento. **Material e métodos:** Duzentas amostras de soro de indivíduos com mais de 18 meses de idade, de ambos os sexos, foram utilizadas. Elas foram previamente testadas por eletroquimioluminescência e Western Blot para a infecção por HIV e distribuídas em dois grupos: reagentes (n = 100) e não reagentes (n = 100). **Resultados:** O TR apresentou acurácia diagnóstica satisfatória e semelhante nos dois momentos analisados, sem diferença estatística. **Conclusão:** O TR Interkit HIV 1 e 2® apresentou desempenho analítico estável, tanto no início quanto no final do prazo de validade.

Unitermos: HIV; diagnóstico; prazo de validade de produtos; sensibilidade; especificidade.

ABSTRACT

Introduction: *Rapid tests (RTs) are ideal to provide laboratorial results within 30 minutes in a variety of situations and locations, even in underserved communities. Like any other laboratory input, they can only be used within the expiration date.* ***Objective:*** *The aim of this study was to compare the analytical performance of the RT Interkit HIV 1 and 2® (Interteck Katal - Belo Horizonte, Brazil) at two different times, two years before and one week before the expiration date.* ***Material and methods:*** *Two hundred serum samples were used, from individuals over 18 months of age, of both sexes, previously tested by electrochemiluminescence and Western Blot for HIV infection, distributed in two groups: reactive (n = 100) and non-reactive (n = 100).* ***Results:*** *The RT showed similar and satisfactory diagnostic accuracy in the two analyzed moments, with no statistical difference.* ***Conclusion:*** *The RT Interkit HIV 1 and 2® showed stable analytical performance both at the beginning and the end of its validity term.*

Key words: *HIV; diagnosis; date of validity of products; sensitivity; specificity.*

Primeira submissão em 30/03/20; última submissão em 30/03/20; aceito para publicação em 24/04/20; publicado em 07/10/20

RESUMEN

Introducción: *Las pruebas rápidas son ideales pues dan resultados en hasta 30 minutos, en diversas situaciones y locales, incluso en localidades carentes. Como cualquier otro insumo de laboratorio, solo pueden ser utilizados dentro de la fecha de caducidad.* ***Objetivo:*** *Comparar el desempeño analítico de la PR Interkit HIV 1 y 2® (Interteck Katal, Belo Horizonte, Brasil) en dos momentos: dos años antes y una semana antes del vencimiento de la fecha de caducidad.* ***Material y método:*** *Se utilizaron doscientas muestras de sueros de individuos mayores de 18 meses de edad, de ambos sexos. Las muestras fueron previamente probadas por electroquimioluminiscencia y Western Blot para infección por VIH y distribuidas en dos grupos: reactivas (*n *= 100) y no-reactivas (*n *= 100).* ***Resultados:*** *La PR presentó precisión diagnóstica satisfactoria y semejante en ambos momentos analizados, sin diferencia estadística.* ***Conclusión:*** *La PR Interkit HIV 1 y 2® presentó desempeño analítico estable, tanto al principio cuanto al final de su fecha de caducidad.*

Palabras clave: *VIH; diagnóstico; fecha de caducidad de productos; sensibilidad; especificidad.*

INTRODUÇÃO

Os testes rápidos (TRs)[1], também chamados de testes laboratoriais remotos (TLR), são excelentes porque fornecem resultados em até 30 minutos, em diversas situações e locais (podem ser utilizados em ambientes não laboratoriais por pessoal capacitado[2]) e porque permitem ampliar o acesso ao diagnóstico em comunidades carentes[3, 4]. No Brasil, os TRs fazem parte da triagem do vírus da imunodeficiência humana (HIV) desde 2001[5].

De acordo com a legislação no. 8.137 de 1990, é expressamente proibido comercializar e utilizar produtos fora do prazo de validade[6]. Conforme informa a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), a utilização de insumos para fins diagnósticos no Brasil é regulamentada pela Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) 302[7], pela RDC 11[8] e RDC 36[9], que dispõem de várias normas para o funcionamento de laboratórios clínicos, entre elas, o uso adequado de reagentes e insumos, que deve respeitar as recomendações de uso do fabricante, as condições de preservação, o armazenamento e o prazo de validade; não é permitido utilizar reagentes e insumos e revalidá-los após o prazo de validade para fins diagnósticos[7]. As boas práticas laboratoriais também são alvo de programas de acreditação de qualidade laboratorial, como o Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML)[10].

Parte dos TRs produzidos para diagnosticar a infecção pelo HIV, por exemplo, apresentam prazos de validade que podem variar de um a dois anos, conforme determinação dos fabricantes. A estabilidade desses *kits* próxima ao vencimento da validade é uma preocupação comum, pois os riscos decorrentes da utilização de insumos laboratoriais vencidos são diversos, principalmente o funcionamento inadequado do reagente, o que pode gerar resultados falso positivos ou falso negativos, além de reações cruzadas ou inespecíficas[8]. Facente *et al*., em 2009, já haviam observado elevação significativa de resultados falso positivos em TR oral para HIV utilizado no último mês antes da expiração[11].

Lamentavelmente, a literatura carece de trabalhos que avaliem o desempenho analítico dos testes laboratoriais quanto ao prazo de validade no dia a dia da prática clínica laboratorial; essa responsabilidade é atribuída aos fabricantes.

O objetivo deste trabalho foi comparar o desempenho analítico de um TR para diagnóstico de infecção pelo HIV, em dois momentos distintos: no início e uma semana antes do vencimento, em amostras de sangue com padrão sorológico previamente definido.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudo observacional, analítico e de concordância, no qual o desempenho analítico do *kit* Interkit HIV 1 e 2® (Interteck Katal, Belo Horizonte, Brasil)[12] foi analisado em dois momentos: A) dois anos antes do vencimento; e B) uma semana antes da data de validade. Número do lote: 3006/16000001; data de validade: 23 de maio de 2018.

Duzentas amostras de soro de indivíduos com mais de 18 meses de idade, de ambos os sexos – distribuídas em dois grupos: reagentes (n = 100) e não reagentes (n = 100) – foram previamente testadas por eletroquimioluminescência [(ECLIA) – triagem] e Western Blot [(WB) – confirmatório] para infecção por HIV.

Amostras com resultados acima do valor de corte da metodologia ECLIA (HIV Combi – antígeno do HIV-1 e anticorpos totais anti-HIV-1 e anti-HIV-2, Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)[13] foram consideradas reagentes (índice = 1); no WB (New Lav Blot I, BioRad, Marnes la Coquette, França)[14], foi necessária a presença de pelo menos uma das combinações das bandas: p24; gp41; gp120/gp160, conforme o fluxograma número 6 da Portaria 29, de 17 de dezembro de 2013[15]. Amostras com resultados abaixo do valor de corte na ECLIA e ausência de bandas no WB foram consideradas não reagentes.

Foram consideradas:

• verdadeiro positivas (VP) – amostras reagentes nos testes ECLIA, WB e TR;

• verdadeiro negativas (VN) – amostras não reagentes nos testes ECLIA, WB e TR;

• falso positivas (FP) – amostras não reagentes nos testes ECLIA e WB, mas reagentes nos TRs;

• falso negativas (FN) – amostras reagentes nos testes ECLIA e WB e não reagentes nos TRs.

Para cada momento de teste, as seguintes medidas de acurácia diagnóstica foram calculadas: sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN), razão de verossimilhança positiva (RV+), razão de verossimilhança negativa (RV-) e acurácia.

Os testes foram realizados no laboratório da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), conforme orientações do fabricante.

A análise estatística foi realizada no programa IBM SPSS Statistics for Windows, versão 19.0. O desempenho analítico e a concordância de resultados foram calculados por meio do teste *t* pareado, com intervalo de confiança (IC) de 95% e nível de significância de $p < 0,05$.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (parecer CAAE 47246115.6.0000.5149) e dispensou o termo de consentimento livre e esclarecido.

RESULTADOS

O desempenho analítico do *kit* Interkit HIV 1 e 2® em ambos os momentos de teste (A e B) é apresentado na **Tabela**.

O TR apresentou acurácia diagnóstica satisfatória e semelhante nos dois momentos analisados, sem diferença estatística. Ou seja, os testes realizados próximo ao prazo de validade apresentaram desempenho analítico estável quando comparados com os resultados daqueles realizados logo após a data de fabricação.

TABELA – Comparação de desempenho analítico do *kit* Interkit HIV 1 e 2 nos momentos A e B

Desempenho analítico	Momento A (IC 95%)	Momento B (IC 95%)	$p < 0,05^*$
Sensibilidade (%)	100 (-)	100 (-)	1
Especificidade (%)	98 (93-99,8)	98 (93-99,8)	1
VPP (%)	96,7 (94,7-98,7)	98 (93-99,8)	0,757
VPN (%)	100 (-)	100 (-)	1
Razão de verossimilhança positiva (%)	0,5 (0,43-0,57)	1 (-)	0,5
Razão de verossimilhança negativa (%)	0 (-)	0 (-)	1
Acurácia (%)	99 (97,6-100)	100 (-)	0,887

*IC: intervalo de confiança; VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo; *teste* t *pareado.*

DISCUSSÃO

Como o TR pode ser usado fora do ambiente do laboratório, mas por pessoal devidamente treinado, as informações presentes nas instruções de uso devem ser claras e objetivas, principalmente o prazo de validade do produto. O prazo de validade de um produto é o período de tempo após a data da fabricação em que o produto mantém a qualidade e a estabilidade de suas características, podendo ser utilizado para determinada função, dentro de padrões estabelecidos pela legislação e/ou aceitáveis pelo consumidor[16-18]; corresponde ao tempo necessário para atingir os níveis limítrofes de produtos degradantes ou perder o teor ativo inicial de um produto[16-18].

Para avaliar a estabilidade de um produto, diversos testes são realizados utilizando métodos analíticos quantitativos validados que podem detectar mudanças com o tempo nas propriedades químicas, físicas ou microbiológicas do produto, as quais são específicas para que o conteúdo do ingrediente ativo, os produtos de degradação e outros componentes de interesse possam ser medidos com precisão, sem interferência[19].

A estabilidade de um produto pode ser influenciada por diferentes fatores, como sua natureza (constituintes físico-químico-biológicos), o ambiente (temperatura, pressão, umidade e luz), armazenamento (seja dentro ou fora da embalagem original, seja refrigerado, congelado ou em temperatura ambiente), o transporte (danos físicos), o manuseio (se adequado ou não, conforme as recomendações do fabricante), entre outros. Portanto, a perda da estabilidade do produto é, de modo geral, um

processo dinâmico, cujos riscos não aparecem imediatamente ou logo após o prazo de validade informado pelo fabricante[18, 20, 21].

De acordo com Klarkowski *et al*. (2013)[22], a especificidade do teste pode variar conforme a localização (dentro e entre os países) e ao longo do tempo; essas variações não são características de um único teste. As possíveis explicações para tal variabilidade são, principalmente, mudanças no desempenho (sensibilidade ou especificidade) ou na qualidade de um determinado teste. Alterações na sensibilidade, devido a variações na capacidade do teste para detectar soroconversão precoce ou à diversidade genética viral do HIV, são outras causas potenciais para discordância.

Ainda existem estudos que demonstram que, à medida que os *kits* de TRs envelhecem, a especificidade geral do teste diminui[11]. Esse fato não foi observado neste estudo, pois o TR avaliado apresentou desempenho analítico estável quando testado no início e no final de sua validade. Uma possível explicação para essa discordância poderia estar relacionada com outros fatores que também influenciaram a estabilidade dos *kits*, além do próprio prazo de validade, como condições de armazenamento, transporte, temperatura, umidade, iluminação, treinamento e até mesmo a qualidade da equipe que manuseia os *kits*[18]. A estabilidade do desempenho dos TRs também varia de acordo com a qualidade dos insumos utilizados em sua produção e a qualidade e a representatividade das amostras biológicas testadas[19]. Portanto, é responsabilidade dos profissionais de saúde gerenciar seus insumos de diagnóstico e controlar os fatores interferentes para garantir boas práticas na rotina laboratorial[7-10].

CONCLUSÃO

O TR Interkit HIV 1 e 2® apresentou desempenho analítico estável e satisfatório nos dois momentos distintos de teste: no início e no final do prazo de validade.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à empresa Interteck Katal, pela doação dos *kits*; ao Instituto Hermes Pardini, pelo fornecimento das amostras biológicas; ao Departamento de Propedêutica Complementar da Faculdade de Medicina da UFMG, pela utilização do laboratório e dos materiais necessários para a realização do trabalho. Agradecemos também à Pró-reitoria de Pesquisa (PRPq) da UFMG, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro ao nosso grupo de pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Sumita NM, Vieira LMF, Andriolo A, et al. Diretriz para a gestão e garantia da qualidade de testes laboratoriais remotos (TLR) da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). 2 ed. Barueri: Editora M; 2016. 25-32, 329-332, 343-350, 517-530 p.

2. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Imunologia celular e molecular. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008. 476-87 p.

3. Posthuma-trumpie GAPT, Van Amerongen A. Lateral flow assays. Antibodies Appl New Dev. 2012 June; 175-83.

4. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CAF, Brigido LFM, Generoso IP, Kerr LRFS. Performance of rapid tests compared to conventional tests used for HIV diagnosis. J Bras Patol Med Lab. 2018; 54(6): 364-71.

5. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação Nacional de DST e Aids. Recomendações para a profilaxia da transmissão materno-infantil do HIV e terapia anti-retroviral. 2001. p. 29.

6. Brasil. Presidência da República. Casa Civil. Subchefia para assuntos jurídicos. Lei no. 8.137, de 27 de Dezembro de 1990. Brasil; 1990.

7. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Resolução RDC/Anvisa no. 302. Brasília (DF); Diário Oficial da União, 13 maio de 2005.

8. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Resolução RDC/Anvisa no. 11. Brasília: Diário Oficial da União, 16 de fevereiro de 2012.

9. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Diretoria Colegiada. Resolução RDC/Anvisa no 36. Brasília: Diário Oficial da União, 26 de agosto de 2015; p. 43.

10. Sociedade Brasileira de Patologia Clínica. Programa de Acreditação Laboratorial. Norma PALC. Sociedade Brasileira de Patologia Clínica; 2016.

11. Facente SN, Dowling T, Vittinghoff E, Sykes DL, Colfax GN. False positive rate of rapid oral fluid HIV tests increases as kits near expiration date. PLoS One. 2009; 4(12): 2-6.

12. Ltda IKIC. Interkit HIV 1 e 2 [Instruções de uso]. Belo Horizonte, Brasil; 2016.

13. GmbH RD. HIV combi antigênio do HIV-1 e anticorpos totais anti-HIV-1 e anti-HIV-2. [Instruções de uso]. Sandhofer, Alemanha; 2010.

14. Bio-Rad. New Lav Blot I. [Instruções de uso]. Marnes-la-Coquette, França; 2009.

15. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. HIV/Aids, hepatites e outras DST. Manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo HIV. 2013.

16. ICH Expert Working Group. ICH guideline Q1A(R2) stability testing of new drug substances and products. In: International Conference on Harmonization; 2003. p. 24.

17. Ramos CAF, Santos IPB, Ramos ACPP. Patologia brasileira: ética, normas, direitos, deveres dos médicos patologistas. São Paulo: Sociedade Brasileira de Patologia; 2010. p. 1-148.

18. Oriqui LR, Mori M, Wongtschowski P. Guia para a determinação da estabilidade de produtos químicos. Quim Nova. 2013; 36(2): 340-7.

19. Bakshi M, Singh S. Development of validated stability-indicating assay methods — critical review. J Pharm Biomed Anal. 2002; 28: 1011-40.

20. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Resolução RE no 1. Brasília: Diário Oficial da União, 29 de julho de 2005; 2005. p. 1-2.

21. Huynh-Ba K. Handbook of stability testing in pharmaceutical development. New York: Springer-Verlag; 2008. 389 p.

22. Klarkowski D, Glass K, Brien DO, Lokuge K, Piriou E. Variation in specificity of HIV rapid diagnostic tests over place and time: an analysis of discordancy data using a bayesian approach. PLoS One. 2013; 8(11): 1-9.

AUTOR CORRESPONDENTE

Leonardo de Souza Vasconcellos ID 0000-0002-9456-8726
e-mail: leonardos_vasconcellos@yahoo.com.br

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.