

KIT DE FERRAMENTAS

KIT DE FERRAMENTAS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR DO VIH PARA MELHORAR O ACESSO AOS TESTES DE CARGA VIRAL E DIAGNÓSTICO PRECOCE PEDIÁTRICO

JULHO DE 2019

TRATAMENTO DO VIH E CUIDADOS



World Health
Organization

Kit de ferramentas de diagnóstico molecular do VIH para melhorar o acesso aos testes de carga viral e diagnóstico precoce pediátrico [HIV molecular diagnostics toolkit to improve access to viral load testing and infant diagnosis]

ISBN 978-92-4-000417-7 (versão electrónica)

ISBN 978-92-4-000418-4 (versão impressa)

© Organização Mundial da Saúde 2020

Alguns direitos reservados. Este trabalho poderá ser disponibilizado através da licença da Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 IGO (CC BY-NC-SA 3.0 IGO; <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/igo>)

Nos termos desta licença, é possível copiar, redistribuir e adaptar o trabalho para fins não comerciais, desde que dele se faça a devida menção, como abaixo se indica. Em nenhuma circunstância, deve este trabalho sugerir que a OMS aprova uma determinada organização, produtos ou serviços. O uso do logótipo da OMS não é autorizado. Para adaptação do trabalho, é preciso obter a mesma licença de Creative Commons ou equivalente. Numa tradução deste trabalho, é necessário acrescentar a seguinte isenção de responsabilidade, juntamente com a citação sugerida: "Esta tradução não foi criada pela Organização Mundial da Saúde (OMS). A OMS não é responsável, nem pelo conteúdo, nem pelo rigor desta tradução. A edição original em inglês será a única autêntica e vinculativa".

Qualquer mediação relacionada com litígios resultantes da licença deverá ser conduzida em conformidade com o Regulamento de Mediação da Organização Mundial da Propriedade Intelectual.

Citação sugerida. Kit de ferramentas de diagnóstico molecular do VIH para melhorar o acesso aos testes de carga viral e diagnóstico precoce pediátrico [HIV molecular diagnostics toolkit to improve access to viral load testing and infant diagnosis]. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2020. Licença: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Dados da catalogação na publicação (CIP). Os dados da CIP estão disponíveis em <http://apps.who.int/iris>.

Vendas, direitos e licenciamento. Para comprar as publicações da OMS, ver <http://apps.who.int/bookorders>. Para apresentar pedidos para uso comercial e esclarecer dúvidas sobre direitos e licenças, consultar <http://www.who.int/about/licensing>.

Materiais de partes terceiras. Para utilizar materiais desta publicação, tais como quadros, figuras ou imagens, que sejam atribuídos a uma parte terceira, compete ao utilizador determinar se é necessária autorização para esse uso e obter a devida autorização do titular dos direitos de autor. O risco de pedidos de indemnização resultantes de irregularidades pelo uso de componentes da autoria de uma parte terceira é da responsabilidade exclusiva do utilizador.

Isenção geral de responsabilidade. As denominações utilizadas nesta publicação e a apresentação do material nela contido não significam, por parte da Organização Mundial da Saúde, nenhum julgamento sobre o estatuto jurídico ou as autoridades de qualquer país, território, cidade ou zona, nem tampouco sobre a demarcação das suas fronteiras ou limites. As linhas ponteadas e tracejadas nos mapas representam de modo aproximativo fronteiras sobre as quais pode não existir ainda acordo total.

A menção de determinadas companhias ou do nome comercial de certos produtos não implica que a Organização Mundial da Saúde os aprove ou recomende, dando-lhes preferência a outros análogos não mencionados. Salvo erros ou omissões, uma letra maiúscula inicial indica que se trata dum produto de marca registado.

A OMS tomou todas as precauções razoáveis para verificar a informação contida nesta publicação. No entanto, o material publicado é distribuído sem nenhum tipo de garantia, nem expressa nem implícita. A responsabilidade pela interpretação e utilização deste material recai sobre o leitor. Em nenhum caso se poderá responsabilizar a OMS por qualquer prejuízo resultante da sua utilização.

Foto da capa: © WHO

Arranjo gráfico de L'IV Com Sàrl

Impresso na Suíça

KIT DE FERRAMENTAS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR DO VIH PARA MELHORAR O ACESSO AOS TESTES DE CARGA VIRAL E DIAGNÓSTICO PRECOCE PEDIÁTRICO

KIT DE FERRAMENTAS – JULHO DE 2019

ÍNDICE

Agradecimentos	3
1. Introdução: diagnóstico molecular para os testes da carga viral do VIH e diagnóstico precoce pediátrico	4
2. Uso dos resultados dos testes da carga viral para apoiar o tratamento clínico das pessoas que vivem com o VIH ...	7
3. Alcance e acesso estimado aos testes da carga viral usando amostras de plasma tradicionais	10
4. Estabilidade das amostras para os testes da carga viral	12
5. Antecedentes técnicos: testes moleculares	14
6. Tipos alternativos de amostras e tecnologias a considerar quando não é possível usar plasma líquido para os testes da carga viral devido a constrangimentos de infraestruturas, transporte ou outros 18	18
6.1. Tipos alternativos de amostras e tecnologias: amostras de gotas de sangue seco para os testes da carga viral do VIH.	18
6.2. Tipos alternativos de amostras e tecnologias: amostras de gotas de plasma seco para os testes da carga viral do VIH 20	20
6.3. Tipos alternativos de amostras e tecnologias: tubos de preparação do plasma para os testes da carga viral do VIH	21
6.4. Tipos alternativos de amostras e tecnologia: ferramentas nos pontos de cuidados ou na sua proximidade para os testes da carga viral do VIH	33\
7. Intervenções operacionais e considerações sobre o reforço da carga viral e diagnóstico pediátrico	25
7.1. Opções de transporte das amostras para o diagnóstico molecular.	25
7.2. Pacotes para o diagnóstico pediátrico e colheita de amostras para a carga viral.	30
7.3. Intervenções operacionais: testes da carga viral para diagnóstico pediátrico.	33
7.4. Novas ferramentas nos pontos de cuidados para o diagnóstico pediátrico precoce do VIH.	34
7.5. Intervenções operacionais: considerações actualizadas sobre um pacote abrangente de gestão da qualidade dos testes nos pontos de cuidados, no âmbito dos programas nacionais de saúde	36
8. Conclusões	38
Referências	39
Anexo 1. Algoritmo do diagnóstico precoce pediátrico	44

AGRADECIMENTOS

Várias partes interessadas importantes deram um significativo contributo ao longo do processo de elaboração desta publicação, incluindo as seguintes.

- Robert Luo, Kameko Nichols and Neil Parkin
- African Society for Laboratory Medicine: Charles Kiyaga and Anafi Mataka
- Clinton Health Access Initiative: Paolo Maggiore, Maria Rosezoi Rioja and Jilian Sacks
- Elizabeth Glaser Pediatric AIDS Foundation: Jennifer Cohn
- United States Agency for International Development: Dianna Edgil, Matthew Wattleworth and Jason Williams
- WHO Regional Office for Africa: Fatim Cham Jallow and Fausta Mosha
- WHO Essential Medicines and Health Products Programme: Mercedes Perez and Ute Ströher

Em particular:

- Clinton Health Access Initiative e United States Agency for International Development (secção 3).
- Robert Luo apoiou o desenvolvimento da secção 5 and subsecção 6.1.
- Kameko Nichols apoiou o desenvolvimento da secção 7.1.
- The Clinton Health Access Initiative apoiou o desenvolvimento da subsecção 7.2.



1. INTRODUÇÃO: DIAGNÓSTICO MOLECULAR PARA TESTES DA CARGA VIRAL DO VIH E DIAGNÓSTICO PRECOCE PEDIÁTRICO

Monitorização do insucesso no tratamento

A monitorização das pessoas que recebem terapia antirretroviral é importante para garantir o êxito do tratamento, identificar problemas de adesão e determinar se os regimes terapêuticos antirretrovirais devem ser mudados no caso de insucesso do tratamento. Em 2013, a OMS recomendava o uso dos testes da carga viral como a abordagem ideal de monitorização, para diagnosticar e confirmar o insucesso da terapia antirretroviral (1). Em comparação com a monitorização clínica ou imunológica, a carga viral fornece uma indicação precoce e mais rigorosa do insucesso do tratamento. A medição da carga viral pode ajudar a distinguir entre a resistência aos medicamentos e a não adesão, quando combinada com um aconselhamento firme e reforçado sobre a adesão. Para além disso, a carga viral pode servir como medida representativa do risco de transmissão e eficácia das intervenções de prevenção, tanto a nível individual como populacional.

As orientações actualizadas da OMS de 2016 recomendam que a monitorização de rotina da carga viral se faça aos 6 meses, 12 meses após o início da terapia antirretroviral e, depois, de 12 em 12 meses, se a pessoa estiver estável na terapia antirretroviral (2). Se a carga viral não estiver rotineiramente disponível, deve usar-se a contagem de CD4 e a monitorização clínica para avaliar o insucesso do tratamento. Além disso, podem usar-se amostras de sangue seco, usando sangue total venoso ou capilar, para determinar a carga viral do VIH. Para determinar o insucesso do tratamento, quando se usam amostras de sangue seco, deve usar-se um limiar de 1000 cópias/ml, tal como definido para os testes no plasma.

Insucesso no tratamento é definido como uma carga viral persistentemente detectável que exceda 1000 cópias/ml (2), isto é, duas medições consecutivas da carga viral com um intervalo de 3 meses, com apoio à adesão entre as medições após, pelo menos, seis meses do início de um novo regime de terapia antirretroviral (Caixa 1).

Além disso, a carga viral pode apoiar estratégias de prestação de serviços diferenciados para as pessoas que vivem com o VIH, incluindo as que estão estáveis com a terapia antirretroviral (2). Pessoas estáveis são aquelas que receberam terapia antirretroviral durante, pelo menos, um ano e não tiveram quaisquer reacções adversas aos medicamentos que requeiram uma monitorização regular, não têm doenças, nem estão grávidas, não estão a amamentar e compreendem bem as vantagens de uma adesão vitalícia, além de apresentarem evidências do sucesso do tratamento (duas medições consecutivas da carga viral abaixo de 1000 cópias/ml). O pacote de cuidados para indivíduos estáveis pode incluir consultas menos frequentes, recolha de medicamentos, cuidados comunitários e a cessação da monitorização por contagem de CD4, se estiver disponível o teste da carga viral.

Caixa 1. Avaliar a doença avançada do VIH

Uma vez que a contagem de CD4 é o melhor indicador do estado da doença e do imediato risco de morte, deve ser usada para identificar as pessoas em um estado avançado da infecção por VIH. Todas as pessoas que comecem ou retomem os cuidados devem fazer um teste de CD4 no início do tratamento, como é clinicamente indicado para as pessoas que estejam clinicamente instáveis ou apresentem sintomas de doença avançada por VIH (2,3). Além disso, recomenda-se firmemente que as pessoas em estado avançado de doença por VIH (contagem de CD4 inferior a 200 células/mm³ ou fase 3 ou 4 da OMS) recebam um pacote de cuidados (4).

Há muitas orientações nacionais que presentemente recomendam e estão a reforçar o acesso aos testes da carga viral para a monitorização do tratamento (Fig. 1).

A percentagem de testes da carga viral que se fazem anualmente tem aumentado significativamente desde 2013 (Fig. 2) (5). Em 2017, foram realizados aproximadamente, 15 milhões de testes da carga viral e as projecções sugerem que, em 2022, se poderão fazer quase 29 milhões de testes. Apesar deste aumento do volume de testes, a cobertura total da procura de testes da carga viral continuou abaixo dos 60%, em 2017.

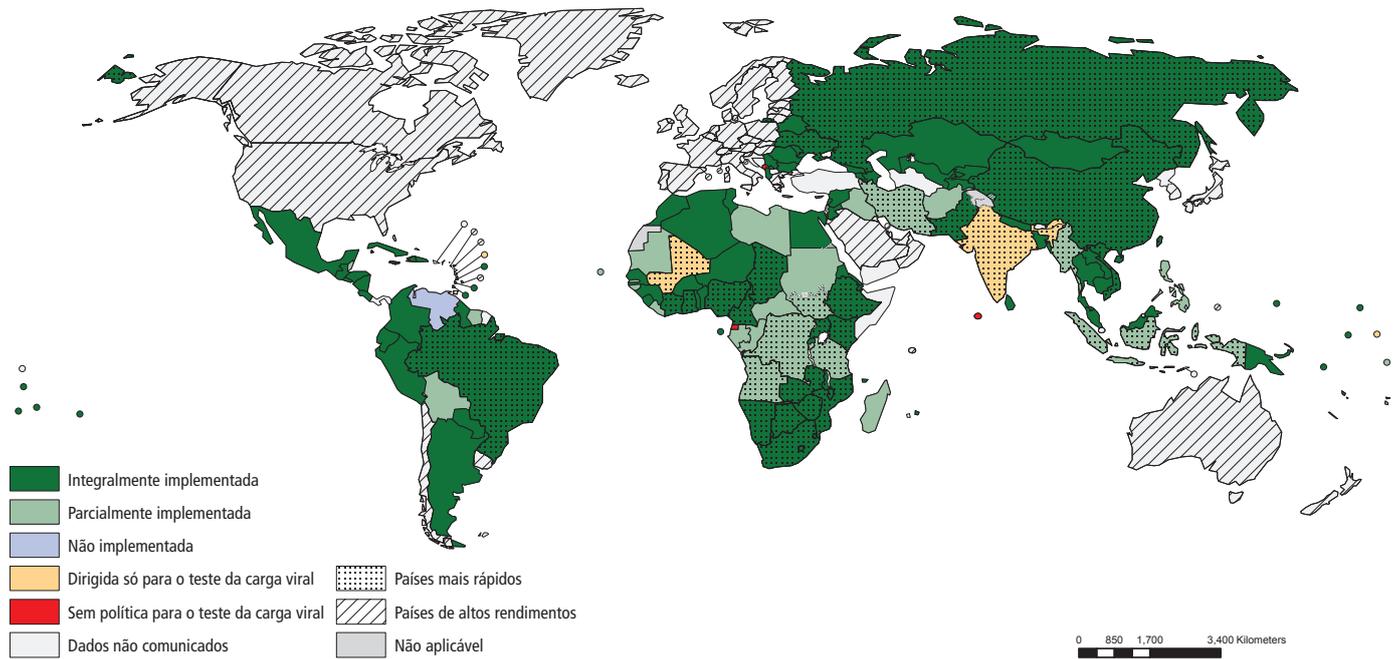
O maior volume de testes da carga viral e a continuação do seu crescimento a nível nacional representam um aumento significativo dos encargos do orçamento nacional com os testes. Felizmente, foram negociados recentemente compromissos sobre preços em apoio à expansão e acesso a esses testes (6–8).

Existem actualmente numerosas tecnologias, não só laboratoriais como também ensaios na proximidade dos pontos de cuidados, para apoiar o aumento dos testes da carga viral e o diagnóstico precoce pediátrico, estando a ser desenvolvidas novas tecnologias (9,10).

Diagnóstico pediátrico

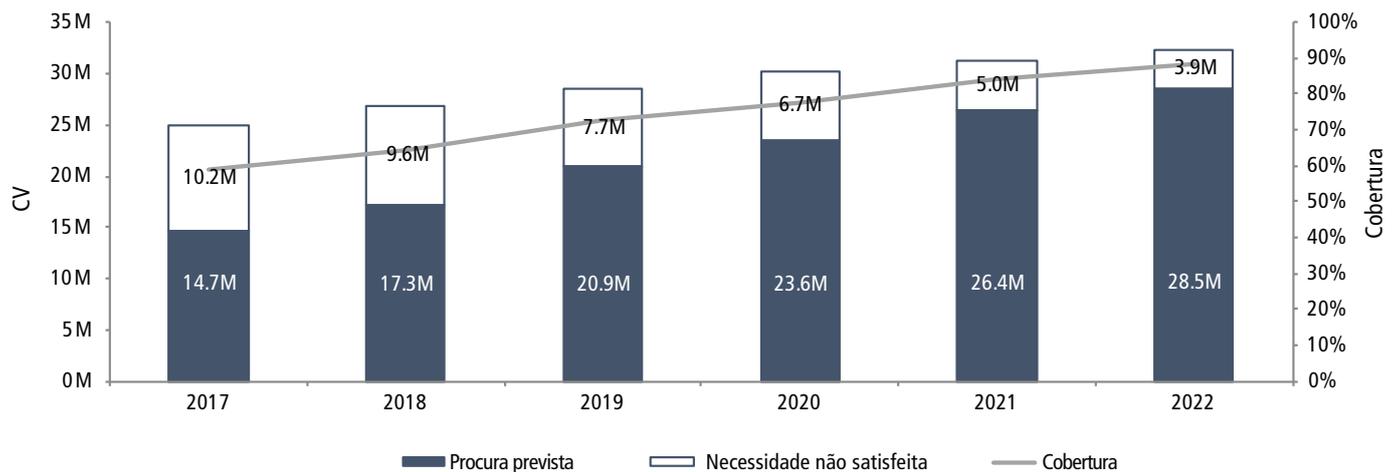
O diagnóstico pediátrico consiste na realização de testes durante todo durante todo o período de exposição da criança ao VIH. Consoante a idade, o diagnóstico pode basear-se em testes de ácido nucleico ou testes serológicos. Mais especificamente, o diagnóstico pediátrico precoce refere-se especificamente ao teste de ácido nucleico em crianças nos primeiros dois meses de vida. Para conhecer o algoritmo do diagnóstico pediátrico, ver o Anexo 1.

Fig. 1. Política nacional para o testes de rotina da carga viral para monitorizar a TAR e nível de implementação em adultos e adolescentes em países de baixos-médios rendimentos



Fonte: Global AIDS Monitoring (UNAIDS/WHO/UNICEF) and WHO HIV Country Intelligence Tool, 2019.

Fig. 2. Previsão da carga viral estimada nos países de baixos-médios rendimentos em todo o mundo



Fonte: 2018 CHAI HIV Market.

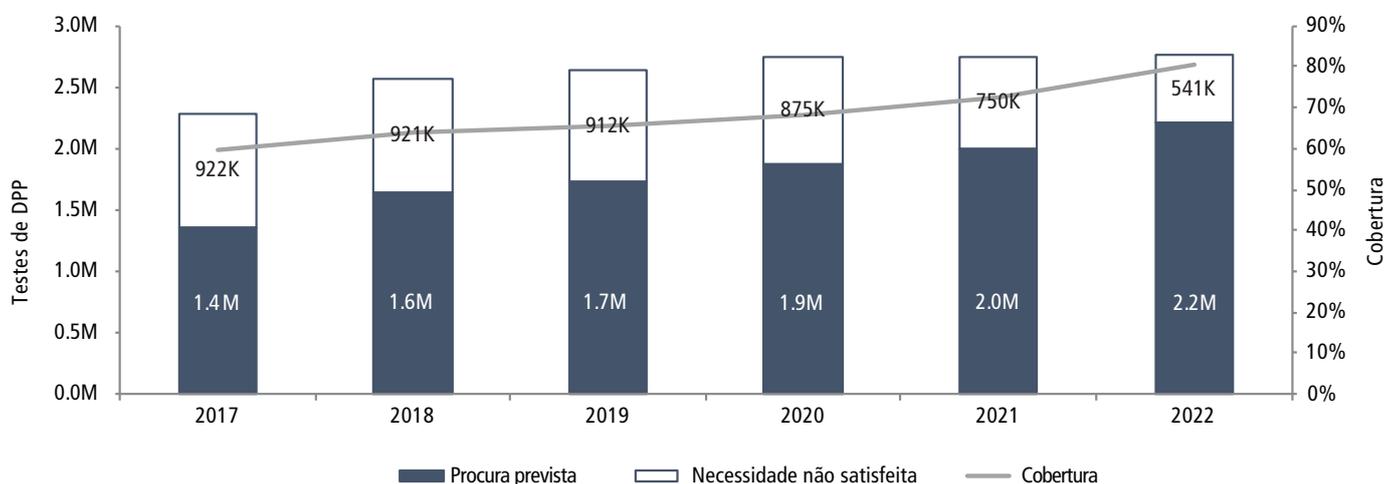
A cobertura do diagnóstico pediátrico precoce (teste nos primeiros dois meses de vida) tem permanecido estável nos últimos anos, com cerca de 51% das crianças expostas ao VIH recebendo um teste de ácido nucleico nos primeiros dois meses de vida em 2018 (11). A percentagem de crianças expostas ao VIH que fizeram o teste aos nove meses ou no final do período de exposição tem sido difícil de calcular.

As previsões actuais relativamente ao teste do ácido nucleico sugerem um crescimento moderado e volumes sustentados até 2022 (Fig. 3) (5). Em 2017, realizaram-se, aproximadamente, 1,4 milhões de testes do ácido nucleico em bebés, sendo projectados mais de 2 milhões para 2022.

Desde 2010, têm sido feitas várias recomendações para apoiar o acesso e o reforço alargado ao diagnóstico pediátrico (2,12).

- Deve usar-se uma amplitude indeterminada, para melhorar o rigor de todos os testes de diagnóstico pediátrico baseados no ácido nucleico (recomendação firme, evidências de qualidade moderada).
- Nos bebés com um resultado inicial positivo no teste do ácido nucleico, recomenda-se firmemente que a terapia antirretroviral se inicie sem demora e, ao mesmo tempo, seja colhida uma segunda amostra para confirmar o teste inicial positivo (recomendação firme, evidências de baixa qualidade).
- Recomenda-se firmemente que as crianças (com 18 meses ou mais) com suspeita de infecção por VIH ou exposição ao VIH façam testes serológicos do VIH, de acordo com o algoritmo normal de diagnóstico do VIH usado nos adultos, para determinar o diagnóstico final (recomendação firme, evidências de alta qualidade).
- Em contextos de epidemia generalizada, os recém-nascidos e as crianças pequenas com estado de VIH desconhecido que sejam internados para cuidados ou consultem clínicas de malnutrição ou de TB devem fazer o teste do VIH de rotina (recomendação firme, evidências de baixa qualidade).
- Em contextos de epidemia generalizada, os recém-nascidos e as crianças pequenas com estado de VIH desconhecido devem fazer o teste do VIH em clínicas de ambulatório ou de vacinação (recomendação condicional, evidências de baixa qualidade).
- As tecnologias dos testes de ácido nucleico que sejam desenvolvidas e validadas para serem usadas nos pontos de cuidados ou na sua proximidade podem ser usadas para o teste de VIH em crianças (recomendação condicional, evidências de baixa qualidade).
- A adição do teste do ácido nucleico à nascença às abordagens já existentes para o diagnóstico pediátrico pode ser considerada, para identificar a infecção pelo VIH em crianças expostas ao VIH (recomendação condicional, evidências de baixa qualidade).
- Deve considerar-se a substituição do teste serológico aos nove meses de idade pelo teste do ácido nucleico.

Fig. 3. Previsão estimada do diagnóstico pediátrico nos países de baixos e médios rendimentos em todo o mundo



2. USO DOS RESULTADOS DOS TESTES DA CAR PEDIÁTRICO VIRAL PARA APOIAR O TRATAMENTO CLÍNICO DAS PESSOAS QUE VIVEM COM O VIH E FAZEM TERAPIA ANTIRRETROVIRAL

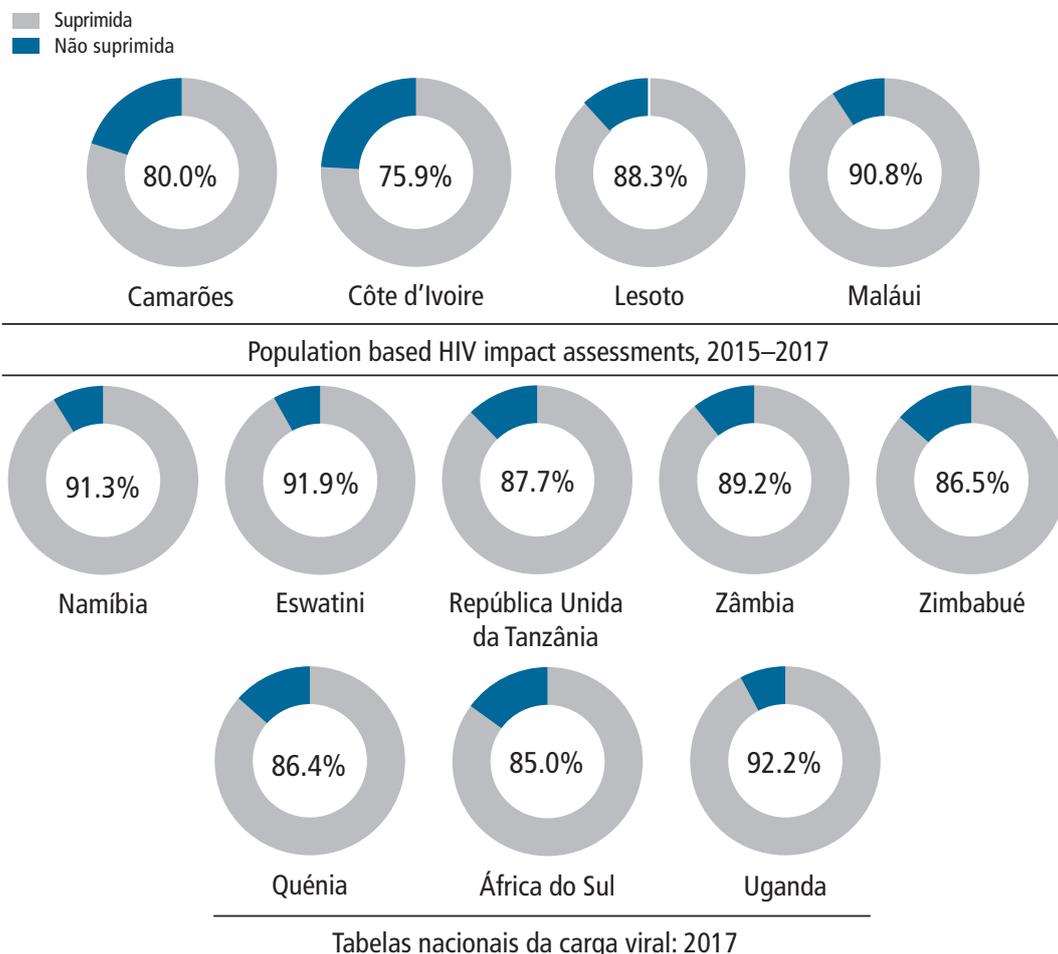
As orientações consolidadas da OMS de 2016 sobre o uso de antirretrovirais para tratar e evitar a infecção pelo VIH (2) apresenta a firme recomendação de se usar o teste da carga viral regularmente como ferramenta ideal de monitorização dos antirretrovirais. A OMS recomenda a realização do teste da carga viral aos seis meses depois do início da terapia antirretroviral, aos 12 meses e, depois, anualmente, para permitir a detecção precoce do insucesso do tratamento, prevenir a resistência aos medicamentos, identificar as pessoas com cargas virais elevadas e fraca adesão e evitar uma mudança inapropriada do regime de tratamento (2). Em 2014, a ONUSIDA lançou as metas de tratamento 90–90–90 que deveriam ser atingidas em 2020 e se destinavam a ajudar a erradicar a epidemia da SIDA enquanto ameaça para a saúde pública. A terceira meta 90 pretende garantir que 90% das pessoas que fazem terapia antirretroviral terão suprimido as cargas virais (13).

A terapia antirretroviral e a adesão ao tratamento oferece benefícios clínicos notáveis e sustentados, mesmo nas pessoas com doença por

VIH já avançada. As evidências das tabelas nacionais sobre a carga viral e os resultados da avaliação do impacto sobre o VIH baseado nas populações (14) sugerem que as taxas de supressão nas pessoas que vivem com o VIH e fazem a terapia antirretroviral se situam geralmente entre 85–92% (Fig. 4).

É importante compreender as taxas de supressão viral a nível da população para identificar potenciais focos de transmissão, informar as metas nacionais e fazer esforços orientados para a melhoria da qualidade dos programas, mas talvez seja mais importante, a nível do doente, oferecer cuidados melhorados e apoio às pessoas que vivem com o VIH. As pessoas clinicamente estáveis com cargas virais não detectáveis podem optar pela prestação de serviços diferenciados que reduzem o número de visitas às clínicas e permitem a prescrição de medicamentos para três a seis meses. Para além disso, o teste da carga viral é fundamental para assegurar que as pessoas que vivem com cargas virais detectáveis superiores a 1000 cópias/ml

Fig. 4. Taxas de supressão da carga viral em alguns países



recebam aconselhamento mais enfático para a adesão e sejam monitorizadas mais de perto para determinar se precisam de mudar para um tratamento de segunda linha (Fig. 5). O algoritmo de monitorização do tratamento destina-se a ajudar os clínicos e os doentes a determinarem se as cargas virais elevadas ou a suspeita de insucesso do tratamento são causadas pela resistência aos medicamentos ou pela fraca adesão. Não é desejável, nem para as pessoas que vivem com o VIH, nem para os programas, que se faça uma mudança desnecessária para regimes de segunda linha mais dispendiosos e menos bem tolerados, quando as pessoas simplesmente não aderem aos tratamentos, em primeiro lugar, porque os problemas da adesão não irão necessariamente ser resolvidos com a mudança. Contudo, continuar um regime que não resulta, quando a causa de fundo é a resistência aos medicamentos pode conduzir a maior resistência medicamentosa, maior deterioração da imunidade e possivelmente a efeitos clínicos.

Os resultados dos testes da carga viral estão a ser usados para tomar decisões clínicas?

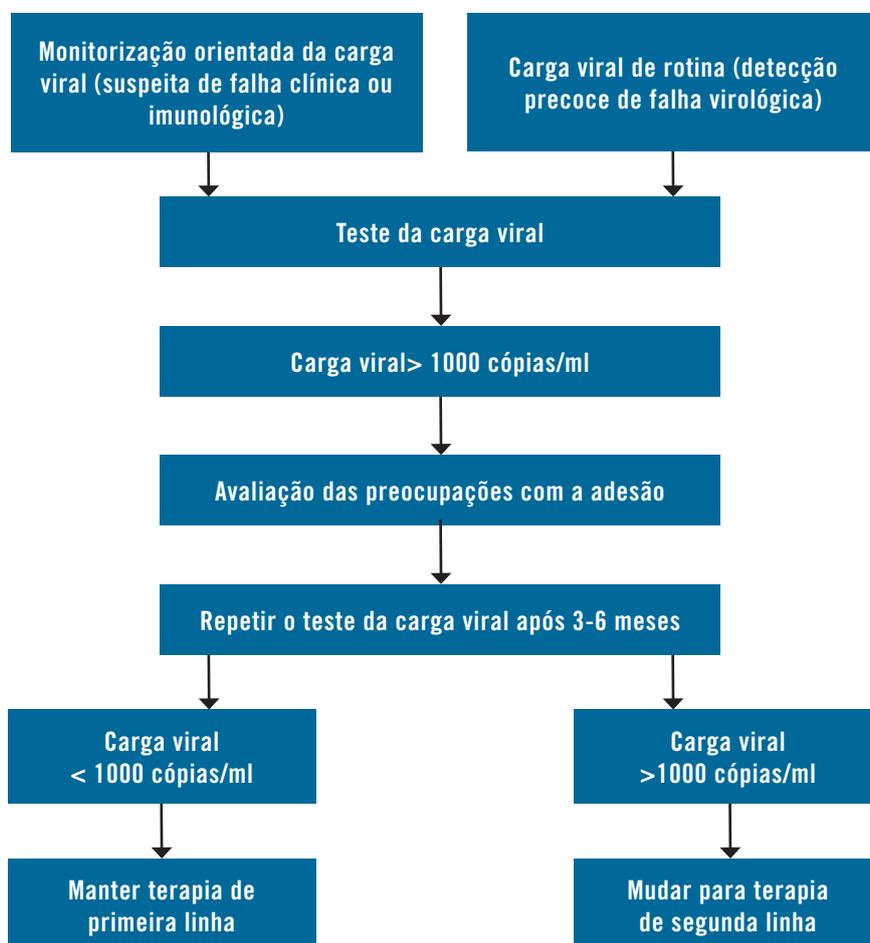
Os testes da carga viral têm aumentado significativamente nos últimos anos, de 7 milhões de testes, em 2013, para 15 milhões, em 2017. No entanto, a realização de testes da carga viral não deveria ser a principal preocupação dos programas da carga viral.

Os programas deverão igualmente concentrar-se no modo como os resultados desses testes são usados para informar a tomada de decisões clínicas.

Os Médicos Sem Fronteiras realizaram uma análise aprofundada da execução dos principais passos no algoritmo de monitorização do tratamento da carga viral em seis países e 149 unidades de saúde apoiadas pelos seus programas (15). Entre as pessoas com uma carga viral inicial elevada (média de 18%), uma média de 68% assistiu, pelo menos, a uma sessão de aconselhamento para uma maior adesão, 52% fizeram um segundo teste de seguimento da carga viral, 34% voltaram a suprimir (<1000 cópias/ml) e 33% das pessoas elegíveis mudaram para um tratamento de segunda linha.

Estes resultados são ainda apoiados por uma análise preliminar dos dados publicamente disponíveis e que foram divulgados nas tabelas nacionais de três países da África Oriental (16). Apesar de um aumento na cobertura dos testes da carga viral e da percentagem animadora da supressão viral, foram menos de 10% as pessoas com carga viral elevada no primeiro teste que passaram pelo algoritmo da carga viral para fazerem um segundo teste de seguimento, a fim de se determinar a necessidade de mudarem para um regime de segunda linha (Fig. 6). Esta tendência tem permanecido constante ao longo dos anos.

Fig. 5. Algoritmo de monitorização da OMS para o insucesso do tratamento

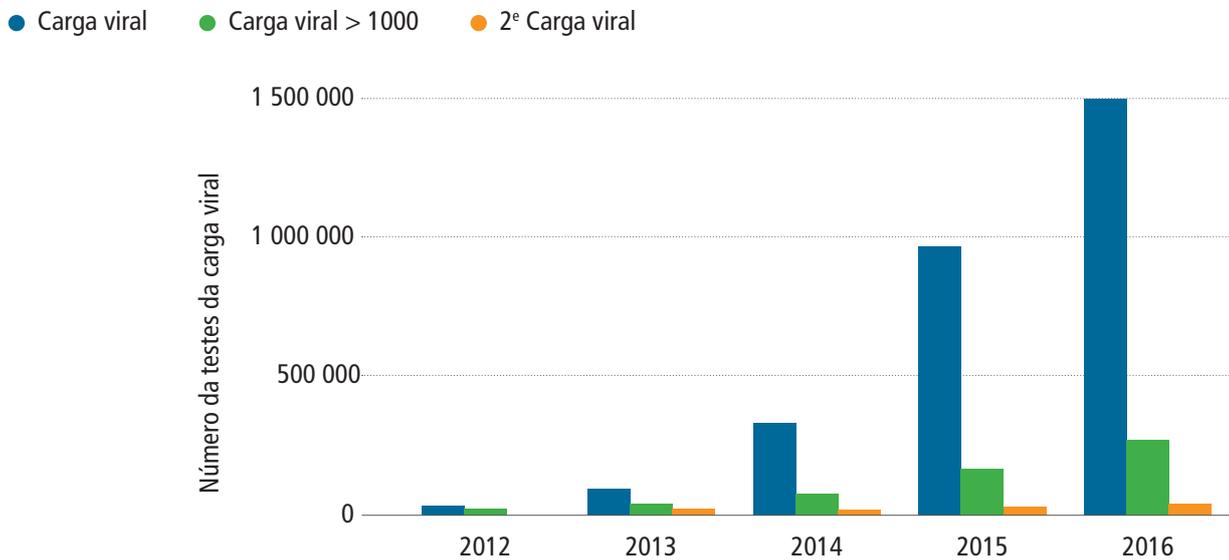


Principais considerações

Os testes de diagnóstico só terão algum valor significativo, se os resultados forem usados clinicamente. A interface laboratório-clínicas pode ser o mecanismo mais difícil, mas também o mais crítico e gratificante, para melhorar o tratamento do doente. Para criar serviços de saúde eficazes que prestem os melhores cuidados e tratamento às pessoas que vivem com o VIH, os programas terão de revitalizar e investir na interface laboratório-clínicas e garantir a disponibilidade adequada de formação, instrumentos e ambiente para melhorar a utilização

em devido tempo de todos os resultados do diagnóstico. Existem actualmente vários instrumentos para melhorar a utilização clínica dos resultados dos testes da carga viral e que poderão ser adaptados e adoptados pelos programas nacionais (17-19). O reforço dos programas da carga viral bem sucedidos exige que sejam usados todos os resultados dos testes, que devem ser integrados nos serviços clínicos, para optimizar os cuidados aos doentes e o êxito dos programas.

Fig. 6. Testes da carga viral realizados em três países da África Oriental, 2012–2016



3. ALCANCE E ACESSO ESTIMADO AOS TESTES DA CARGA VIRAL USANDO AMOSTRAS DE PLASMA TRADICIONAIS

As orientações consolidadas da OMS de 2016 sobre o uso de medicamentos antirretrovirais para tratar e prevenir a infecção pelo VIH (2) recomendam a carga viral como a abordagem ideal de monitorização para diagnosticar e confirmar o insucesso do tratamento e as amostras de plasma como o tipo ideal de amostras para os testes da carga viral. Embora, desde a recomendação inicial, em 2013, se tenha registado um reforço significativo nos países de recursos limitados e com pesado fardo de infecção pelo VIH, o acesso integral tem sido limitado por inúmeros obstáculos. Em particular, a utilização de plasma usando tubos de EDTA (ver Secção 4) pode ser limitada, devido à rigidez dos tempos de estabilidade e temperaturas de armazenamento das amostras que são transportadas para o laboratório de referência ou para um centro intermédio para processamento. Para além disso, também é limitada a disponibilidade de cadeias de frio entre as várias unidades de saúde e os pontos de testagem, em contextos de recursos limitados.

Contudo, as amostras tradicionais de plasma EDTA têm um significativo potencial para os testes da carga viral. Mesmo dentro dos tempos de estabilidade e temperaturas de armazenamento das amostras, muitas pessoas ainda têm acesso aos testes da carga viral usando este tipo de amostra.

Recentemente, foi feita uma análise para se entender melhor o raio em torno dos laboratórios de referência ou centros intermédios dentro do qual as pessoas podem aceder aos testes da carga viral, usando amostras tradicionais de plasma EDTA. Essa análise foi feita em quatro países: Eswatini, Nigéria, Ruanda e Zimbabué.

Foram assumidos vários pressupostos, nomeadamente:

- Veículos viajando a 50 km/h;
- Medições em linha recta desde a unidade de saúde até ao laboratório de referência ou centro intermédio mais um factor de circuito de 17%;
- Laboratórios de referência ou centros intermédios considerados como o ponto final para a separação do plasma;
- A última amostra colhida todos os dias teve uma espera máxima de duas horas na unidade de saúde, antes de ser recolhida e transportada para o laboratório de testes ou centro intermédio dentro do tempo de estabilidade no armazenamento estipulado pelo fabricante; e
- Esta análise não incorpora outros tipos alternativos de amostras de plasma, nem considera a centrifugação no local, nem o respectivo armazenamento e transporte.

Tabela 1. Acesso aos testes da carga viral usando plasma EDTA tradicional

País	Acesso aos testes da carga viral usando plasma EDTA tradicional	
	Unidades	Pessoas
Eswatini	260/350 (74%)	250 000/320 000 (78%)
Nigéria	750/2 600 (29%)	450 000/1 200 000 (38%)
Ruanda	505/550 (92%)	148 000/165 000 (90%)
Zimbabué	700/1 500 (47%)	120 000/190 000 (63%)
Total	2 215/5 000 (44%)	968 000/1 875 000 (52%)

Análise ilustrativa do raio para o plasma

Nos quatro países, pouco menos de metade de todas as unidades de saúde estão suficientemente perto do laboratório de testes ou do centro intermédio para transportar as amostras tradicionais de plasma EDTA dentro do tempo estipulado pelo fabricante. Isso representa mais de 50% ou quase 1 milhão de pessoas nos quatro países analisados que têm acesso a testes da carga viral usando plasma EDTA tradicional.

Mesmo num país geograficamente tão grande como a Nigéria, quase 40% das pessoas em terapia antirretroviral e que precisam de testes da carga viral teriam acesso usando plasma EDTA tradicional. Países geograficamente mais pequenos, como Eswatini e Ruanda, podem ter menos laboratórios, mas podem fornecer acesso a testes da carga viral, usando amostras de plasma EDTA tradicional, a quase 80% ou mais das pessoas em terapia antirretroviral.

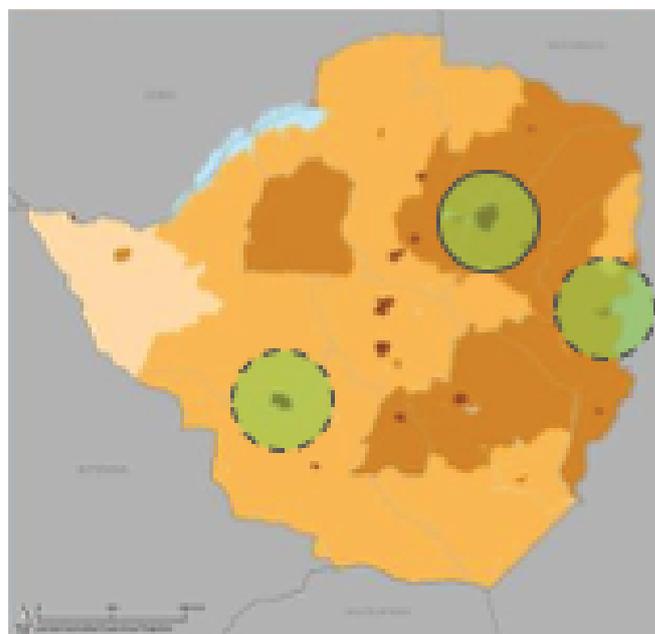
O elevado acesso a testes da carga viral usando plasma EDTA tradicional é possível, porque a maioria dos laboratórios de referência da carga viral se situam nos principais centros urbanos. Do mesmo modo, os maiores centros de terapia antirretroviral a que as pessoas recorrem estão localizados, muitas vezes, nos principais centros urbanos. Esta análise salienta o facto de mais de 50% das pessoas em terapia antirretroviral e que precisam de fazer testes da carga viral residirem a algumas horas de distância do laboratório de testes ou centro intermédio, permitindo assim o transporte das amostras dentro do tempo estabelecido (Fig. 7).

Conclusões

Esta análise ilustrativa constitui um retrato do potencial acesso aos testes da carga viral, usando a amostra de plasma como preferencial preferencial. A percentagem de pessoas que têm acesso a testes da carga viral usando amostras de plasma EDTA tradicional pode variar conforme os locais, dependendo de vários factores, como o número de laboratórios, as infraestruturas rodoviárias e o tamanho do país. Devem fazer-se todos os esforços possíveis para garantir o acesso a testes da carga viral usando as amostras de plasma que são ideais.

Poderá ser útil realizar análises aprofundadas semelhantes em todos os países, para determinar as unidades de saúde e as pessoas que conseguem ter acesso aos testes da carga viral usando amostras de plasma tradicionais. As actuais infraestruturas poderão nem sempre permitir o uso do plasma EDTA tradicional em muitos locais, devido ao mau estado das estradas e das infraestruturas, grandes distâncias, transporte improvisado de amostras, etc. Por conseguinte, para as unidades e pessoas que não têm acesso a testes da carga viral usando o plasma EDTA tradicional, podem ser encontradas alternativas para garantir esse acesso, incluindo melhores infraestruturas, redes de transporte de amostras e tipos de amostras e tecnologias diferentes. Este kit de ferramentas de diagnóstico molecular fornecerá informação básica e dados sobre várias dessas estratégias alternativas para garantir uma abordagem complementar à expansão do acesso.

Fig. 7. Exemplo ilustrativo do raio de acesso do plasma aos laboratórios de referência do Zimbabué



4. ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS PARA OS TESTES DA CARGA VIRAL DO VIH

As orientações consolidadas da OMS de 2016 sobre o uso de antirretrovirais para tratar e prevenir a infecção pelo VIH (2) recomendam a carga viral como a abordagem ideal de monitorização, para diagnosticar e confirmar o insucesso do tratamento e as amostras de plasma como o tipo de amostra ideal para os testes da carga viral. Embora, desde a recomendação inicial de 2013, se tenha registado um reforço significativo em países de recursos limitados com um pesado fardo de infecções pelo VIH, existem vários obstáculos significativos que têm limitado o acesso integral aos testes da carga viral. Em particular, o uso de plasma líquido e o uso do ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) ou tubos de preparação do plasma (ver subsecção 6.1) podem ser limitados devido à rigidez dos tempos de estabilidade no armazenamento das amostras, dentro dos quais as amostras devem ser

transportadas para o laboratório de referência ou para um centro intermédio, para processamento. A Tabela 2 apresenta os tempos máximos, de acordo com a temperatura de armazenamento estipulada pelos fabricantes, desde a colheita das amostras de sangue total até à separação do plasma. Prolongar o tempo de armazenamento antes do processamento para além destas recomendações poderá afectar o desempenho e os riscos, fornecendo resultados incorrectos aos clínicos e aos doentes.

Depois de separadas em plasma, as amostras podem ser congeladas durante longos períodos de tempo, antes de serem analisadas. Contudo, as unidades de saúde podem não ter centrífugas, congeladores e/ou as necessárias competências para prolongarem esses tempos de estabilidade depois da separação do plasma.

Tabela 2. Informações do fabricante sobre a estabilidade do sangue total

Teste	Tempo máximo da colheita de amostras de sangue total para separação de plasma	
	Temperatura ambiente (temperatura)	Refrigeração (temperatura)
Abbott RealTime HIV-1 (20,21)	24 heures (15 à 30°C) (temperatura)	48 horas (2–8°C)
Abbott m-PIMA HIV-1/2 VL (22,23)	48 horas (18–28°C)	NR
Biocentric Generic HIV Charge Virale (24)	24 horas (2–25°C)	24 horas (2–25°C)
bioMérieux NucliSENS EasyQ® HIV-1 (25,26)	NR	24 horas (2–8°C)
Cavidi ExaVir Load (27)	4–6 horas (sem temperatura especificada)	
Cepheid Xpert HIV-1 Viral Load (28,29)	8 horas (15–30°C)	72 horas (2–8°C)
Hologic Aptima HIV-1 Quant Dx (30,31)	24 horas (2–30°C)	24 horas (2–30°C)
Qiagen artus HI Virus-1 RG (32)	6 horas (sem temperatura especificada)	
Qiagen artus HI Virus-1 QS-RGQ (33)	6 horas (sem temperatura especificada)	
Roche COBAS TaqMan HIV-1 (34,35)	24 horas (2–25°C)	24 horas (2–25°C)
Roche cobas HIV-1 for cobas 4800 System (36)	24 horas (2–25°C)	24 horas (2–25°C)
Roche cobas HIV-1 for cobas 6800/8800 Systems (37)	24 horas (2–25°C)	24 horas (2–25°C)
Sacace HIV Real-™ Quant Dx (38)	NR	12 horas (2–8°C)
Siemens VERSANT HIV-1 RNA 1.5 (39)	6 horas (15–25°C)	24 horas (2–8°C)

NR: não reportado.

Estabilidade do sangue total para uma revisão sistemática da carga viral do VIH

Em 2014, foi publicada uma revisão sistemática de nove estudos intitulada “Expandir o acesso a testes da carga viral do VIH: Estabilidade do ARN em tubos de EDTA e tubos de preparação de plasma para além dos limites actuais de tempo e temperatura” (40). Esta revisão sistemática apontava três achados principais:

- O sangue total e o plasma eram estáveis até 168 horas depois;
- O sangue total era estável até 72 horas depois da colheita da amostra, quando armazenado a 25°C;
- O plasma era estável até 48 horas depois da colheita da amostra (tubos de preparação de plasma) ou da separação do plasma (EDTA), quando armazenado a 25°C.

No entanto, algumas limitações importantes a considerar são que todos os estudos incluíam análises laboratoriais e não os tempos e as temperaturas realistas de armazenamento e transporte e todos foram realizadas nos Estados Unidos ou na Europa. Por outro lado, apenas estavam disponíveis alguns estudos relevantes para inclusão e na maioria deles o tamanho das amostras era pequeno.

Para além disso, poucos estudos incluíam amostras que tivessem as cargas virais suprimidas (<1000 cópias/ml), tornando difícil a interpretação dos resultados dentro dessa amplitude. Contudo, um estudo recentemente publicado observava resultados

elevados de carga viral em amostras de carga viral indetectável, quando o plasma era armazenado para além das 72 horas (41). Curiosamente, 20% dos resultados da carga viral indetectável revelavam viremia de baixo nível a qualquer temperatura ambiente ou refrigeração. Além disso, 51% das amostras indetectáveis tornavam-se virémicas de baixo nível, se o plasma não fosse de novo centrifugado antes dos testes após 48 horas de armazenamento.

Conclusões

Felizmente, desde a publicação da revisão sistemática, vários fabricantes prolongaram para 24 horas a recomendação para a estabilidade à temperatura ambiente, desde a colheita das amostras de sangue total até à separação do plasma. Embora a revisão sistemática sugira que as amostras são estáveis para além das indicações do fabricante, os países e os laboratórios são responsáveis pelos resultados dos testes da carga viral nessas condições não oficiais.

Outras investigações e o apoio dos fabricantes à extensão das recomendações de estabilidade do sangue total para o uso pretendido devem ser encorajadas, uma vez que uma estabilidade mais alargada das amostras sustentaria a expansão do acesso aos testes da carga viral, usando o tipo de amostra ideal: o plasma.



5. CONTEXTO TÉCNICO: TESTES BASEADOS NO ÁCIDO NUCLEICO

O que são testes da carga viral?

Os testes da carga viral do VIH são uma forma de quantificar o número de vírus presentes numa amostra de sangue. O sangue total é constituído por componentes celulares (glóbulos brancos, glóbulos vermelhos e plaquetas) e plasma livre de células. Os testes de ácido nucleico fazem-se usando um teste de amplificação do ácido nucleico, que determina o número de cópias de VIH por mililitro de plasma. Os testes de amplificação do ácido nucleico funcionam amplificando, quer o material genético do VIH, quer uma sonda ligada ao VIH (42). O teste usa depois uma reacção química para medir a quantidade de amplificação observada durante o teste, que corresponde à quantidade de VIH presente na amostra. O tipo mais comum de teste da carga viral é a reacção em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR). Outros tipos de testes da carga viral são a amplificação mediada por transcrição e os testes de ADN ramificado (2).

Utilidade dos testes da carga viral

- A monitorização da carga viral do VIH é importante para garantir o êxito da terapia antirretroviral. A monitorização da carga viral é a abordagem ideal para diagnosticar e confirmar o insucesso do tratamento (2).
- Os testes da carga viral fornecem conhecimentos, controlo e motivação aos utentes para que estes compreendam a sua infecção pelo VIH e adiram ao tratamento (43).
- Progressão da doença e a transmissão do VIH (44,45).



ADN do VIH versus ARN do VIH

O VIH é um vírus do ARN que compreende o ARN e proteínas. Durante o seu ciclo de replicação, o material genético do VIH existe tanto em forma de ARN como de ADN.

O ADN do VIH é o material genético do VIH que se encontra no interior das células do corpo infectadas pelo VIH. No sangue total, o ADN do VIH encontra-se principalmente no interior dos glóbulos brancos chamados de células CD4, que são uma parte importante do sistema imunitário. O VIH integra o seu ADN no ADN das células CD4 e, por isso, pode usar as células para fazer mais cópias de si próprio. Nesta forma, é conhecido como ADN pró-viral do VIH (46–48).

O ARN do VIH encontra-se, normalmente, no plasma, que é a parte do sangue total, depois de removidas todas as células. O sangue total é, normalmente, separado em plasma e seus componentes celulares, através da centrifugação do sangue. O VIH existe como vírus do ARN no plasma, antes de infectar as células, como ARN intracelular dentro das células, à medida que são feitas cópias do vírus e de novo no plasma, quando essas cópias do vírus são libertadas (6–8).

Quando o VIH é suprimido pela terapia antirretroviral, o ADN do VIH continua presente nas células e ocasionalmente como ARN intracelular, mas no plasma é detectado pouco ou nenhum ARN do VIH, uma vez que os medicamentos

impedem a replicação viral. Contudo, quando o VIH não é suprimido, a maior parte do ácido nucleico do VIH fica, normalmente, presente no plasma como ARN do VIH, com ARN intracelular adicional da replicação viral activa, ficando uma percentagem mais pequena presente no interior das células como ADN do VIH (7).

Como funcionam os testes da carga viral?

Os testes do ácido nucleico do VIH podem detectar tanto o ADN do VIH como o ARN que estão presentes numa amostra. Alguns testes foram concebidos para detectar preferencialmente o ADN ou o ARN, mas como o ADN e o ARN do VIH são cópias do mesmo material genético, também podem ser difíceis de distinguir. No entanto, os testes da carga viral destinam-se a medir a quantidade de ARN do VIH no plasma. O plasma é, portanto, o tipo de amostra ideal para os testes da carga viral; contudo, existem tipos alternativos de amostras e tecnologias para apoiar a expansão do acesso aos testes, incluindo gotas de sangue seco que são preparadas usando o sangue total (2,49). As amostras de gotas de sangue seco permitem tempos mais longos de armazenamento e transporte; todavia, o uso do sangue total resulta, muitas vezes, na detecção de ADN próviral do VIH, ARN intracelular e ARN livre de células. Em conjunto, isso pode resultar numa quantificação excessiva dos resultados da carga viral. A Tabela 3 explica as diferenças entre os dois principais componentes do sangue total (ADN e ARN) nos testes da carga viral do VIH.

Tabela 3. ADN e ARN do VIH no sangue total

	Blood: cellular portion	Blood: plasma portion
AND e ARN do VIH	Glóbulos brancos (como as células CD4): o ADN do VIH está contido no interior das células juntamente com cópias do VIH que contêm ARN do VIH durante a replicação do VIH. Também se descobriu que o VIH está associado às plaquetas, muito provavelmente à superfície das células, embora o vírus não se encontre no interior das plaquetas ou glóbulos vermelhos.	O ARN do VIH encontra-se no vírus livre do plasma. O ADN do VIH não deveria estar presente em quantidades significativas, embora se possam encontrar pequenas quantidades de ADN no plasma de células que se abriram ou que foram transferidas para o plasma por insuficiente separação do sangue total.
Tipo de amostra	O sangue total contém tanto a componente celular do sangue como o plasma. O sangue total contém tanto o ADN do VIH, como o ARN intracelular e ARN livre de células e tem sido usado para o diagnóstico pediátrico precoce do VIH e os testes de resistência do VIH aos medicamentos.	O plasma é o tipo de amostra ideal para os testes da carga viral, que pretende detectar o número de cópias de ARN do VIH por mililitro de plasma. Este também pode ser usado para o teste de resistência do VIH aos medicamentos, se estiver presente o ARN adequado do VIH (>400 cópias/ml).
Métodos de teste	O sangue total é analisado tanto na forma líquida como na de gota de sangue seco. O teste da carga viral que usa o sangue total poderá não ser rigoroso, se o teste detectar quantidades significativas de ADN do VIH e/ou ARN intracelular, além do ARN livre de células (plasma) que o teste deveria detectar.	O plasma é, normalmente, analisado na forma líquida mas pode também ser analisado a partir de uma gota de plasma seco.

Caixa 2. Tempo versus tecnologias para diagnosticar o VIH em bebés

A técnica baseada no ácido nucleico (qPCR) usada nos testes da carga viral é muito semelhante e, muitas vezes, a mesma, tanto para os testes pediátricos como para os testes qualitativos. O “DNA PCR” do VIH é um sinónimo geralmente usado para os testes de diagnóstico pediátrico do VIH. No entanto, é importante distinguir entre a tecnologia usada para os testes (tais como PCR versus teste de anticorpos do VIH) e o intervalo de tempo dos testes. O diagnóstico pediátrico precoce refere-se especificamente ao teste do ácido nucleico à nascença ou nos primeiros dois meses de vida, enquanto o diagnóstico pediátrico se refere aos testes efectuados durante o período de exposição, incluindo o teste de ácido nucleico aos nove meses.

O diagnóstico pediátrico é normalmente feito no sangue total, quer na forma líquida, quer em gota de sangue seco. Estes testes podem detectar o ADN do VIH, o ARN intracelular e o ARN livre de células. Isso não é um problema e até melhora a sensibilidade do teste, uma vez que a presença de material genético do VIH no sangue pode indicar infecção pelo VIH. Uma vez que tanto o ADN como o ARN do VIH estão presentes, o teste virológico ou o teste de amplificação do ácido nucleico do VIH são termos mais rigorosos para o PCR do bebé do que o PCR do ADN do VIH.

Caixa 3. Principal terminologia da carga viral

Carga viral suprimida: medições da carga viral abaixo de 1000 cópias/ml. Uma carga viral não suprimida ou elevada é uma medição acima de 1000 cópias/ml (2).

Carga viral indetectável: ausência de VIH detectado numa amostra de sangue através do teste da carga viral. A Tabela 4 mostra os limites de detecção dos testes da carga viral disponíveis no comércio viral.

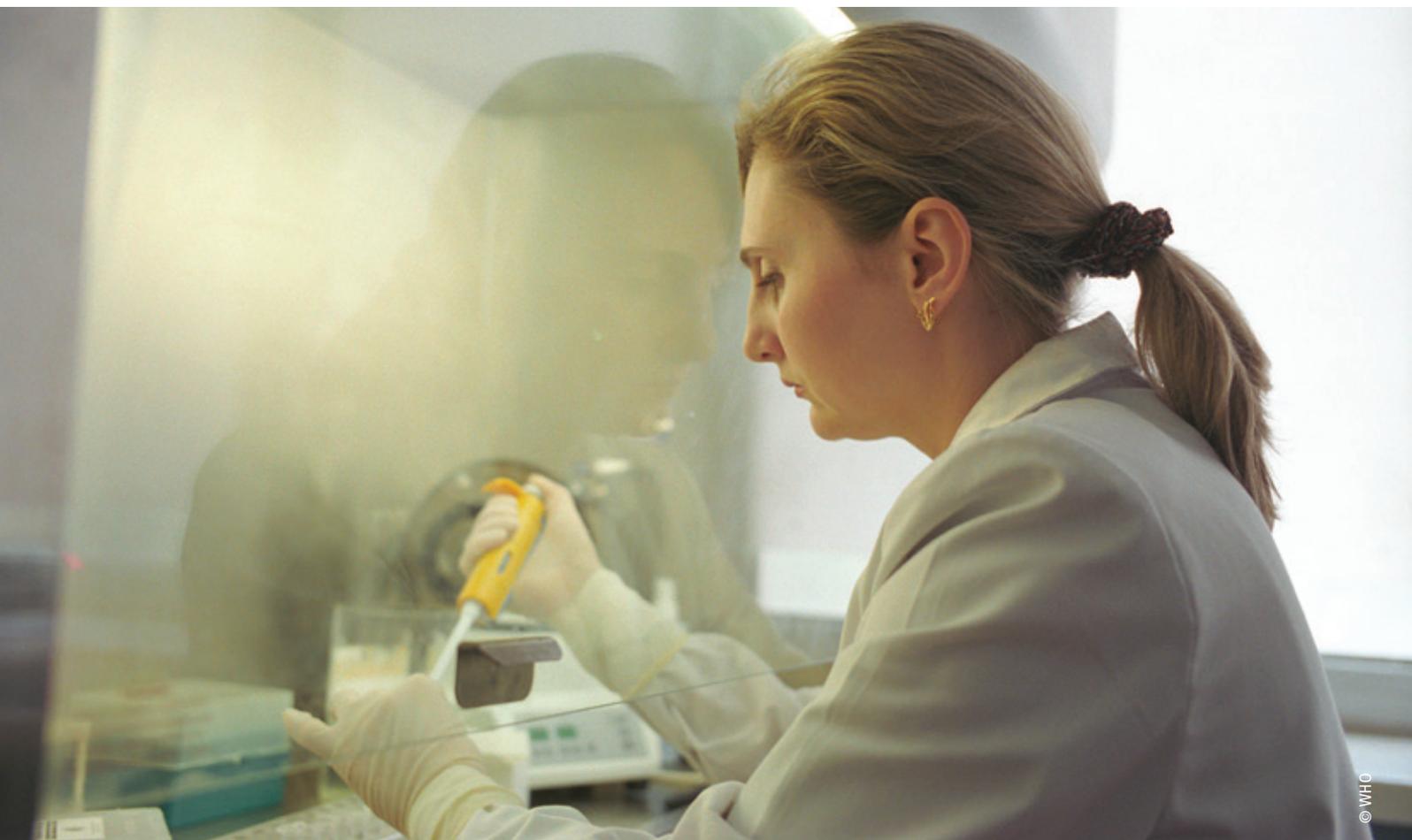


Tabela 4. Resumo dos testes da carga viral do VIH

Nome do fabricante e do teste	Tipo de amostra	Limite de detecção (cópias/mL)	Tempo máximo desde a colheita da amostra de sangue total até à separação do plasma	Aprovação da entidade reguladora	Teste de diagnóstico pediátrico precoce
Abbott: RealTime HIV-1 (20,21) ^{1,2}	Plasma DBS	40 839	24 h at 15–30°C, 48 h entre 2 et 8°C	CE, FDA, OMS CE, OMS	Disponível, teste separado
m-PIMA™ HIV-1/2 VL (22,23)	Plasma	800	48 h at 18–28°C	CE, OMS	Disponível, teste separado
Biocentric GENERIC HIV Charge Virale (24)	Plasma	390	24 h at 2–25°C	CE	Disponível, teste separado
bioMérieux NucliSENS EasyQ® HIV-1 v2.0 (25,26)	Plasma DBS	25 802	24 h entre 2–8°C	CE, OMS CE, OMS	N/D
Cavidi ExaVir™ Load (27)	Plasma	200	4–6 h, sem temperatura especificada	CE	N/D
Cepheid Xpert® HIV-1 Viral Load (28,29)	Plasma	40	8 h at 15–30°C, 24 h at 15–25°C, 72 h entre 2–8°C	CE, OMS	Disponível, teste separado
Hologic Aptima™ HIV-1 Quant Dx (30,31)	Plasma	30	24 h at 2–30°C	CE, FDA, OMS	Même test
Qiagen: artus® HI Virus-1 RG (32)	Plasma	60	6 h, sem temperatura especificada	CE	N/D
artus® HI Virus-1 QS-RGQ (33)	Plasma	45	6 h, sem temperatura especificada	CE	N/D
Roche: COBAS® AmpliPREP/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 (34,35)	Plasma PSC	20 738	24 h at 2–25°C	CE, FDA, OMS CE, OMS	Disponível, teste separado
cobas® HIV-1 for cobas® 4800 System (36)	Plasma PSC	20 599	24 h at 2–25°C	CE	Mesmo teste
cobas® HIV-1 for cobas® 6800/8800 Systems (37)	Plasma PSC	13.2 790	24h at 2–25°C	CE, FDA CE	Disponível, teste separado
Sacace HIV Real-™ Quant DX (38)	Plasma	48 IU/mL	12 h at 2–8°C	CE	N/D
Siemens VERSANT® HIV-1 RNA 1.5 (39)	Plasma	37	6 h at 15–25°C, 24 h at 2–8°C	CE	N/D

h: horas; CE: Conformidade Europeia, cumprindo os regulamentos da União Europeia; FDA: aprovação da Administração dos Estados Unidos para os Alimentos e Medicamentos; OMS: pré-qualificação da OMS do diagnóstico in vitro; DBS: gota de sangue seco; PSC: gota de plasma seco de um cartão de separação do plasma; N/D: actualmente não disponível; IU: unidades internacionais.

1 Abbott Laboratories (2014). Abbott RealTime HIV-1 Instructions for Use.

2 WHO Prequalification of Diagnostics Programme (2016). Public Report: Abbott RealTime HIV-1. Disponible à l'adresse suivante : https://www.who.int/diagnostics_laboratory/evaluations/pq-list/hiv-vrl/180423_amended_final_pqpr_0145_027_00_v11.pdf.

6. TIPOS ALTERNATIVOS DE AMOSTRAS E TECNOLOGIAS A CONSIDERAR QUANDO NÃO FOR POSSÍVEL USAR PLASMA LÍQUIDO DE MODO GENERALIZADO PARA OS TESTES DA CARGA VIRAL, DEVIDO A CONSTRANGIMENTOS COM INFRAESTRUTURAS, TRANSPORTES OU OUTROS INFRAESTRUTURAS, AU TRANSPORT OU AUTRES

6.1 TIPOS ALTERNATIVOS DE AMOSTRAS E TECNOLOGIAS: AMOSTRAS DE GOTA

Embora as amostras de plasma sejam as normais para os testes da carga viral, o seu uso é limitado pelas exigências de estabilidade da temperatura ambiente dos marcadores biológicos virais no sangue total e no plasma durante o armazenamento e transporte e a limitada disponibilidade de cadeias de frio entre muitas unidades de saúde nos locais com escassos recursos. As amostras de gotas de sangue seco para os testes do VIH estão bem estabelecidas em locais de recursos limitados e têm sido regularmente usadas para a colheita e transporte de amostras para o diagnóstico pediátrico do VIH, através de testes por PCR, em laboratórios centralizados. Essas amostras são benéficas, porque não exige centrifugas, frigoríficos ou congeladores no local da sua colheita, podem ser armazenadas e transportadas durante semanas à temperatura ambiente e requerem apenas uma simples picada no dedo ou no calcanhar para colher uma amostra de sangue, que pode ser preparada por quadros inferiores do pessoal das unidades de saúde. Benefícios semelhantes podem ser obtidos, usando amostras de gotas de sangue seco para os programas de teste da carga viral em

locais de recursos limitados. As condições necessárias para o armazenamento e transporte podem ser diferentes, quando se usam as amostras de sangue seco para os testes de resistência aos medicamentos.

As amostras de gotas de sangue seco para os testes da carga viral usando métodos de detecção baseados no ácido nucleico usam o sangue total como a amostra de entrada, o que pode resultar na extração e detecção de ADN pró-viral e ARN intracelular, além da meta do biomarcador primário do ARN viral livre que circula no plasma. Em conjunto, isto pode resultar numa quantificação excessiva do resultado da carga viral.

Têm sido limitados os progressos feitos na garantia da qualidade do uso de amostras de gotas de sangue seco nos testes da carga viral do VIH, através da aprovação das entidades reguladoras internacionais.

Aprovações da regulação e avaliações técnicas das amostras de gotas de sangue seco (os países consideram muitas vezes essas aprovações, quando compram ou seleccionam tecnologias de diagnóstico):



- **CE-IVD (Conformidade Europeia do diagnóstico in vitro):** duas tecnologias receberam CE- IVD para usarem amostras de gotas de sangue seco nos testes da carga viral: Abbott RealTime HIV- 1 e bioMérieux NucliSENS EasyQ® HIV-1; e
- **Pré-qualificação da OMS:** há duas tecnologias que cumpriram os requisitos da OMS: bioMérieux NucliSENS EasyQ® HIV-1, em Janeiro de 2017 e Abbott RealTime HIV-1 (21), em 24 de Agosto de 2017.

O limite de detecção do teste Abbott RealTime HIV-1 usando amostras de gotas de sangue seco é 839 cópias/ml (21).

Avaliações técnicas independentes: os resultados de 40 avaliações técnicas de amostras de gotas de sangue seco em mais de 25 países, examinando seis tecnologias de teste da carga viral disponíveis no mercado, foram incluídas numa meta-análise clínica abrangente, que resultou em mais de 10 000 pontos de dados emparelhados de gotas de sangue seco-plasma (Tabela 5) (50).

Recomendações da OMS

As orientações consolidadas da OMS de 2016 sobre o uso de antirretrovirais no tratamento e prevenção da infecção pelo VIH (2), recomendam que as amostras de gotas de sangue seco, usando sangue total venoso ou capilar, possam ser usadas para determinar a carga viral do VIH. Deve usar-se um limite de 1000 cópias/ml para determinar o insucesso do tratamento, quando se usam amostras de gotas de sangue seco, como está definido para os testes no plasma. Embora as amostras de plasma sejam as preferidas para os testes da carga viral, recomenda-se o uso de amostras de gotas de sangue seco nos locais em que os obstáculos logísticos, infraestruturais ou operacionais impedem uma monitorização regular da carga viral usando amostras de plasma.

Uso actual

As amostras de gotas de sangue seco constituem uma forma de melhorar a cobertura e o alcance dos testes da carga viral, quando a preparação e o transporte de amostras de plasma podem ser limitadas pelos requisitos da cadeia de frio ou os problemas de transporte. Há vários países que estão actualmente a usar amostras de gotas de sangue seco para permitir o acesso e reforço dos testes da carga viral. Em 2018, fizeram-se mais de 2 milhões de testes da carga viral usando amostras de gotas de sangue seco, em seis países com um pesado fardo de infecções pelo VIH. Além disso, alguns países começaram a implementar o uso de amostras de sangue seco nos testes da carga viral, usando os protocolos recomendados pelos fabricantes, apesar de a sua utilização não estar indicada no rótulo.

Conclusões

Existem evidências suficientes sobre o desempenho das amostras de gotas de sangue seco nos testes da carga viral que permitem apoiar uma rápida aprovação das entidades nacionais reguladoras e o início do reforço. Para além disso, não é provável que as avaliações técnicas destas tecnologias acrescentem algum valor, mas, pelo contrário, podem retardar a implementação e a monitorização do tratamento em devido tempo. Contudo, é essencial que os fornecedores procurem a aprovação dos reguladores e a pré-qualificação da OMS para esses tipos alternativos de amostras, em apoio ao reforço e acesso do país aos testes da carga viral.

Tabela 5. Síntese dos resultados da meta-análise das avaliações técnicas

Teste	Tamanho da amostra	Sensibilidade (95% CI) ^a	Especificidade (95% CI) ^a
Abbott RealTime HIV-1, one-spot ^b	700	88.26% (49.64–98.28)	99.07% (68.38–99.98)
Abbott RealTime HIV-1, two-spot	2004	93.13% (83.72–97.27)	91.11% (82.35–95.75)
Biocentric Generic HIV Charge Virale	531	94.86% (71.14–99.28)	55.16% (35.01–73.75)
bioMérieux NucliSENS EasyQ® HIV-1	1062	82.95% (78.38–86.71)	95.06% (89.29–97.80)
Hologic Aptima	382	87.52% (77.93–93.30)	87.18% (59.01–96.98)
Roche COBAS TaqMan HIV-1 Free Virus Elution	3076	94.77% (84.59–98.36)	93.93% (71.95–98.94)
Roche COBAS TaqMan HIV-1 SPEX	3190	98.23% (95.85–99.26)	48.49% (22.63–75.18)
Siemens VERSANT HIV-1 RNA	144	90.97% (69.20–97.83)	87.76% (75.28–94.41)

^a La Sensibilidade e especificidade usando um limiar de insucesso do tratamento de 1000 cópias/ml.

^b Como uma notificação da mudança, uma avaliação laboratorial de amostras de gotas de sangue seco usando o protocolo indicado pela CE não foi realizado no seio da análise de pré-qualificação da OMS.

6.2 TIPOS ALTERNATIVOS DE AMOSTRAS E TECNOLOGIAS: PLASMA AMOSTRAS DE GOTAS DE PLASMA SECO PARA OS TESTES DA CARGA VIRAL DO VIH

Uma outra alternativa ao uso de plasma líquido para os testes da carga viral são as amostras de gotas de plasma seco. Estas amostras usam o mesmo papel de filtro ou semelhante que as amostras de gota de sangue seco para o diagnóstico da carga viral ou pediátrico; contudo, com a aplicação do plasma em vez do sangue total, estão agora em desenvolvimento ou passaram a estar recentemente disponíveis no mercado cartões de separação do plasma e dispositivos simples, para apoiar a expansão dos testes da carga viral usando amostras de plasma.

As amostras de gotas de plasma seco para os testes do VIH são um tipo de amostra alternativo desenvolvido de modo semelhante às amostras bem conhecidas de gotas de sangue seco (sub-seção 6.1) que têm sido regularmente utilizadas para colher e transportar amostras para o diagnóstico pediátrico do VIH, que são submetidas a testes por PCR em laboratórios centralizados. Embora exijam centrifugação ou colheita do plasma para a colocação de gotas no cartão, podem ser armazenadas e transportadas durante semanas à temperatura ambiente.

Uma vantagem das amostras de gotas de plasma seco é que a separação e a utilização do plasma retira a detecção e quantificação do ARN intracelular e do ADN pró-viral muitas vezes observados com as amostras de sangue total; contudo, o menor volume de amostra analisada pode limitar uma comparabilidade perfeita com as amostras de plasma líquido.

Normalmente, o plasma preparado para amostras de gotas de plasma seco ou cartões ou dispositivos de separação do plasma deriva do sangue total colhido em tubos de EDTA ou tubos de preparação do plasma (ver sub-seção 6.3). Os fabricantes deverão, por isso, incluir um ou ambos os tipos de tubos nas suas recomendações para o uso pretendido e na documentação para aprovação das entidades reguladoras. A maioria dos testes da carga viral actualmente no mercado incluem um ou ambos os tipos de tubos.

Avaliações técnicas independentes: os resultados de 17 avaliações técnicas em 12 países e considerando quatro tecnologias disponíveis no mercado foram incluídos numa meta-análise abrangente, que resultou em quase 2000 pontos de dados emparelhados de gotas de plasma seco– plasma (Tabela 6) (50).

O desempenho das amostras de gotas de plasma seco em todas as tecnologias foi comparável ao uso do plasma líquido tradicional. Como previsto, desde que o tipo de amostra utilizada, o plasma, foi usado, observaram-se menos erros de classificação, tanto para cima como para baixo.

Recomendações da OMS

As orientações consolidadas da OMS de 2016 sobre o uso de antirretrovirais no tratamento e prevenção da infecção pelo VIH (2) recomendam a carga viral como abordagem ideal de monitorização para diagnosticar e confirmar o insucesso do tratamento e preferem as amostras de plasma para os testes da carga viral. Pode usar-se um limite de 1000 cópias/ml para determinar o insucesso do tratamento, quando se usa qualquer uma das amostras, incluindo as amostras de gotas de plasma seco, conforme definição para testes no plasma.

Uso actual

As amostras de gotas de plasma seco constituem uma forma de melhorar a cobertura e o alcance dos testes da carga viral, podendo o armazenamento e o transporte das amostras de plasma líquido ser limitados por requisitos da cadeia de frio ou problemas de transporte. No entanto, a preparação de amostras de gotas de plasma seco requer centrifugação, para separar o plasma do sangue total. Isso pode ser feito, quer no ponto da colheita da amostra, se possível, quer algumas horas após a colheita da amostra, consoante as orientações do fabricante, por um laboratório central ou regional.

Tabela 6. Síntese dos resultados da meta-análise da avaliação técnica

Teste	Tamanho da amostra	Sensibilidade (95% CI) ^a	Especificidade (95% CI) ^a
All technologies	1872	92.54% (87.85-95.52%)	95.15% (87.41-98.23%)
Abbott RealTime HIV-1	245	99.39% (95.78-99.91%)	85.37% (75.97-91.50%)
Biocentric Generic HIV Charge Virale	148	98.12% (56.78-99.95%)	75.00% (46.90-91.06%)
bioMérieux NucliSENS EasyQ [®] HIV-1	173	77.78% (53.53-91.40%)	99.35% (95.57-99.91%)
Roche COBAS TaqMan HIV-1	1077	93.05% (87.75-96.16%)	94.90% (78.59-98.95%)

^aSensibilidade especificidade usando um limite de insucesso do tratamento de 1000 cópias/ml.

Conclusões

Existem evidências suficientes sobre o desempenho das amostras de gotas de plasma seco nos testes da carga viral para apoiarem o início do reforço, se assim for desejado, no seio dos planos operacionais, para apoiar o reforço e o acesso do país aos testes da carga viral. Para além disso, não é provável que as avaliações técnicas destas tecnologias acrescentem algum valor, podendo, pelo contrário, retardar a implementação e a monitorização do tratamento em devido tempo. Contudo, a informação centrada na viabilidade e nas melhores práticas operacionais no uso de amostras de gotas de plasma seco no seio dos planos de reforço da carga viral tem sido limitada.

6.3 TIPOS ALTERNATIVOS DE AMOSTRAS E TECNOLOGIAS: TUBOS DE PREPARAÇÃO DO PLASMA PARA OS TESTES DA CARGA VIRAL DO VIH

A amostra de plasma padrão ideal para os testes da carga viral é, normalmente, colhida, usando sangue total num tubo (com tampa de cor lilás ou lavanda) de EDTA (anticoagulante de ácido etilenodiaminotetraacético). Como se refere na Secção 4, o sangue total em tubos de EDTA deve ser transportado e o plasma separado em 6–24 horas, conforme as indicações do fabricante. Isso pode ser restritivo para muitos países e unidades de saúde. Contudo, podem ser consideradas algumas amostras de plasma alternativas. Os tubos de preparação do plasma, assim como o plasma colhido em cartões, tais como gotas de plasma seco (subsecção 6.2) e os cartões de separação do plasma podem também ser considerados para apoiar o reforço.

Ao contrário dos tubos padrão de EDTA para a colheita de sangue, os tubos de preparação do plasma podem facilitar um manuseamento e um armazenamento mais simples do plasma para os testes baseados no ácido nucleico. Os tubos de preparação do plasma usam o mesmo anticoagulante EDTA, mas contêm um gel que separa o plasma dos glóbulos sanguíneos após a centrifugação. Depois de colhido o sangue, o tubo de preparação do plasma é centrifugado dentro das 24 horas aceitáveis e uma barreira de gel dentro do tubo de preparação do plasma separa o plasma do resto do sangue total, para que o plasma possa ser usado no teste da carga viral do VIH. O mesmo volume da amostra do plasma é usado para o teste da carga viral; por isso, os limites da detecção são, geralmente, sinónimos de plasma EDTA.

Aprovação regulatória dos tubos de preparação do plasma.

- **CE-IVD (Conformidade Europeia para o diagnóstico in vitro):** há sete tecnologias que receberam CE-IVD para utilização de tubos de preparação do plasma para os testes da carga viral: Abbott RealTime HIV-1, Cepheid Xpert® HIV-1 Viral Load, Hologic Aptima™ HIV-1 Quant Dx, Roche COBAS® AmpliPREP/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0, Roche cobas® HIV-1 for cobas® 4800, Roche cobas® HIV-1 for cobas® 6800/8800 e Siemens VERSANT® HIV-1 RNA 1.5.

- **Pré-qualificação da OMS:** há quatro tecnologias que cumpriram os requisitos da OMS: Abbott RealTime HIV-1, Cepheid Xpert® HIV-1 Viral Load, Hologic Aptima™ HIV-1 Quant Dx and Roche COBAS® AmpliPREP/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0.
- **FDA (Administração dos Estados Unidos para os Alimentos e Medicamentos):** há quatro tecnologias que receberam aprovação da FDA para utilização de tubos de preparação do plasma nos testes da carga viral: Abbott RealTime HIV-1, Hologic Aptima™ HIV-1 Quant Dx, Roche COBAS® AmpliPREP/COBAS® TaqMan® HIV-1.

Revisão sistemática e melhores práticas: efectuou-se uma revisão sistemática para examinar o rigor dos tubos de preparação do plasma para os testes da carga viral do VIH. Essa revisão identificou 16 estudos revistos por pares e que foram publicados entre 1995 e 2014, comparando os tubos de preparação do plasma com os tubos padrão EDTA para colheita de sangue, com vista a testes da carga viral do VIH em ensaios aprovados por uma exigente autoridade reguladora.

Embora os primeiros estudos demonstrassem que os tubos de preparação do plasma podiam ser utilizados sem qualquer diferença significativa nos resultados da carga viral (51–54), estudos posteriores revelaram cargas virais elevadas em tubos de preparação de plasma, especialmente em cargas virais inferiores a 5000 cópias/ml (55–57). O aumento dos resultados da carga viral é provavelmente explicado pela fuga de ácidos nucleicos do VIH, tais como ADN pró-viral do VIH e ARN intracelular presentes nos componentes celulares do sangue total, que retornavam para o plasma através da barreira de gel. Outros estudos demonstraram que este problema pode ser resolvido, quer com alíquotas do plasma para um segundo tubo, rapidamente depois da centrifugação inicial (58–60), quer repetindo a centrifugação depois do transporte dos tubos de preparação do plasma para o laboratório, antes das alíquotas e dos testes (61,62).

Quatro estudos publicados avaliaram os tubos de preparação do plasma nos testes da carga viral actualmente disponíveis (Abbott RealTime HIV-1 and Roche COBA AmpliPREP/COBAS TaqMan HIV-1 Test, v2.0) (63–66). Os três estudos que usaram o ensaio da carga viral de Abbott não revelaram qualquer alteração significativa nos resultados da carga viral, independentemente de os tubos de preparação do plasma terem sido congelados e descongelados ou transportados após a centrifugação inicial e antes dos testes. Os três estudos que usaram um ensaio Roche revelaram resultados elevados da carga viral, se os tubos de preparação do plasma tivessem sido congelados ou transportados sem uma segunda centrifugação antes do teste. Estes resultados da carga viral encontravam-se entre zero e vários milhares de cópias/ml mais elevadas do que no plasma preparado num tubo padrão de colheita de EDTA, com a diferença mais notória nas cargas virais do plasma inferiores a 1000 cópias/ml. Consequentemente, as instruções do fabricante recomendam uma fase de centrifugação adicional, antes do teste com o ensaio Roche. Tanto para os ensaios Abbott como Roche, introduzir alíquotas ao plasma num tubo secundário após a centrifugação inicial também garante resultados rigorosos da carga viral (Tabela 7).

Tabela 7. Métodos de manuseamento publicados para os tubos de preparação de plasma disponíveis no mercado e testes da carga viral

Produtos	Métodos publicados de manuseio de tubos de preparação de plasma que fornecem resultados precisos de carga viral
Abbott RealTime HIV-1 (63–65)	<ul style="list-style-type: none"> • Alíquotas de plasma num novo tubo, após centrifugação inicial. • Congelação dos tubos de preparação de plasma a -20°C após centrifugação inicial e descongelação antes do teste, sem necessidade de outra fase de centrifugação • Transporte dos tubos de preparação do plasma, após centrifugação inicial, entre os locais, antes do teste, sem necessidade de outra fase de centrifugação
Roche COBAS® AmpliPREP/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 (64–66)	<ul style="list-style-type: none"> • Alíquotas de plasma num novo tubo, após centrifugação inicial • Repetição da centrifugação, após transporte ou congelação dos tubos de preparação do plasma, para garantir a completa separação dos componentes das células e do plasma do sangue antes do teste. <p>Nota: Na ausência de centrifugação repetida após congelação e descongelação dos tubos de preparação do plasma ou depois do seu transporte, observou-se que alguns resultados da carga viral eram erroneamente elevados. Não é necessário repetir a centrifugação, se o plasma já tiver sido distribuído por alíquotas num novo tubo, antes da congelação ou transporte.</p>
BD Vacutainer® PPT™ (67)	<ul style="list-style-type: none"> • Centrifugar durante, pelo menos, 10 minutos a $1100 \times g$ à temperatura ambiente, dentro de 6 horas após a colheita do sangue total, para preparar o plasma. • Seguir as instruções de armazenamento e transporte do fabricante: normalmente, os tubos de preparação do plasma podem ser armazenados à temperatura ambiente durante um dia ou refrigerados a 4°C até cinco dias; se se pretender um armazenamento mais longo, o plasma terá de ser congelado.

Todos os estudos avaliaram apenas BD Vacutainer® PPTM. Existem outros tubos de preparação do plasma (também referidos como EDTA, com tubos de gel separados: Grenier (68) ou TUD (69); contudo, não foram publicados quaisquer estudos. Além disso, outros testes da carga viral aprovados pelo regulador e/ou préqualificados pela OMS (tais como Cepheid Xpert HIV-1 e Hologic Aptima HIV-1 Quant Dx), que incluem tubos de preparação de plasma nas suas instruções de utilização, não fornecem quaisquer outras orientações específicas sobre o modo de utilização (Tabela 8).

Conclusões

Os tubos de preparação de plasma permitem que este seja preparado, armazenado e transportado no mesmo tubo usado para colher sangue total venoso. Os tubos de preparação de plasma fornecem resultados da carga viral equivalentes aos do plasma dos tubos EDTA padrão, se forem cumpridas as instruções e orientações de manuseamento do fabricante contidas em estudos independentes publicados. Está provado que a centrifugação dos tubos de preparação do plasma e/ou a introdução de alíquotas de plasma num tubo separado, antes do teste da carga viral, evita resultados da carga viral artificialmente elevados. Contudo, nem todos os testes da carga viral têm instruções claras ou avaliações de pares publicadas sobre o seu uso de tubos de preparação de plasma e são necessárias centrifugas (e capacidades associadas) no ponto de colheita das amostras.

O uso de tubos de preparação de plasma poderá ser considerado nos locais em que a preparação mais simples do plasma, a redução do risco de contaminação cruzada e a necessidade de tempos de transporte mais alargados possam facilitar o reforço dos testes da carga viral.

6.4 TIPOS ALTERNATIVOS DE AMOSTRAS E TECNOLOGIAS: FERRAMENTAS NOS PONTOS DE CUIDADOS OU NA SUA PROXIMIDADE PARA OS TESTES DA CARGA VIRAL DO VIH

As tecnologias desenvolvidas para utilização nos pontos de cuidados ou perto deles podem também ser consideradas para os testes da carga viral. Essas tecnologias podem ser descentralizadas e usadas nos pontos de cuidados. As tecnologias nos pontos de cuidados não exigem corrente eléctrica

Tabela 8. Vantagens e desvantagens associadas aos tubos de preparação do plasma

Vantagens	Desvantagens
<ul style="list-style-type: none"> • Mitar tempos mais longos de transporte até ao laboratório em passos no manuseamento das amostras do que com os tubos EDTA padrão • Menor risco de contaminação das amostras e de erros laboratoriais, se o plasma não for introduzido em alíquotas num novo tubo • Capacidade para armazenar plasma durante períodos de tempo mais longos do que o sangue total não centrifugado, o que pode facilitar 	<ul style="list-style-type: none"> • Custo mais elevado dos tubos de preparação do plasma do que os tubos EDTA padrão • Complexidades programáticas envolvendo a logística da cadeia de abastecimento, formação do pessoal e a devida implementação dos tubos de preparação do plasma • São necessárias centrifugadoras no local para separação imediata do plasma • A amostragem primária nos tubos nem sempre é possível • Os resultados da carga viral poderão não ser rigorosos, se não forem cumpridas as instruções específicas do fabricante: por exemplo, pode ser necessária a repetição da centrifugação antes do teste • A junção das amostras está actualmente indisponível



estável, salas de temperatura controlada, nem calibração regular, são relativamente fáceis de usar, são automatizadas, têm poucas ou nenhuma exigências de produtos de partes terceiras e podem ser operadas por profissionais não laboratoriais. As tecnologias próximas dos pontos de cuidados são semelhantes mas podem exigir o uso de electricidade estável e/ou salas de temperatura controlada. Além disso, a maioria das tecnologias actualmente disponíveis requer amostras de plasma.

Têm sido feitos progressos significativos na garantia da qualidade das novas tecnologias para a carga viral nos pontos de cuidados.

Aprovações dos reguladores e avaliações técnicas da carga viral nos pontos de cuidados ou na sua proximidade (os países consideram, muitas vezes, estas aprovações, quando compram ou seleccionam tecnologias de diagnóstico):

- **CE-IVD (Conformidade Europeia do diagnóstico in vitro):** quatro tecnologias receberam CE-IVD: Abbott™ m-PIMA HIV-1/2 VL, Cepheid Xpert® HIV-1 Viral Load and Diagnostics for the Real World's SAMBA I HIV-1 Semi-Quantitative Plasma Test e SAMBA II HIV-1 Semi-Quantitative Plasma Test; e
- **Pré-qualificação da OMS:** duas tecnologias cumpriram os requisitos da OMS: Abbott™ m-PIMA HIV-1/2 VL VL (23) e Cepheid Xpert® HIV-1 Viral Load (29)¹, receberam a pré-qualificação da OMS, respectivamente, em 8 de Abril de 2019 e 20 de Julho de 2017.

O teste Abbott™ m-PIMA HIV-1/2 VL requer 50 µl de plasma EDTA venoso e pode detectar os grupos M, N e O do VIH-1 e VIH-2. O limite da detecção é 800 cópias/ml (23).

O teste Cepheid Xpert® HIV-1 Viral Load requer 1 ml de plasma (pode ser derivado de tubos de amostra de sangue ACD, EDTA ou PPT-EDTA) e pode detectar os grupos M, N e O do VIH-1. O limite de detecção é 40 cópias/ml (29).

Estão disponíveis outras especificações destes testes e produtos em desenvolvimento (10,70).

Avaliações técnicas independentes: os resultados de 13 avaliações técnicas no terreno do teste da carga viral Cepheid Xpert® HIV-1 foram consolidados em 11 países numa meta-análise (Tabela 9) (71).

Considerações

Em 2019, a OMS não tinha recomendações para a consideração de tecnologias da carga viral nos pontos de cuidados; contudo, essa situação será revista em 2020. Considerando alguns dos desafios do reforço dos testes da carga viral, tanto clínica como logisticamente, os testes da carga viral nos pontos de cuidados pode facilitar um maior acesso à carga viral, entregar mais rapidamente os resultados aos clínicos e doentes e acelerar a tomada de decisões através de testes realizados no próprio dia.

Além disso, várias tecnologias nos pontos de cuidados também são polivalentes, ou são tecnologias para várias doenças, capazes de testar diferentes condições, usando testes para doenças específicas na mesma plataforma. Uma presença significativa dos dispositivos existentes pode permitir a integração dos programas e dos diagnósticos de modo a expandir o acesso aos testes da carga viral (73).

Tabela 9. Síntese dos resultados da pré-qualificação da OMS e avaliações técnicas independentes

Teste	Avaliador	Tipo de amostra	Tamanho da amostra	Sensibilidade (95% CI) ^a	Especificidade (95% CI) ^a
Abbott™ m-PIMA HIV-1/2 VL ^b	Pré-qualificação da OMS/ Centros dos EUA para o Controlo e Prevenção das Doenças	Plasma	421	95.1% (91.7–97.5%) (23)	99.4% (96.8–99.9%) (23)
Cepheid Xpert® HIV-1 Viral Load	Pré-qualificação da OMS/ Centros dos EUA para o Controlo e Prevenção das Doenças	Plasma	439	94.14% (90.37–96.76%) (29)	98.50% (95.68–99.69%) (29)
	Meta-análise	Plasma	3790	96.47% (95.10–97.47%) (72)	96.59% (92.90–98.39%) (72)

^a Sensibilidade e especificidade usando um limiar de insucesso do tratamento de 1000 cópias/ml.

^b Não foi ainda preparada uma meta-análise devido à falta de avaliações técnicas independentes publicadas..

Conclusões

Existem evidências suficientes sobre o desempenho de alguns testes da carga viral nos pontos de cuidados para apoiar uma rápida aprovação dos reguladores nacionais e o início do reforço. Outras avaliações técnicas dessas tecnologias não deverão representar uma mais valia, mas, pelo contrário, retardar a implementação.

Estão em curso estudos sobre o impacto no tratamento e cuidados aos doentes, a viabilidade operacional, a aceitabilidade e a relação custo-eficácia. No entanto, os países terão de determinar individualmente a importância contextual, a utilidade e a amplitude dos testes da carga viral nos pontos de cuidados, no âmbito das suas redes de cuidados e diagnóstico.

Caixa 4. Estabelecer prioridades para os testes da carga viral

Há vários grupos populacionais que podem ser considerados e receber prioridade para os testes da carga viral nos pontos de cuidados, quando os volumes globais podem sobrecarregar essas tecnologias.

- As mulheres grávidas e lactantes, especialmente quando estão próximas do parto, podem beneficiar com a entrega mais rápida dos resultados e da tomada de decisões, para evitar a transmissão da mãe para o filho.
- Os bebés e outras crianças que vivem com o VIH, que, normalmente, estão em maior risco de insucesso do tratamento e resistência aos medicamentos, devido à sua exposição à terapia antirretroviral materna e profilaxia pós-natal, podem também beneficiar com a entrega mais rápida dos resultados e uma monitorização mais atenta do tratamento.
- Além disso, as pessoas que recomeçam os cuidados, aquelas em que há suspeita de insucesso do tratamento e as que têm doença avançada pelo VIH podem beneficiar com a entrega mais rápida dos resultados e da tomada de decisões clínicas.

7. INTERVENÇÕES OPERACIONAIS E CONSIDERAÇÕES SOBRE O REFORÇO DOS TESTES DA CARGA VIRAL E DO DIAGNÓSTICO PEDIÁTRICO

7.1 OPÇÕES DE TRANSPORTE DAS AMOSTRAS PARA DIAGNÓSTICO BASEADO NO ÁCIDO NUCLEICO

Os laboratórios e as capacidades para efectuar testes no seio de uma rede de diagnóstico não estão localmente presentes em todas as unidades de saúde a que os doentes recorrem. Os testes e análises normalmente oferecidas nos laboratórios centralizados são fundamentais para tratar as pessoas que vivem com o VIH, nomeadamente a oferta de testes da carga viral e do diagnóstico pediátrico precoce do VIH, mas o acesso a esses serviços pode revelar-se um desafio. Os testes nos pontos de cuidados ou na sua proximidade podem ser uma solução para superar as limitações da rede de laboratórios (ver subsecção 6.4), incluindo a entrega dos resultados no próprio dia. Contudo, os testes nos pontos de cuidados não estão disponíveis em todas as unidades ou podem não ter uma boa relação custo-eficácia nas unidades de saúde com poucos doentes.

Quando os testes não estão disponíveis no local, os sistemas de transferência das amostras podem proporcionar o acesso à rede de diagnóstico, enviando as amostras da unidade que as colheu (também conhecida como unidade requisitante) para uma unidade com a necessária capacidade (o laboratório de testes ou de referência). Tipos de amostras alternativos, tais como amostras de gotas de sangue seco, podem igualmente ser usadas para facilitar mais o acesso. Transferir as amostras significa um alívio para as pessoas que vivem com o VIH e teriam de viajar até ao laboratório, para fazerem os testes. Desta forma, a rede de transferência de amostras alarga o alcance e a cobertura da rede de diagnóstico. O mesmo sistema de transferir amostras também é, muitas vezes, usado para devolver os resultados em papel, os quais podem ser enviados, mesmo que esses resultados estejam informatizados.

Vários sistemas de transferência de amostras podem ser encontrados em vários níveis de um sistema de saúde hierarquizado, em diferentes regiões de um país e nos programas relativos às doenças. Em conjunto, estes sistemas devem ser harmonizados, interligados e eficientemente coordenados para constituir a rede global de transferência de amostras, que, por sua vez, é uma parte vital de uma rede de diagnóstico. Um sistema ou rede de transferência de amostras tem cinco objectivos (Caixa 5).

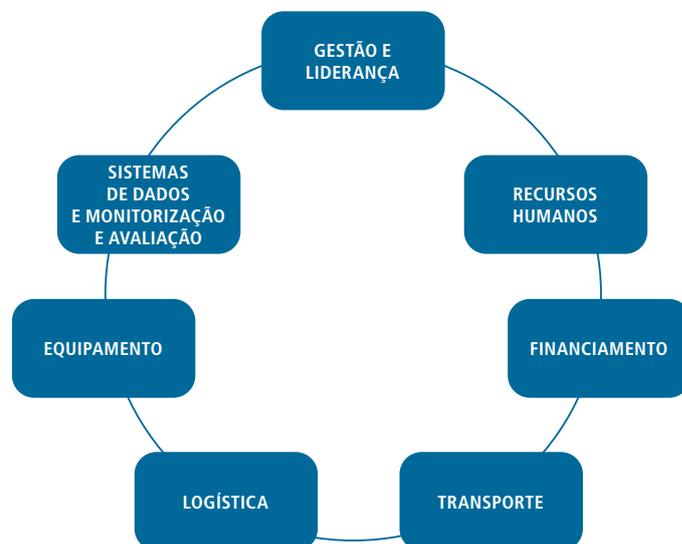
Um sistema de transferência de amostras compreende várias componentes, que são cruciais para garantir um sistema bem sucedido e eficiente (Fig. 8):

- Gestão e liderança – idealmente, alguém do ministério da saúde deverá supervisionar a rede global de transferência, garantir que ela apoia as necessidades da rede de diagnóstico e procurar os recursos necessários em toda a rede;

Caixa 5. Os cinco principais objectivos de um sistema de transferência de amostras

- Contribuir para o aumento do acesso ao diagnóstico onde não existam serviços no local, transferindo as amostras para um laboratório de testes
- Manter e melhorar a qualidade das amostras enviadas ao laboratório de testes, gestão adequada das amostras em trânsito, incluindo a necessidade de uma cadeia de frio
- Garantir a segurança de todos os indivíduos e do ambiente durante a transferência das amostras, através de uma gestão adequada em trânsito, incluindo o acondicionamento e o manuseamento
- Cumprir os requisitos de tempo que a amostra deve levar até chegar ao laboratório e o tempo de entrega dos resultados em papel à unidade, aos clínicos, aos doentes e ficheiros necessários
- Melhorar a relação custo-eficácia da rede de diagnóstico, através da harmonização e coordenação de diagnóstico en assurant l'harmonisation et la coordination des procédures

Fig. 8. Componentes que garantem um sistema de transferência de amostras bem sucedido e eficiente



- Recursos humanos – são os funcionários das unidades requisitantes, laboratórios de referência, equipas de saúde regionais, transportadores, etc., que estão envolvidos em todo o processo de transferência e devolução dos resultados;
- Financiamento – os fundos necessários para a rede global de transferência, englobando todos os aspectos da rede, assim como os tipos de amostras e áreas de doenças;
- Transporte – inclui o tipo de veículo (mota ou carro) e o prestador de serviços (correio expresso ou parceiro clínico da implementação) e as respectivas combinações ideais para servir todas as unidades, consoante as necessidades;
- Logística – inclui todo o sistema logístico, nomeadamente o calendário e a rota, e depende de vários factores, tais como os requisitos de tempo para tratar as amostras e devolver os resultados;
- Equipamento – os materiais de acondicionamento necessários que contribuem para a qualidade e biossegurança da amostra durante a transferência; e
- Sistemas de dados e monitorização e avaliação – sistemas para recolher dados, analisá-los e usar a análise para a tomada de decisões e melhoria contínua da qualidade.

Três componentes essenciais do sistema de transferência de amostras podem ser problemáticas e exigir consideração e atenção adicionais: transporte, logística e sistemas de dados e monitorização e avaliação.

A estrutura dos sistemas de transporte e logística está intimamente relacionada e pode ou não ser gerida pela mesma organização ou empresa. Embora essas componentes sejam apenas duas em todo o sistema, requerem conhecimentos técnicos adicionais que, normalmente, não são uma capacidade essencial do pessoal das unidades de saúde ou dos laboratórios. Três considerações para estas importantes componentes são:

- **Tipo de veículo.** O tipo de veículo usado depende dos recursos, distâncias, terreno e capacidade de carga. Se os sistemas de transporte e logística forem externalizados, será, provavelmente, o prestador de serviços que decidirá o tipo de veículo. Alguns exemplos são (ordenados da prevalência mais alta para a mais baixa): motocicletas, veículos de quatro rodas, bicicletas, barcos, cavalos, a pé, aeronaves e veículos aéreos não tripulados (também conhecidos como drones). As principais considerações ao escolher o tipo de veículo incluem:
 - Tipo de amostras (amostras de gotas de sangue seco, sangue total, plasma, etc.) e requisitos para os testes (cadeia de frio ou amostras de doenças altamente contagiosas para teste podem exigir embalagens adicionais, que podem não caber nem ser adequadas para certos tipos de veículos, como os drones);
 - Nível ou escalão do sistema usado, distância percorrida e tipo de terreno; e
 - Procura e volumes nas unidades requisitantes para compreender a capacidade de carga necessária.

- **Prestador de serviços de transporte.** O prestador de serviços, que pode ser o ministério da saúde, um parceiro da implementação ou uma empresa privada, é aquele que opera o transporte e, normalmente emprega os operadores do veículo. Ao escolher um prestador de serviços, há que ter em consideração o seguinte:
 - Pagamento ao prestador e sustentabilidade do sistema;
 - Disponibilidade de transportadores locais do sector privado ou prestadores de logística de partes terceiras, tais como Riders for Health, DHL, G4S ou o serviço postal nacional, e a capacidade para fazer contratos com um prestador de logística de parte terceira;
 - Que entidade gere, detém e opera os veículos: propriedade da unidades de saúde versus fornecidos à unidade através do ministério da saúde ou veículos pertencentes ao governo, parceiros ou empresa privada;
 - Que entidade gere e emprega os operadores do veículo (motociclista, motorista, etc.);
 - Amostras acompanhadas por uma pessoa durante o transporte; e
 - Reservar o sistema apenas para o transporte de amostras e resultados: veículos como ambulâncias, cuja missão principal não é o transporte de amostras, não devem ser o único meio de transporte de amostras disponível e utilizado.
- **Logística, calendário e rota.** No fundo, um sistema de transferência de amostras é um sistema logístico. As amostras tem de ser deslocadas fisicamente desde o ponto de colheita até aos locais ou centros de teste de diagnóstico de primeira linha e, depois, possivelmente, para locais de teste especializados, e os resultados devolvidos. As principais considerações sobre logística incluem o seguinte:
 - As unidades de saúde, pontos de colheita, centros e laboratórios de referência devem ser mapeados usando códigos geográficos. Em seguida, as actuais necessidades de transferência, ligações e vias para cada tipo de amostra devem ser mapeados, com base nos algoritmos e capacidade de teste e entre cada nível ou escalão relevante do sistema de saúde, incluindo a comunidade ou o nível do posto de saúde, se considerado. O exercício de mapeamento deve ser feito, quando a rede global de diagnóstico muda, designadamente se houver descentralização do equipamento ou integração.
 - Considerar se é necessário ter um calendário fixo para a recolha das amostras e a devolução dos resultados versus serviços a pedido.
 - A frequência das recolhas deve basear-se no volume e necessidades dos doentes, colheita de amostras, tipo de amostra, estabilidade da amostra e capacidade das máquinas do laboratório de teste. Por exemplo, as amostras de sangue total e plasma requerem transporte e armazenamento rápidos no mesmo dia à temperatura correcta.



Caixa 6. Considerações para os sistemas de dados e monitorização e avaliação

Esta é uma componente crucial para os sistemas e para a rede, mas, muitas vezes, é frágil e subestimada. É necessário um quadro normalizado de monitorização e avaliação do transporte das amostras, para avaliar e comparar o desempenho dos sistemas, os quais, muitas vezes, se encontram fragmentados. As principais considerações sobre esta componente são as seguintes:

- O quadro de monitorização e avaliação e os indicadores normalizados devem basear-se nos cinco objectivos de um sistema de transferência de amostras (Caixa 5) e ser incluídos nas orientações nacionais sobre essa transferência.
- Devem existir ou ser introduzidos instrumentos de recolha de dados, incluindo registos e diários, formulários da cadeia de custódia (anotando cada vez que uma amostra ou resultado muda de mãos), registo do transporte, formulários de notificação, questões incluídas nas listas de verificação da supervisão, etc.
- Os indicadores podem ser ambiciosos, mas quando a rede de transporte de amostras e os sistemas de dados necessários estiverem instituídos, deve ser avaliada a viabilidade de recolher cada um deles.
- Os processos de notificação devem ser sublinhados e devem ser usados mecanismos de feedback.
- É importante estabelecer o tempo de devolução dos resultados, incluindo cada passo dado desde a colheita da amostra no doente até ao momento em que o resultado é registado na sua ficha.
- É preciso ter em atenção a melhoria contínua da qualidade, incluindo as medidas correctivas.

- Num sistema de pontos de trânsito e partida (hub-and-spoke), o ponto de trânsito pode ser uma unidade de testes e/ou uma unidade para consolidar e armazenar amostras que vão a caminho de um nível superior, em vez de irem de ponto a ponto, isto é, directamente da unidade requisitante para o laboratório de referência, sem consolidação num ponto de trânsito intermédio. Para um teste da carga viral que use amostras de plasma, deve ser criado um ponto de trânsito que esteja equipado com frigoríficos, congeladores e centrífugas, para processar amostras e garantir a sua integridade.
- Considerar a capacidade da unidade ou centro requisitante para preparar e armazenar amostras.
- Estudar a possibilidade de reconsiderar as fronteiras administrativas, se isso for mais eficiente do ponto de vista logístico: decidir se a amostra poderá ser enviada para um laboratório de uma região administrativa diferente, se esta estiver mais próxima do que o laboratório pré-indicado.
- O sistema pode ser integrado com outros tipos de amostras?
- A entrega de resultados em papel está contemplada, caso seja necessário?
- Qual é o tempo-limite para a recepção das amostras (momento em que as amostras devem chegar ao centro, para continuação do processamento ou armazenamento, ou ao laboratório) e o tempo mais rápido de chegada e recolha nas unidades requisitantes?
- Em relação aos veículos (não dedicados), os horários devem ser cuidadosamente planeados para não perturbar outras actividades.

Melhores práticas. Embora haja muitas formas de planear, implementar e monitorizar um sistema de transferência de amostras, os países estão presentemente a adoptar as principais melhores práticas, incluindo as seguintes:

- Gestão: o ministério da saúde deve liderar, coordenar e supervisionar a rede global de transferência de amostras, independentemente do mecanismo de transporte usado ou do financiamento.
- Para a transferência de amostras são desenvolvidas orientações nacionais, bem como um manual laboratorial que descreve os procedimentos individuais para a colheita, acondicionamento, armazenamento e transporte, consoante o tipo de amostra e o teste requisitado.
- Monitorização: um quadro robusto de monitorização e avaliação deve incluir indicadores normalizados.
- Estratégia das redes: o planeamento da rede de transferência das amostras deverá ser feito no seio da rede de diagnóstico e optimizado periodicamente para melhorar a eficiência e os custos.

- Os tipos de amostras devem ser integrados nas actividades dos programas das doenças, quando tal for possível e logisticamente eficiente.
- Os procedimentos de transporte e transferência devem estar bem documentados para cada tipo de amostra e todo o pessoal de todos os níveis deverá receber formação apropriada, incluindo: colheita de amostras, armazenamento, documentação, acondicionamento e expedição, transporte, recebimento da amostra, transporte e recebimento dos resultados.
- Biossegurança e qualidade: fornecer equipamento de protecção individual apropriado, material estanque apropriado para acondicionamento, incluindo contentores seguros, conforme necessário, para cada tipo de amostra.

Integração. A rede de diagnóstico pode ser integrada para usar um sistema e rede de transferência de amostras para vários tipos de amostras ou programas de doenças. Neste caso, é mais fácil e mais eficiente fazer a integração a partir da unidade requisitante para o primeiro ponto de transferência ou local do diagnóstico de primeira linha. A rede nacional global de transferência de amostras deve ser sempre totalmente integrada, o que significa que deve tratar todos os tipos de amostras e doenças. Contudo, o transporte e a logística necessários para conseguir essa integração poderá exigir que se incorporem alguns sistemas separados para certos testes ou amostras, com base na rota e/ou local dos laboratórios, e requisitos de gestão das amostras. Por exemplo, o teste laboratorial do VIH baseado no ácido nucleico poderá diferir da cultura laboratorial para a tuberculose e, portanto, poderão ser necessárias rotas e logísticas separadas para aspectos específicos das redes de transporte de amostras. Para além disso, conforme o tipo da amostra e outros factores, os mecanismos de transporte usados em cada rota podem ser diferentes. Por exemplo, para amostras que requeiram transporte muito rápido, transporte no próprio dia ou que requeiram controlo da temperatura, os transportes públicos sem horários certos nem controlo de temperatura podem não ser apropriados. Se houver investigação de um surto, as amostras poderão não conseguir esperar para usar o mecanismo de transporte de rotina.

Caixa 7. Hiperligações para ferramentas e recursos para a transferência de amostras

- Global Laboratory Initiative (GLI) Specimen Referral Toolkit. Geneva: Stop TB Partnership; 2019 (<http://www.stoptb.org/wg/gli/srt.asp>).
- GLI guide to TB specimen referral systems and integrated networks. Geneva: Stop TB Partnership; 2019 (http://www.stoptb.org/wg/gli/assets/documents/GLI_Guide_specimens_web_ready.pdf).
- Guidance for developing a specimen transport and referral system for viral load and infant virologic HIV diagnosis testing networks. Addis Ababa: African Society for Laboratory Medicine; 2015 (<http://www.aslm.org/?wpdmdl=18275>).

Tabela 10. Opções para seleccionar prestadores de serviços de transporte e logística

	Tipo ou exemplo	Benefícios	Desafios	Casos de melhor uso
Auto-gerido e operado directamente pelo ministério da saúde ou por um parceiro clínico da implementação; todos eles podem facilmente transportar os resultados ou outro material, sem qualquer custo adicional	Sistema dedicado de correio urgente do ministério da saúde	Provável partilha dos recursos do ministério da saúde, como o pessoal, para operar e gerir o sistema, poupando assim nos custos totais envolvidos	De modo geral, o ministério da saúde não tem especialistas em transportes e logística	Usado em países com grande volume de transferências, caso em que a externalização é difícil e a capacidade do ministério para gerir uma rede complexa de transporte e logística é elevada
	Sistema dedicado de correio urgente operado por parceiros	Partilha de alguns recursos de parceiros, tais como o pessoal, para operar e gerir o sistema, poupando assim nos custos totais envolvidos	De modo geral, o ministério da saúde não tem especialistas em transportes e logística – para operar esses sistemas é necessário contratar pessoas especializadas só para esse sistema, o que não é economicamente favorável	Usado em países com grande volume de transferências, caso em que a externalização é difícil e a capacidade do ministério para gerir uma rede complexa de transporte e logística é baixa
	Transporte em mão por pessoal da unidade	Muitas vezes, executados pelo pessoal de laboratório, para se compreender bem a questão da biossegurança e controlo da qualidade	Retira os poucos recursos humanos da unidade de saúde e afasta-os das suas principais funções; mais dispendioso do que enviar só uma encomenda	Usado quando o volume de transferência de amostras é muito baixo e errático
	Uso de veículos não dedicados do ministério da saúde	Usado pelos responsáveis dos programas para efectuarem visitas de supervisão e para entregar materiais e produtos. Alguns programas também têm utilizado os veículos para transportar as amostras e os resultados	Muitas vezes, não comparecem nos locais de colheita com frequência suficiente para um transporte rápido; com prioridades partilhadas, as amostras nem sempre são transportadas em tempo oportuno, nem com o devido controlo de qualidade; o uso de ambulâncias não é recomendado, visto que é uma forma de transporte imprevisível e interfere com os deveres regulares	Usados para postos ou unidades de saúde que apenas colhem amostras quando há a visita de uma equipa de saúde de proximidade, visto que esta pode trazer com ela as amostras para o laboratório
	Uso de transportes públicos, sem acompanhamento (autocarros, comboios, barcos e aeronaves)	Desempenham um importante papel nos transportes rurais e urbanos com vasto acesso e cobertura em todo o país; usados por empresas privadas de correio urgente e sistemas postais nacionais, para enviarem cartas, encomendas e dinheiro; menos dispendioso para enviar uma encomenda não acompanhada do que com um funcionário da unidade	Normalmente, é preciso levar as embalagens ao depósito; pode ser necessária uma autorização especial para o transporte de matérias potencialmente perigosas; os horários podem não ser rigorosamente cumpridos; as amostras e os resultados dos testes podem não ser devidamente tratados por falta de formação, falta de pessoal e inexistência de funções e responsabilidades claras; pode não existir um sistema para acompanhar as amostras	Usados quando existem companhias rodoviárias com a reputação de cumprir horários, pessoal profissional e um depósito central onde o pessoal da unidade de saúde pode levantar
Externalizado – todos são especialistas em logística e gerem o transporte	Correio urgente profissional (ONG, empresa social, privado), como os Riders for Health	Capacidade para planear um sistema dedicado, inclusive em zonas de difícil acesso ou mal servidas; devolução de resultados ou transporte de outro material em rotas regulares, sem encargos adicionais	A despesa total parece ser mais elevada, visto que o sistema inclui tudo (veículos, transporte, motoristas e motociclistas, custos operacionais, etc.) e é operado por uma parte terceira (recursos, como o pessoal do ministério da saúde ou de parceiros, não serão partilhados, tendo um custo adicional)	Usado em países com infraestruturas rodoviárias e prestadores de transportes limitados ou pouco
	Correio urgente profissional privado não dedicado, como FedEx ou DHL	Especializado em recolha e entrega de encomendas, a pedido ou por recolha regularmente programada, documentação e acompanhamento da expedição	Nem todos estão dispostos a transportar amostras biológicas potencialmente infecciosas; os custos podem ser mais elevados; a cobertura e a flexibilidade podem ser limitadas; pode não ser uma forma económica de devolver os resultados.	Usado quando a rapidez, segurança, documentação, acompanhamento, nome e assinatura do destinatário, especialização e individualização dos serviços expresso são suficientemente importantes para justificar o custo extra; a melhor cobertura existe nas grandes
	Serviço postal nacional, correio urgente não dedicado (público ou semi-privado)	Normalmente, uma entidade para-estatal, que pode ser mais fácil o ministério da saúde contratar do que uma empresa privada de correio urgente; mandato presente em todo o país; normalmente num horário previsível	postos de correio locais; cumprimento dos horários; as amostras que exigem um tempo de trânsito rigoroso ou um cuidadoso controlo da temperatura podem constituir um problema, a não ser que seja oferecido um serviço garantido (como o correio expresso)	Usado onde o sistema postal nacional é forte e tem boa cobertura; caso contrário, usado apenas para amostras menos urgentes e com maior prazo de validade, como as amostra de gotas

Opções de prestadores de serviços de transporte e logística. A rede nacional de transporte de amostras poderá incluir uma combinação das opções enumeradas na Tabela 10, conforme o nível do sistema de saúde e a geografia local de uma região.

7.2 PACOTES PARA O DIAGNÓSTICO PEDIÁTRICO E COLHEITA DE AMOSTRAS PARA A CARGA VIRAL

São necessários mais de 10 produtos individuais para colher amostras de sangue total destinadas à separação do plasma ou amostras de gotas de sangue seco dos doentes para os testes de ácido nucleico (quer para diagnóstico, quer para carga viral). Alguns desses materiais, como os cartões de papel de filtro para colheita de gotas de sangue seco usados para colher amostras de sangue, são especializados e apenas recomendados de determinados fornecedores. Outros materiais, como gaze ou compressas com álcool, são genéricos. Nas primeiras fases da criação de programas de testes de diagnóstico pediátrico, os países tinham de comprar cada um desses produtos individualmente, o que tornava uma missão complexa a sua encomenda e distribuição às unidades de saúde. Por outro lado, as rupturas de stocks de qualquer um desses produtos podia comprometer a qualidade das amostras ou impedir completamente a colheita e/ou o processamento das amostras de sangue.

Aprendendo com a experiência do diagnóstico pediátrico precoce, para maior facilidade de compra e distribuição e para garantir a qualidade dos produtos, os fornecedores conceberam pacotes de colheita de amostras de plasma e gotas de sangue seco para os testes da carga viral. Esses pacotes contêm kits de colheita individuais e de utilização única que incluem todo o material e produtos necessários para colher, secar (para amostras de gotas de sangue seco) e transportar uma amostra da unidade de saúde para o laboratório.

Conteúdo dos pacotes de colheita de amostras

A Tabela 11 enumera os itens incluídos nos kits de colheita de sangue em tubos de EDTA de utilização única (100 testes por pacote), para obter uma amostra de plasma destinada a testes da carga viral, usando a punção venosa. Posteriormente, estas amostras podem ser (1) enviadas directamente para o laboratório de referência para processamento (centrifugação) em plasma e testadas ou (2) ser separadas em plasma por centrifugação na unidade de saúde e transferidas para outro tubo, sendo depois enviadas para o laboratório devidamente acondicionadas para os testes.

Tabela 11. Pacotes para colheita de amostras de sangue total e plasma

Nº	Item	Quantidade	Especificações
1	Compressas com álcool, 70%	1	Compressas com álcool WBCL
2	Compressas de gaze não estéreis com 8 dobras 10 x 10 cm	1	Compressas de gaze com 8 dobras não estéreis 100 x 100mm
3	Gants d'examen en latex non poudrés	2	Luvas de látex sem pó para exame, tamanho médio
4	Pansement	1	Tecido de ligaduras
5	Bag autoclave clear biohazard saco de autoclave com símbolo de biossegurança 415 x 600 mm (1 por pacote)	1	Bag autoclavable clear print biohazard saco de autoclave com símbolo de biossegurança 415 x 600 mm
6	Tubo de 5 ml de EDTA vácuo	1	Tubo de 5 mL K2EDTA lavanda 13 x 100 mm
7	Porta-agulhas em tubo de vácuo	1	Suporte Speedy de libertação rápida
8	Agulha em tubo de vácuo, 21G	1	Agulha de colheita em vácuo de múltipla utilização 21G x 1.5" 38 x 0.8mm Verde Estéril
9	Torniquete (um por pacote)	1	Torniquete descartável sem clip, sem latex, banda de borracha sintética, não estéril
10	Caixa de acondicionamento	1	Caixa branca com revestimento 385 x 310 x 145mm
11	Pipeta de transferência Pasteur (opcional) ^a	1	Pipeta de transferência Pasteur 1 mL ponta fina, embalagem individual estéril (pode ser requisitada com custo adicional)

^a Agulha de colheita em vácuo de múltipla utilização 21G x 1.5" 38 x 0.8 mm Verde Estéril

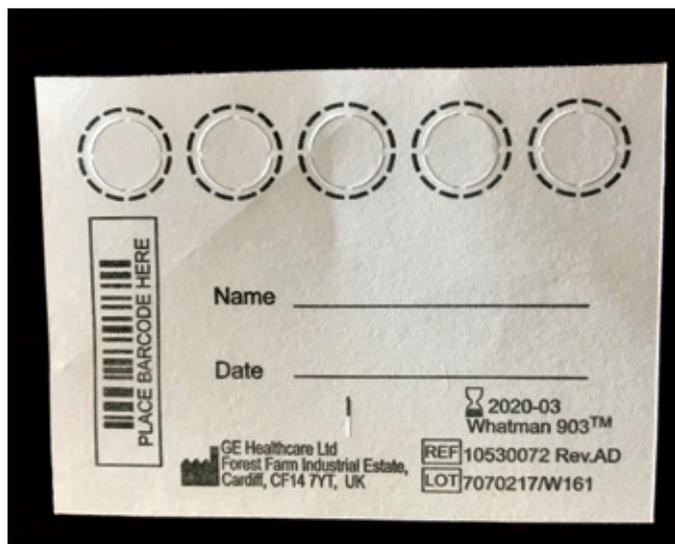
Tabela 12. Pacotes para colheita de amostras de DBS

N.º	Item	Quantidade	Diagnóstico pediátrico	Carga viral	Especificações
1	Instruções para a colheita de DBS	1	✓	✓	Ficha de instruções para a colheita de DBS
2	Luvas sem pó	2	✓	✓	Luvas de exame em çátex sem pó – tamanho médio
3	Penso de gaze com álcool	2	✓	✓	Penso de gaze impregnado com álcool, de utilização única e individualmente embalado
4	Lancetas	1	✓	✓	Lanceta retráctil de utilização única com lâmina de 2 mm não ajustável para penetração em profundidade (não do tipo agulha)
5	Compressa de gaze	1	✓	✓	Compressas de gaze não esterilizadas 8 dobras 50 mm × 50 mm
6	Tubo capilar de EDTA	1	✗	✓	Tubo capilar de EDTA 100 µl, de plástico, com marcações de 70µl
7	Papel de filtro S&S 903 para DBS	1	✓	✓	Cartão Whatman 903 ou Munktell TNF, perfurado
8	Suporte de secagem para cartões DBS	1	✓	✓	Support de séchage pour carte Whatman 903
9	Embalagem de dessecante de sílica	3	✓	✓	Saqueta de 1 grama de sílica gel
10	Sacos de plástico	1	✓	✓	Saco Ziploc duplo de baixa permeabilidade a gases (150 mm × 180 mm) com espaço branco para escrever
11	Embalagem e reembalagem	1	✓	✓	Embalagem e reembalagem: cinco peças por pacote
12	Caixa de acondicionamento	1	✓	✓	Caixa de cartão amarelado para conter todo o conteúdo dos pacotes, com tampa de enfiar
13	Formulário de requisição laboratorial (opcional)	1	✓	✓	Formulário de requisição personalizado para o diagnóstico pediátrico precoce/carga viral num bloco de 50 ou 100 em cópias duplicadas
14	Auto-colantes para código de barras (opcional)	1	✓	✓	Auto-colantes para código de barras personalizados para diagnóstico pediátrico precoce/carga viral



A Tabela 12 enumera os itens incluídos nos kits de colheita de amostras de gotas de sangue seco de utilização única com cartões para gotas de sangue seco perfurados (20 ou 50 testes por pacote), os quais podem ser usados para os testes de diagnóstico pediátrico precoce ou testes da carga viral.

Um pacote específico de colheita de amostras de gotas de sangue seco para os testes da carga viral contém itens semelhantes, com adição de um tubo microcapilar de EDTA (Fig. 8). O tubo de EDTA microcapilar serve para garantir que é colhido rigorosamente o volume necessário por gota. O teste da carga viral é uma medida quantitativa que depende muito da quantidade de sangue usado no teste, independentemente do tipo de amostra. Algumas evidências sugerem que gotas livres de sangue aplicadas directamente a um cartão de gota de sangue seco pode produzir resultados de teste rigorosos, em comparação com as amostras de plasma. Por conseguinte, usar um volume fixo ou um tubo ou pipeta microcapilar de medição graduados pode ajudar a um maior rigor na preparação da amostra de gota de sangue seco. Os profissionais de saúde devem ser devidamente formados sobre as diferenças das técnicas e processos de colheita de amostras para o diagnóstico pediátrico e gotas de sangue seco para a carga viral.



Source : M. Rioja, Clinton Health Access Initiative.

Que benefícios se esperam da utilização dos pacotes de colheita de amostras?

São os seguintes os benefícios dos pacotes de colheita de amostras para um programa nacional:

- Previsão, compra e gestão da cadeia de abastecimento mais simples e mais normalizada (em vez de encomendar cada um dos itens a vários fabricantes);
- Disponibilidade garantida dos itens necessários nas proporções correctas e menor desperdício;

- Reforço mais simples e mais rápido dos serviços de testes em novos locais, visto que todos os materiais para formação e testes são embalados em conjunto; e
- Os pacotes saem mais baratos para todos os componentes, em comparação com a compra individual de cada item.

São os seguintes os benefícios dos pacotes de colheita de amostras para as unidades de saúde:

- Garantia de qualidade dos itens contidos nos pacotes, se o fornecedor tiver um histórico comprovado, o que é especialmente importante para certos itens que têm de cumprir escrupulosamente os padrões de qualidade (tais como, lancetas e luvas sem pó), a fim de garantir a prestação de cuidados adequados aos doentes e a preparação correcta das amostras (mitigando assim o risco de rejeição das amostras pelo laboratório) e garantir a segurança do utilizador final;
- Menores riscos ou reorientação dos itens, tais como luvas, para outros serviços, reduzindo assim a ruptura de stocks e o desperdício de determinados itens;
- Partilha ou distribuição mais fácil de pacotes de utilização única individualmente acondicionados para postos-satélite, com menos pedidos de testes; e
- Simplificação do fluxo do trabalho na clínica, devido aos pacotes de utilização única individualmente acondicionados, permitindo aos agentes de saúde abrir a caixa e retirar um saco que tem tudo aquilo de que precisam para colher uma amostra.

Que fornecedores oferecem pacotes de colheita de amostras?

Os pacotes estão prontamente disponíveis para compra através de, pelo menos, dois fornecedores que recebem os itens directamente de determinados fabricantes:

- LASEC (<https://www.lasec.com/diagnostics>);
- LabMate

Conclusão

Garantindo que todos os itens necessários estarão disponíveis aos agentes de saúde ou aos técnicos de laboratório num único kit ou embalagem, os pacotes de produtos para a colheita de amostras destinadas a testes do ácido nucleico simplificaram e normalizaram a cadeia de abastecimento desses produtos e reduziram a ocorrência de demoras na realização dos testes, que resultariam de rupturas de stocks ou apropriação indevida de um determinado item. Muitos países já têm experiência na utilização destes pacotes e, conseqüentemente, têm menos desperdício e encomendam menos existências de segurança. Embora os pacotes em si constituam uma alternativa económica às compras por grosso de produtos isolados, a redução significativa de

desperdícios contribui também para maior poupança por parte dos países. Por outro lado, a utilização de produtos de colheita de amostras em pacotes tem contribuído significativamente para melhorar os serviços de diagnóstico pediátrico e de testes da carga viral, em vários países de recursos limitados.

7.3 INTERVENÇÕES OPERACIONAIS: TESTES DA CARGA VIRAL PARA O DIAGNÓSTICO PEDIÁTRICO PRECOCE

Os testes de diagnóstico pediátrico têm-se expandido consideravelmente na última década nas regiões de baixos e médios rendimentos, mas o seu acesso continua a ser limitado. Em 2017, apenas 51% das crianças expostas ao VIH fizeram um teste de diagnóstico precoce nos primeiros dois meses de vida (11), conforme a recomendação da OMS (2). Há vários problemas que têm limitado o reforço deste importante teste numa população altamente vulnerável. O diagnóstico pediátrico precoce foi inicialmente oferecido em laboratórios de testes centralizados, o que exigia o transporte de amostras de gotas de sangue seco e podia, muitas vezes, levar semanas e, por vezes, meses para o envio dos resultados aos clínicos e cuidadores, para acção clínica. As demoras podem ser causadas por vários motivos, incluindo:

- A necessidade de fazer lotes de amostras pediátricas, antes de se proceder a uma análise completa, para garantir que os testes terão uma boa relação custo-eficácia e resultarão em poupanças;
- Pequenos volumes de diagnóstico pediátrico limitam o número de dispositivos e laboratórios com capacidade para efectuar testes, os quais se poderão localizar longe das unidades de saúde e criar um contexto problemático de compras que, muitas vezes, gera ruptura de stocks de reagentes nos laboratórios;
- No passado e, por vezes, ainda hoje, os reagentes para os testes pediátricos podem ser mais caros do que outros testes de VIH baseados no ácido nucleico, tais como os da carga viral; e
- Como este tipo de amostra, gotas de sangue seco, é também muitas vezes usado nos testes da carga viral e o número mensal de bebés que precisam de fazer testes é reduzido, os materiais para colheita de amostras têm sido e podem ser reutilizados na colheita de amostras para os testes da carga viral, o que, ocasionalmente, resulta em ruptura de stocks, quando pode ser necessária uma amostra pediátrica.

Os testes quantitativos de diagnóstico pediátrico começaram por ser usados para diagnosticar o VIH em crianças expostos ao VIH, em contextos de recursos limitados. A técnica baseada no ácido nucleico (PCR quantitativa) usada nos testes da carga viral é muito semelhante, muitas vezes a mesma, que para os testes pediátricos ou ensaios qualitativos. A PCR do ADN do VIH é um sinónimo normalmente usado para os testes de diagnóstico pediátrico precoce do VIH; contudo, há presentemente várias

tecnologias no mercado que não se destinam especificamente ao ADN do VIH. O principal tipo de amostra para o diagnóstico pediátrico baseado no ácido nucleico é o sangue total, que pode conter ADN pró-viral, ARN intracelular e ARN extracelular. Do mesmo modo que usando amostras de gotas de sangue seco do sangue total para os testes da carga viral (ver subsecção 6.1), o sangue total para os testes qualitativos de diagnóstico pediátrico geralmente resulta na detecção da variedade dos ácidos nucleicos do VIH. Uma vez que tanto o ADN como o ARN do VIH estão presentes, os testes virológicos ou os testes de amplificação do ácido nucleico do VIH são agora termos mais rigorosos para os testes pediátricos por PCR do que a PCR do ADN do VIH.

Considerações actuais

As recomendações da OMS de 2010 sobre o diagnóstico da infecção pelo VIH em bebés e crianças pequenas (74) as orientações consolidadas da OMS de 2016 sobre o uso de antirretrovirais no tratamento e prevenção da infecção pelo VIH (2) recomendam que se façam testes virológicos para diagnosticar a infecção pelo VIH em bebés, usando PCR do ADN do VIH em amostras de sangue total ou em amostras de gotas de sangue seco, PCR do ARN do VIH no plasma ou gota de sangue seco ou antigénio p24 ultra-sensitivo no plasma ou gota de sangue seco. Por outro lado, as orientações em países de altos rendimentos, incluindo as orientações dos Estados Unidos da América (75), recomendam os testes do ARN do VIH para diagnosticar a infecção pelo VIH nos bebés.

A investigação existente sugere que os testes de ARN do VIH (normalmente, quantitativos) podem apresentar resultados comparáveis aos testes que, especificamente, detectam o ADN (76–79). No entanto, persistem dúvidas acerca da viabilidade técnica e clínica da utilização do ARN e/ou testes quantitativos para o diagnóstico, dada a maior exposição de mães e bebés à terapia antirretroviral, através dos programas de prevenção e transmissão vertical do VIH, opção B+ e das políticas “Tratar Todos”, visto que todos os estudos anteriores se realizaram antes de 2003 e da era da opção B+.

Dados actualizados

Recentemente, foram realizados dois estudos destinados a um melhor entendimento do desempenho e potencial papel de se usarem os testes quantitativos do VIH (carga viral), usando amostras de gotas de sangue seco para diagnosticar o VIH em crianças menores de 18 meses (80,81). Esses estudos foram realizados em contextos actuais, com elevadas taxas de exposição materna e infantil a medicamentos. Em Moçambique, 95% das mães e dos bebés recebiam, respectivamente, terapia antirretroviral ou profilaxia antirretroviral, enquanto, no Uganda, 75% das mães recebiam terapia antirretroviral e 65% dos bebés recebiam profilaxia antirretroviral.

No estudo realizado em Moçambique, a sensibilidade e a especificidade de usar o teste da carga viral para detectar a infecção foram, respectivamente, de 100.0% e 99.9%. Os valores

Table 13. Sensibilidade e especificidade dos testes da carga viral em Moçambique e no Uganda

País	Configuração do estudo	Tipo de amostra	Sensibilidade (CI 95%) ^a	Especificidade (CI 95%) ^a
Mozambique (80)	Plasma	1021	100% (96.2-100.0%)	99.9% (99.4-100.0%)
Ouganda (81)	Plasma	520	98.9% (96.7-99.6%)	98.8% (96.6-99.6%)

^a Sensibilidade e especificidade usando um limiar de insucesso do tratamento de 1000 cópias/ml

preditivos positivos e negativos foram de 99% (95% CI: 94.3–100.0%) e 100% (95% CI: 99.6–100.0%). No estudo realizado no Uganda, a sensibilidade e a especificidade de usar o teste da carga viral para detectar a infecção foram, respectivamente, de 98.9% e 98.8%.

Uma importante consideração em ambos os estudos foi que as amostras de gotas de sangue seco foram preparadas usando as técnicas de preparação de tampão e amostras tradicionalmente usadas para preparar as amostras para diagnóstico pediátrico.

As actuais recomendações da OMS e estes dados confirmam que a carga viral pode ser usada como teste de diagnóstico pediátrico. De facto, algumas tecnologias têm como alvo específico apenas o ARN do VIH e, no entanto, está demonstrado que têm alta sensibilidade e especificidade, comparáveis às das melhores tecnologias padrão, e conquistaram a pré-qualificação da OMS.

Embora alguns fabricantes já tenham solicitado dupla aplicação, o ideal seria que pedissem aprovação das entidades reguladoras no âmbito das suas pretensões para uso presente e/ou futuro dos seus testes de carga viral, para apoiar a implementação desta técnica.

Considerações programáticas

Existem algumas vantagens potenciais em usar testes da carga viral ou de dupla aplicação como teste de diagnóstico pediátrico, incluindo:

- otimizar o fluxo do trabalho laboratorial, podendo reunir-se no mesmo lote amostras para diagnóstico pediátrico precoce e para a carga viral, reduzindo a necessidade de esperar por lotes completos para o diagnóstico pediátrico;
- reduzir o risco de atribuir uma prioridade mais baixa ao diagnóstico pediátrico a nível da unidade de saúde e do laboratório, à medida que os programas da carga viral são reforçados;
- agilizar a previsão e a quantificação dos testes de diagnóstico pediátrico e da carga viral;
- simplificar as compras, a gestão da cadeia de abastecimento e a distribuição de produtos para a colheita de amostras de diagnóstico pediátrico e da carga viral;
- poupar dinheiro como resultado da paridade de preços entre os testes da carga viral e de diagnóstico pediátrico e aumentar

a eficiência das operações laboratoriais e dos processos de compras; e

- melhorar os cuidados, uma vez que um resultado da carga viral poderá ser fornecido para um bebé que viva com o VIH no momento do diagnóstico.

Conclusões

Criar sistemas de diagnóstico mais eficientes, racionalizados e clinicamente favoráveis é essencial para melhorar os cuidados. Deve considerar-se o uso de testes da carga viral com dupla utilização pretendida validada, para apoiar também o diagnóstico pediátrico e atenuar alguns dos actuais problemas, melhorando o diagnóstico pediátrico.

7.4 NOVAS FERRAMENTAS NOS PONTOS DE CUIDADOS PARA O DIAGNÓSTICO PEDIÁTRICO PRECOCE DO VIH

Uma década de investimento em redes de laboratórios convencionais expandiu o acesso aos testes de diagnóstico pediátrico precoce, mas apenas 51% das crianças expostas ao VIH fizeram testes do VIH antes dos dois meses de idade, em 2015 (82).

O advento das tecnologias de diagnóstico pediátrico precoce nos pontos de cuidados (10) ruma novidade que cria a oportunidade de aumentar a cobertura dos testes de diagnóstico pediátrico precoce. Permitirá a obtenção dos resultados no próprio dia, permitindo que o tratamento seja iniciado mais cedo e resolvendo algumas das principais limitações das redes convencionais de diagnóstico pediátrico precoce, especialmente os longos tempos de entrega de resultados dos testes e as elevadas taxas de perda no seguimento.

Têm sido feitos progressos significativos na garantia da qualidade das novas tecnologias de diagnóstico pediátrico precoce nos pontos de cuidados.

Foram feitas as seguintes aprovações reguladoras e avaliações técnicas para o diagnóstico pediátrico precoce nos pontos de cuidados (os países consideram, muitas vezes, estas aprovações, quando adquirem tecnologias de diagnóstico):

- **CE-IVD (Conformidade Europeia diagnóstico in vitro).** Há quatro tecnologias de diagnóstico pediátrico precoce nos

Tableau 14. Avaliações técnicas das tecnologias de diagnóstico pediátrico precoce nos pontos de cuidados

Configuração do estudo	Tipo de amostra	Tamanho da amostra	Sensibilidade (CI 95%) ^a	Especificidade (CI 95%) ^a
Alere™ m-PIMA HIV-1/2 Detect	WHO PQ CDC/NHLS	Sang total	98.67% (95.27-99.84%)	100.00% (97.59-100.00%)
	Consórcio de diagnóstico pediátrico precoce	Sang total	99.00% (96.45-99.88%)	99.97% (99.83-100.00%)
Cepheid Xpert® HIV-1 Qual	WHO PQ CDC/NHLS	Sang total	98.86% (93.83-99.97%)	100.00% (97.55-100.00%)
	Consórcio de diagnóstico pediátrico precoce	Sang total	96.79% (92.68-98.95%)	99.91% (99.76-99.97%)
	WHO PQ CDC/NHLS	Gouttes de sang séché	99.34% (96.40-100.00%)	100.00% (97.60-100.00%)

pontos de cuidados que receberam CE-IVD: Alere™ m-PIMA HIV-1/2 Detect, Cepheid Xpert® HIV-1 Qual e Diagnostics for the Real World's SAMBA I HIV-1 Qual Test e SAMBA II HIV-1 Qual Whole Blood Test.

- **Pré-qualificação da OMS:** Há duas tecnologias de diagnóstico pediátrico precoce nos pontos de cuidados que cumpriram os requisitos da OMS: Alere™ m-PIMA HIV 1/2 Detect (83) e Cepheid Xpert® HIV-1 Qual (84) receberam a pré-qualificação da OMS em 13 de Junho de 2016.

Avaliações técnicas independentes: o consórcio Diagnóstico Pediátrico Precoce nos Pontos de Cuidados era constituído por um grupo de investigadores principais de seis países que realizou avaliações técnicas no terreno das tecnologias de diagnóstico pediátrico precoce nos pontos de cuidados para acelerar a revelação de dados de desempenho independentes, com vista a acelerar os processos nacionais de aprovação e a implementação nos países. Os resultados de nove avaliações técnicas no terreno foram consolidados nos seis países (Tabela 14). Foi analisado um total de 3383 amostras, usando Alere™ m-PIMA HIV-1/2 Detect, e 4401 amostras foram analisadas usando Cepheid Xpert® HIV-1 Qual (85).

Recomendações da OMS

As orientações consolidadas da OMS de 2016 sobre o uso de antirretrovirais no tratamento e prevenção da infecção pelo VIH (2) recomendam que as tecnologias de teste de ácido nucleico que são desenvolvidas e validadas para utilização nos pontos de cuidados ou na sua proximidade possam ser usadas em testes de diagnóstico pediátrico precoce do VIH. O diagnóstico pediátrico precoce nos pontos de cuidados constitui uma oportunidade para reduzir os tempos de entrega dos resultados, limitar a desistência dos doentes ao longo do ciclo de testes do VIH, reduzir a mortalidade infantil e permitir a delegação de tarefas em quadros inferiores de agentes de saúde em unidades de saúde descentralizadas (2).

Uso actual

Há vários países que estão a implementar tecnologias de diagnóstico pediátrico precoce nos pontos de cuidados. Por exemplo, o Maláui, Moçambique e África do Sul comunicaram resultados de projectos-piloto de diagnóstico pediátrico precoce nos pontos de cuidados em 2016, os quais mostravam tempos de entrega de resultados significativamente mais curtos e maiores taxas de início da terapia antirretroviral, em comparação com os sistemas laboratoriais convencionais (86–88). Considerando a elevada taxa de mortalidade precoce de crianças não tratadas que vivem com o VIH (89,90), o diagnóstico pediátrico precoce nos pontos de cuidados poderá também reduzir a mortalidade infantil observada. Com base nas aprovações da CE-IVD e WHO PQ, os resultados robustos de avaliações técnicas independentes no terreno, a elegibilidade para compras, a recomendação da OMS para a utilização do diagnóstico pediátrico precoce nos pontos de cuidados e os resultados iniciais do impacto nos doentes da implementação dos projectos-piloto, os países deverão começar a planear a implementação do diagnóstico pediátrico precoce nos pontos de cuidados, incorporando-o nas orientações nacionais sobre cuidados e tratamento do VIH, plano estratégico nacional, planos operacionais nacionais do PEPFAR, candidaturas a financiamento do Fundo Mundial de Luta contra a SIDA, Tuberculose e Paludismo e orçamentos-programa do VIH.

Conclusões

Existem evidências suficientes sobre o desempenho destes testes nos contextos pretendidos no terreno, para apoiar a rápida aprovação do regulador nacional e o início do reforço. O desempenho foi consistente entre o laboratório e os contextos no terreno, assim como entre os países. Novas avaliações técnicas destas tecnologias não deverão acrescentar qualquer valor, podendo, pelo contrário, retardar a implementação e o diagnóstico atempado de crianças que vivem com o VIH, uma população crítica e vulnerável.

Os organismos reguladores nacionais são encorajados a não protelarem a adopção fazendo novas avaliações, mas antes a adoptarem um processo rápido e eficiente de registo e aprovação nacional para implementação imediata.

7.5 INTERVENÇÕES OPERACIONAIS: CONSIDERAÇÕES ACTUALIZADAS SOBRE UM PACOTE ABRANGENTE DE GESTÃO DA QUALIDADE DOS TESTES NOS PONTOS DE CUIDADOS NO ÂMBITO DOS PROGRAMAS NACIONAIS DE SAÚDE

A introdução e a implementação de tecnologias nos pontos de cuidados e a capacidade para descentralizar os testes melhorou substancialmente o acesso aos serviços de diagnóstico. Desde 2015, foram publicadas novas recomendações da OMS (2). Em 2016, a OMS recomendava condicionalmente as tecnologias de testes com ácido nucleico, que são desenvolvidas e validadas para utilização nos pontos de cuidados ou na sua proximidade, para os testes pediátricos precoces do VIH. Por outro lado, o teste da contagem de células CD4 nos pontos de cuidados pode ser usado para dar prioridade ao urgente início dos cuidados e da terapia antirretroviral. Finalmente, há várias tecnologias nos pontos de cuidados ou na sua proximidade, que foram pré-qualificadas desde 2015, para o diagnóstico pediátrico precoce, CD4, carga viral do VIH, carga viral da hepatite C, rastreio do cancro cervical e VIH e sífilis (91).

Está demonstrado que os testes administrados nos pontos de cuidados facilitam uma prestação de serviços de saúde rápida e descentralizada. Uma revisão sistemática do uso de CD4 nos pontos de cuidados para iniciar a terapia antirretroviral (92) revelou uma ligação significativamente melhor aos cuidados do VIH e à rapidez do início da terapia antirretroviral. Para além disso, estudos recentemente publicados no Maláui e em Moçambique revelaram tempos de entrega dos resultados dos testes significativamente mais reduzidos e maiores taxas de início da terapia, quando os testes de diagnóstico pediátrico precoce são feitos nos pontos de cuidados (93,94).

A descentralização dos testes qualitativos e quantitativos apresentou tanto oportunidades como desafios, uma vez que os países monitorizam um número cada vez maior de dispositivos e operadores em toda uma rede de testes descentralizados. Isso exigiu a expansão dos esquemas tradicionais de avaliação externa da qualidade de modo a alcançar um número sem precedentes de unidades de saúde e, em muitos casos, a possibilidade novos mecanismos de apoio ao processo de gestão da qualidade.

Os princípios apresentados ao longo de toda a publicação sobre a melhoria da qualidade dos testes do VIH realizados nos pontos de cuidados (95) continuam a ser altamente relevantes. Todavia, é agora crucial actualizar as considerações para os países e parceiros da implementação, uma vez que as experiências com as tecnologias nos pontos de cuidados e os mecanismos de garantia de qualidade têm evoluído. À medida que se adquire mais experiência, mais importante se torna uma abordagem abrangente à garantia de qualidade das tecnologias nos pontos de cuidados, para assegurar que os testes são fidedignos

e rigorosos. Há várias opções alternativas para a garantia de qualidade que devem constituir um pacote abrangente, juntamente com os testes tradicionais de proficiência e que incluem:

- Avaliação de competências durante a formação e em exercício;
- Controlo interno da qualidade;
- Painéis de testes de proficiência;
- Avaliação externa alternativa da qualidade, se não existirem painéis de testes de proficiência:
 - ≈ em papel e online
 - ≈ testes de amostras duplicadas/testes de transcriptase reversa;
- Gestão de dados através da conectividade; e
- Formação e tutoria no local.

Cada mecanismo de garantia de qualidade pode visar diferentes passos do ciclo de testes; contudo, uma vez consolidados num pacote, constituem uma abordagem abrangente e inclusiva.

Importância de um pacote abrangente de gestão da qualidade para as tecnologias nos pontos de cuidados

A gestão da qualidade dos diagnósticos é fundamental para a qualidade global dos cuidados, assegurando resultados dos testes fidedignos e rigorosos. As avaliações de qualidade dos diagnósticos in vitro, antes da sua introdução no mercado, como a pré-qualificação da OMS, fornecem informação sobre a segurança, qualidade e desempenho do produto, fiabilidade do fabrico e sistemas de gestão da qualidade. Além disso, as exigências das autoridades reguladoras visam avaliar produtos de alta qualidade para o seu uso pretendido. Em conjunto, esses processos garantem que apenas são elegíveis para aquisição produtos de alta qualidade.

No entanto, é necessário que existam uma garantia e um controlo da qualidade contínuos, para assegurar o rigor e a precisão dos resultados produzidos pelos testes de diagnóstico, a fim de evitar erros de diagnóstico. Os controlos internos e os padrões pretendem eliminar as diferenças de erros sistemáticos e aleatórios em cada amostra e entre amostras e padrões conhecidos. Os esquemas de testes de proficiência para a avaliação externa da qualidade avaliam especificamente o desempenho de um laboratório ou unidade de saúde em testes rigorosos de amostras estabilizadas de valor ou resultados conhecidos. Os resultados dessas avaliações alertam os programas nacionais para um problema, em que ponto se devem tomar medidas para identificar a causa e potenciais

acções de remediação. Isso é importante para entender os níveis de desempenho de cada uma das unidades e também para analisar a rede global dos laboratórios nacionais. Além disso, a monitorização dos dados de taxas inválidas, os controlos diários e os padrões de utilização de tecnologias baseadas em dispositivos através da conectividade podem fornecer informação essencial sobre a qualidade dos testes, erros recorrentes dos dispositivos ou dos operadores e a necessidade de cursos de reciclagem ou tutoria específica.

Um pacote abrangente de gestão da qualidade poderá identificar falhas e levá-las ao conhecimento dos directores dos programas laboratoriais. Bons programas de garantia de qualidade permitem que os locais de testes e os programas laboratoriais trabalhem coordenadamente para evitar, detectar e corrigir os problemas ao longo de todo o ciclo de testes, assim como monitorizar todos os aspectos de um programa de testes para serviços de testes contínuos e de boa qualidade. O programa abrangente de gestão da qualidade deve reunir uma série de actividades que, em conjunto, podem analisar todos os aspectos dos testes, incluindo:

- Identificação de doentes;
- Colheita de amostras;
- Tratamento das amostras;
- Garantia das condições de armazenamento de amostras e;
- reagentes e prazos de validade;
- Aplicação de amostras;
- Garantia do desempenho da tecnologia;
- Aplicação de reagentes, se necessário;
- Garantia de procedimentos técnicos; techniques;
- Interpretação dos resultados; e
- Registo dos resultados.

Um tal pacote abrangente de gestão da qualidade dos testes nos pontos de cuidados destina-se a complementar as actividades de vigilância pré e pós-mercado sugeridas e em curso em todos os laboratórios nacionais e que estão recomendadas noutras publicações da OMS (96–99).

Considerações de implementação para a criação de um pacote de gestão da qualidade

Um pacote de gestão da qualidade forte e abrangente para os testes realizados nos pontos de cuidados requer actividades de qualidade, para além dos painéis de testes de proficiência. Criar um pacote abrangente com algumas das estratégias alternativas aqui discutidas permitirá a cobertura de todo o ciclo de testes e proporcionará uma monitorização mais regular dos testes descentralizados. No mínimo, os programas nacionais deverão considerar painéis de testes de proficiência, encorajando os fornecedores a criarem sistemas de controlo interno robustos, formação em serviço e avaliação de competências, gestão de dados através da conectividade e formação e tutoria no local regulares e planeadas.

Num esforço para criar um programa abrangente de gestão da qualidade, terão de ser elaboradas políticas nacionais de saúde que considerem os recursos disponíveis para garantir a adopção sustentada da implementação da garantia de qualidade em todos os contextos. Além de explorarem diferentes modelos, os países deverão considerar os momentos e a frequência das actividades de garantia da qualidade, o conteúdo de cada actividade e os encargos a assumir com essas actividades. Todos estes parâmetros têm importantes implicações na qualidade e nos custos, sendo fundamental usar as políticas e os dados específicos dos países para fundamentar essas decisões. Alguns dos parâmetros que ajudam a compreender a implementação estão enumerados abaixo.

Para além disso, os mecanismos regulares da qualidade dos programas continuam a ser essenciais para garantir compras consistentes e a introdução de tecnologias de alta qualidade. O teste regular dos lotes, serviços e manutenção e vigilância pós-mercado são estruturas necessárias de um sistema global de qualidade laboratorial que este pacote abrangente de gestão da qualidade dos testes nos pontos de cuidados deverá complementar (98,99).

Nenhum programa de gestão da qualidade ficará completo sem uma análise dos dados e tomando medidas preventivas e correctivas claras e consistentes, sempre que necessário. Esta é uma componente crucial do programa que deve ser claramente planeada e determinada, para garantir que os problemas serão estudados e os operadores terão o necessário apoio para continuarem a fornecer testes e resultados de elevada qualidade.

8. CONCLUSÕES

Intensificar o reforço das abordagens de monitorização do tratamento através dos testes da carga viral, assim como o diagnóstico pediátrico precoce, será fundamental para garantir cuidados e tratamentos de boa qualidade e o êxito dos programas. Considerar uma boa rede de diagnósticos, tipos de

amostras, intervenções e estratégias em cada um dos países e em todas as partes interessadas nacionais, regionais e parceiros contribuirá para apoiar este esforço, melhorar a colaboração e maximizar o investimento nos diagnósticos para um impacto clínico visível.



REFERÊNCIAS

1. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection: recommendations for a public health approach. Geneva: World Health Organization; 2013 (<https://www.who.int/hiv/pub/guidelines/arv2013/en>, accessed 8 July 2019).
2. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection: recommendations for a public health approach – second edition 2016. Geneva: World Health Organization; 2016 (<https://www.who.int/hiv/pub/arv/arv-2016/en>, accessed 8 July 2019).
3. What's new in treatment monitoring: viral load and CD4 testing. Geneva: World Health Organization; 2017 (<https://www.who.int/hiv/pub/arv/treatment-monitoring-info-2017/en>, accessed 8 July 2019).
4. Guidelines for managing advanced HIV disease and rapid initiation of antiretroviral therapy. Geneva: World Health Organization; 2017 (<https://www.who.int/hiv/pub/guidelines/advanced-HIV-disease/en>, accessed 8 July 2019).
5. HIV market report: the state of the HIV treatment, testing, and prevention markets in low- and middle-income countries, 2017–2022. Boston: Clinton Health Access Initiative; 2018.
6. Landmark HIV diagnostic access program will save \$150m and help achieve new global goals on HIV. Geneva: UNAIDS; 2014 (<https://www.unaids.org/en/resources/presscentre/pressreleaseandstatementarchive/2014/september/20140925prviralload>, accessed 8 July 2019).
7. Hologic Global Access Initiative: A revolutionary approach to diagnostic testing for resource-limited settings. Marlborough (MA): Hologic; 2019 (<https://www.hologic.com/globalaccessinitiative>, accessed 8 July 2019).
8. Cepheid announces expanded access to Xpert family of virology tests in global regions with the greatest need. Sunnyvale (CA): Cepheid; 2018 (<http://www.cephheid.com/en/about/news-events/press-releases/319-cephheid-announces-expanded-access-to-xpert-family-of-virology-tests-in-global-regions-with-the-greatest-need>, accessed 8 July 2019).
9. Putting HIV and HCV to the test: a product guide for point-of-care CD4 tests and laboratory-based and point-of-care HIV and HCV viral load tests. Geneva: Médecins Sans Frontières; 2017.
10. HIV/AIDS diagnostics technology landscape. 5th ed. Geneva: Unitaid; 2015 (http://www.unitaid.org/assets/UNITAID_HIV_Nov_2015_Dx_Landscape-1.pdf, accessed 8 July 2019).
11. Miles to go: closing gaps, breaking barriers, righting injustices. Geneva: UNAIDS; 2018 (<https://www.unaids.org/en/resources/documents/2018/global-aids-update>, accessed 8 July 2019).
12. HIV diagnosis and ARV use in HIV-exposed infants: a programmatic update. Geneva: World Health Organization; 2018 (<https://www.who.int/hiv/pub/paediatric/diagnosis-arv-infants/en>, accessed 8 July 2019).
13. 90–90–90: an ambitious treatment target to help end the AIDS epidemic. Geneva: UNAIDS; 2017 (<https://www.unaids.org/en/resources/documents/2017/90-90-90>, accessed 8 July 2019).
14. Population-based HIV impact assessments [website]. New York: ICAP at Columbia University, 2019 (<https://phia.icap.columbia.edu>, accessed 8 July 2019).
15. Making viral load routine: successes and challenges in the implementation of routine HIV viral load monitoring. Geneva: Médecins Sans Frontières; 2016.
16. Vojnov L, Venter F, Sacks J, Ehrenkranz P, Kiyaga C, Reynolds S et al. Next steps in HIV treatment monitoring: a call to action to ensure the use of viral load test results. In preparation.
17. HIV viral load scale-up tools [website]. Addis Ababa: ASLM; 2019 (<http://www.aslm.org/hiv-viral-load-testing/hiv-viral-load-scale-tools>, accessed 8 July 2019).
18. Tools for scaling-up viral load monitoring [website]. Washington (DC): USAID; 2019 (<https://aidsfree.usaid.gov/news-events/tools-scaling-viral-load-monitoring>, accessed 8 July 2019).
19. AIDSFree viral load and early infant diagnosis knowledge base [online database]. Washington (DC): USAID; 2019 (<https://aidsfree.usaid.gov/resources/vl-eid>, accessed 8 July 2019).
20. Abbott RealTime HIV-1 instructions for use. Chicago: Abbott Laboratories; 2014.
21. Public report: Abbott RealTime HIV-1. Geneva: World Health Organization; 2016 (https://www.who.int/diagnostics_laboratory/evaluations/pq-list/hiv-vr1/180423_amended_final_pqpr_0145_027_00_v11.pdf?ua=1, accessed 8 July 2019).
22. m-PIMA™ HIV-1/2 VL cartridge guide. Chicago: Abbott Laboratories; 2019.

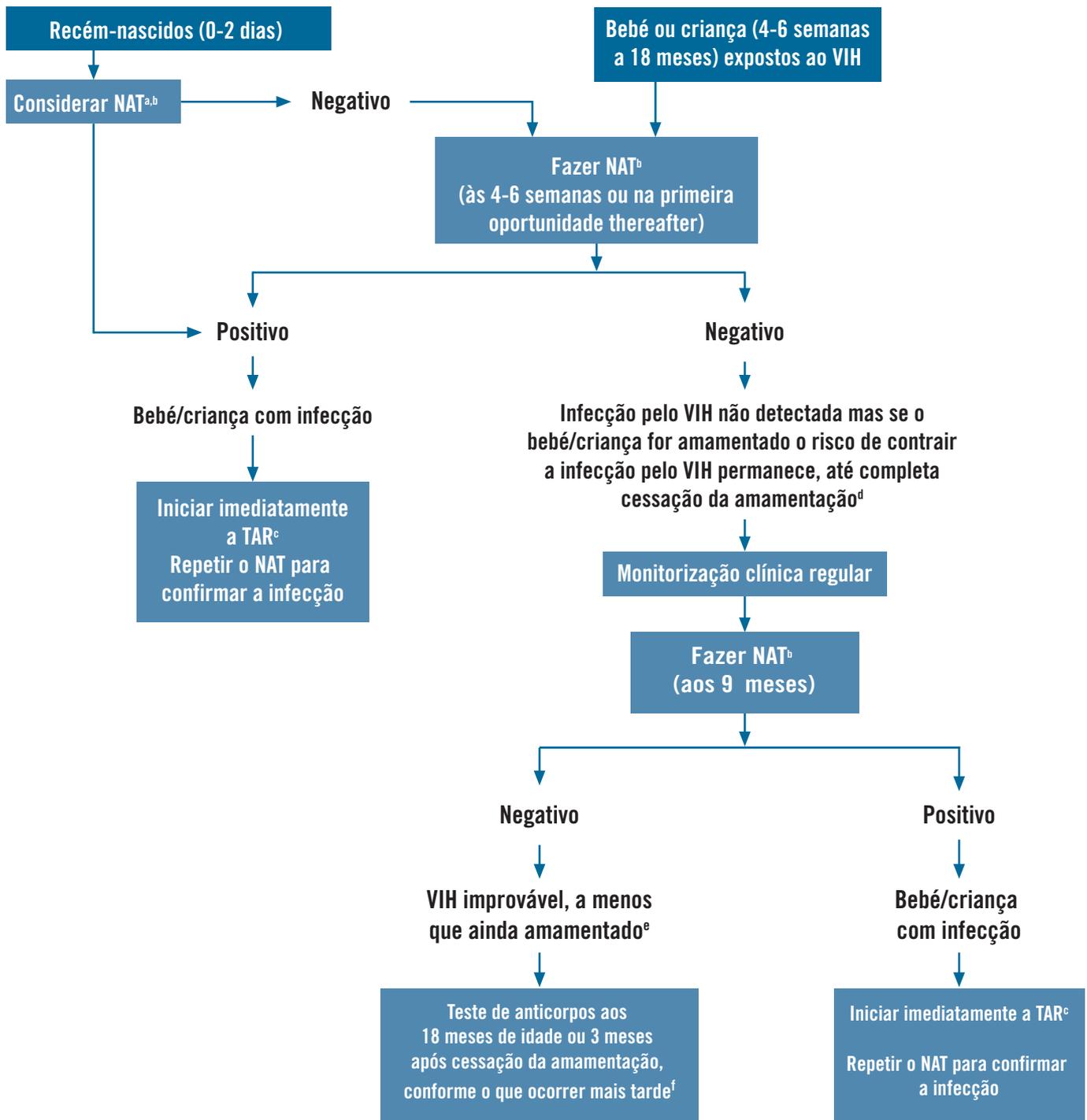
23. Public report: m-PIMA HIV-1/2 VL. Geneva: World Health Organization; 2019 (https://www.who.int/diagnostics_laboratory/evaluations/pq-list/190408_pqdx_0359_032_00_pqpr_mpima.pdf?ua=1, accessed 8 July 2019).
24. GENERIC HIV Charge Virale instructions for use. Collingwood (NJ); Biocentric; 2019.
25. NucliSENS EasyQ® HIV-1 v2.0 instructions for use. Marcy-l'Étoile: bioMérieux; 2010.
26. Public report: NucliSENS EasyQ® HIV-1 v2.0. Geneva: World Health Organization; 2017 (https://www.who.int/diagnostics_laboratory/evaluations/pq-list/hiv-vrl/pqdx_0127_016_00_public_report_v3.pdf?ua=1, accessed 8 July 2019).
27. ExaVir™ Load instructions for use, version 3. Uppsala: Cavid; 2011.
28. Xpert® HIV-1 Viral Load instructions for use. Sunnyvale (CA): Cepheid; 2017.
29. Public report: Xpert® HIV-1 viral load. Geneva: World Health Organization; 2017 (https://www.who.int/diagnostics_laboratory/evaluations/pq-list/hiv-vrl/170830_amended_final_pqpr_0192_0193_0194_0195_070_00_v3.pdf?ua=1, accessed 8 July 2019).
30. Aptima™ HIV-1 Quant Dx Assay instructions for use. Marlborough (MA): Hologic; 2017.
31. Public report: Aptima™ HIV-1 Quant Dx Assay. Geneva: World Health Organization; 2018 (https://www.who.int/diagnostics_laboratory/evaluations/pq-list/180207_final_pqpr_0236_078_00_v5_IFU_v4.pdf?ua=1, accessed 8 July 2019).
32. artus® HI Virus -1 RG RT-PCR Kit handbook. Hilden: Qiagen; 2013.
33. artus® HI Virus -1 QS-RGQ Kit handbook. Hilden: Qiagen; 2013.
34. COBAS® AmpliPREP/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 instructions for use. Basel: Roche; 2017.
35. Public report: COBAS® AmpliPREP/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0. Geneva: World Health Organization; 2018 (https://www.who.int/diagnostics_laboratory/evaluations/pq-list/hiv-vrl/160530_amended_final_public_report_pqdx_0200_046_00_taqman96.pdf?ua=1, accessed 8 July 2019).
36. cobas® HIV-1 Quantitative Nucleic Acid Test for Use on the cobas® 4800 System instructions for use. Basel: Roche; 2018.
37. cobas® HIV-1 Quantitative Nucleic Acid Test for Use on the cobas® 6800/8800 Systems instructions for use. Basel: Roche; 2017.
38. HIV Real-TM Quant DX handbook. Como: Sacace Biotechnologies; 2015.
39. VERSANT® HIV-1 RNA 1.5 Assay instructions for use. Munich: Siemens; 2017.
40. Bonner K, Siemieniuk RA, Boozary A, Roberts T, Fajardo E, Cohn J. Expanding access to HIV viral load testing: a systematic review of RNA stability in EDTA tubes and PPT beyond current time and temperature thresholds. *PLoS One*. 2014;9:e113813.
41. Hardie DR, Korsman SN, Ameer S, Vojnov L, Hsiao N-Y. Reliability of plasma HIV viral load testing beyond 24 hours: insights gained from a study in a routine diagnostic laboratory. *PLoS One*. (in press).
42. Gullett JC, Nolte FS. Quantitative nucleic acid amplification methods for viral infections. *Clin Chem*. 2015;61:72–8.
43. Undetectable: how viral load monitoring can improve HIV treatment in developing countries. Geneva: Médecins Sans Frontières; 2012.
44. Quinn TC, Wawer MJ, Sewankambo N, Serwadda D, Li C, Wabwire-Mangen F et al. Viral load and heterosexual transmission of human immunodeficiency virus type 1. Rakai Project Study Group. *N Engl J Med*. 2000;342:921–9.
45. Gray RH, Wawer MJ, Brookmeyer R, Sewankambo NK, Serwadda D, Wabwire-Mangen F et al. Probability of HIV-1 transmission per coital act in monogamous, heterosexual, HIV-1-discordant couples in Rakai, Uganda. *Lancet*. 2001;357:1149–53.
46. Avettand-Fènoël V, Hocqueloux L, Ghosn J, Cheret A, Frange P, Melard A et al. Total HIV-1 DNA, a marker of viral reservoir dynamics with clinical implications. *Clin Microbiol Rev*. 2016;29:859–80.
47. Parkin NT. Measurement of HIV-1 viral load for drug resistance surveillance using dried blood spots: literature review and modeling of contribution of DNA and RNA. *AIDS Rev*. 2014;16:160–71.
48. Lee TH, Stromberg RR, Heitman JW, Sawyer L, Hanson CV, Busch MP. Distribution of HIV type 1 (HIV-1) in blood components: detection and significance of high levels of HIV-1 associated with platelets. *Transfusion*. 1998;38:580–8.
49. Smit PW, Sollis KA, Fiscus S, Ford N, Vitoria M, Essajee S et al. Systematic review of the use of dried blood spots for monitoring HIV viral load and for early infant diagnosis. *PLoS One*. 2014;9:e86461.

50. Vojnov L, Carmona S, Zeh C, Markby J, Boeras D, Prescott MR et al. The performance of using dried blood spot specimens for HIV-1 viral load testing: a systematic review and meta-analysis. In preparation.
51. Holodniy M, Mole L, Yen-Lieberman B, Margolis D, Starkey C, Carroll R et al. Comparative stabilities of quantitative human immunodeficiency virus RNA in plasma from samples collected in VACUTAINER CPT, VACUTAINER PPT, and standard VACUTAINER tubes. *J Clin Microbiol.* 1995;33:1562–6.
52. Ginocchio CC, Wang XP, Kaplan MH, Mulligan G, Witt D, Romano JW et al. Effects of specimen collection, processing, and storage conditions on stability of human immunodeficiency virus type 1 RNA levels in plasma. *J Clin Microbiol.* 1997;35:2886–93.
53. Holodniy M, Rainen L, Herman S, Yen-Lieberman B. Stability of plasma human immunodeficiency virus load in VACUTAINER PPT plasma preparation tubes during overnight shipment. *J Clin Microbiol.* 2000;38:323–6.
54. Elbeik T, Nassos P, Kipnis P, Haller B, Ng VL. Evaluation of the VACUTAINER PPT Plasma Preparation Tube for use with the Bayer VERSANT assay for quantification of human immunodeficiency virus type 1 RNA. *J Clin Microbiol.* 2005;43:3769–71.
55. Giordano M, Kelleher T, Colonna RJ, Lazzarin A, Squires K. The effects of the Roche AMPLICOR HIV-1 MONITOR UltraSensitive Test versions 1.0 and 1.5 viral load assays and plasma collection tube type on determination of response to antiretroviral therapy and the inappropriateness of cross-study comparisons. *J Clin Virol.* 2006;35:420–5.
56. Griffith BP, Mayo DR. Increased levels of HIV RNA detected in samples with viral loads close to the detection limit collected in plasma preparation tubes (PPT). *J Clin Virol.* 2006;35:197–200.
57. Wan H, Seth A, Rainen L, Fernandes H. Coamplification of HIV-1 proviral DNA and viral RNA in assays used for quantification of HIV-1 RNA. *J Clin Microbiol.* 2010;48:2186–90.
58. Salimnia H, Moore EC, Crane LR, Macarthur RD, Fairfax MR. Discordance between viral loads determined by Roche COBAS AMPLICOR human immunodeficiency virus type 1 monitor (version 1.5): standard and ultrasensitive assays caused by freezing patient plasma in centrifuged Becton-Dickinson Vacutainer brand plasma preparation tubes. *J Clin Microbiol.* 2005;43:4635–9.
59. García-Bujalance S, Ladrón de Guevara C, González-García J, Arribas JR, Zamora F, Gutiérrez A. Elevation of viral load by PCR and use of plasma preparation tubes for quantification of human immunodeficiency virus type 1. *J Microbiol Methods.* 2007;69:384–6.
60. Rebeiro PF, Kheshti A, Bebawy SS, Stinnette SE, Erdem H, Tang YW et al. Increased detectability of plasma HIV-1 RNA after introduction of a new assay and altered specimen-processing procedures. *Clin Infect Dis.* 2008;47:1354–7.
61. Kran AM, Jonassen TØ, Sannes M, Jakobsen K, Lind A, Maeland A et al. Overestimation of human immunodeficiency virus type 1 load caused by the presence of cells in plasma from plasma preparation tubes. *J Clin Microbiol.* 2009;47:2170–4.
62. Kraft CS, Binongo JN, Burd EM, Eaton ME, McCloskey CB, Fernandes H et al. Successful use of Plasma Preparation Tubes™ (PPTs) in the COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 test. *J Clin Virol.* 2013;57:77–9.
63. Fernandes H, Morosyuk S, Abravaya K, Ramanathan M, Rainen L. Evaluation of effect of specimen-handling parameters for plasma preparation tubes on viral load measurements obtained by using the Abbott RealTime HIV-1 load assay. *J Clin Microbiol.* 2010;48:2464–8.
64. Adachi D, Benedet M, Tang JW, Taylor GD. Comparative evaluation of Roche's COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HIV-1 Test v2.0 and Abbott's RealTime m2000sp/rt HIV-1 assay on PPTs and EDTA samples. *J Clin Virol.* 2014;60:78–9.
65. Cloherty G, Swanson P, Lucic D, Dieckhaus K, Anthony P, Cataline P et al. Clinical implications of elevated HIV-1 viral load results obtained from samples stored frozen in vacutainer plasma preparation tubes. *J Virol Methods.* 2014;204:91–2.
66. Goedhals D, Scott LE, Moretti S, Cooper MA, Opperman WJ, Rossouw I. Evaluation of the use of plasma preparation tubes for HIV viral load testing on the COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HIV-1 version 2.0. *J Virol Methods.* 2013;187:248–50.
67. BD Vacutainer® PPT instructions for use. Franklin Lakes (NJ): Becton, Dickinson and Company; 2015.
68. K2E K2EDTA Sep. Kremsmünster: Greiner Bio-One; 2019 (<https://shop.gbo.com/en/row/products/preanalytics/venous-blood-collection/vacurette-tube/edta/k2e-k2edta-sep>, accessed 8 July 2019).
69. K2EDTA Gel Tube. Negeri Sembilan: TUD; 2019 (http://www.tud.my/product_info_901003-100013.htm, accessed 8 July 2019).
70. Putting HIV and HCV to the test. Geneva: Médecins Sans Frontières; 2017 (https://www.msf.org/sites/msf.org/files/putting_hiv_and_hcv_to_the_test.pdf, accessed (July2019).

71. Sacks JA, Fong Y, Perez Gonzalez M, Andreotti M, Baliga S, Garrett N et al. Performance of Cepheid GeneXpert HIV-1 viral load plasma assay to accurately detect treatment failure: a clinical meta-analysis. *AIDS*. (in press).
72. Sacks JA, Fong Y, Gonzalez MP, Andreotti M, Baliga S, Garrett N et al. Performance of cepheid GeneXpert HIV-1 viral load plasma assay to accurately detect treatment failure: a clinical meta-analysis. *AIDS*. doi: 10.1097/QAD.0000000000002303. [Epub ahead of print]
73. Information note: considerations for adoption and use of multidisease testing devices in integrated laboratory networks. Geneva: World Health Organization; 2017 (https://www.who.int/tb/publications/2017/considerations_multidisease_testing_devices_2017/en, accessed 8 July 2019).
74. WHO recommendations on the diagnosis of HIV infection in infants and children. Geneva: World Health Organization; 2010 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/44275>, accessed 8 July 2019).
75. Recommendations for the use of antiretroviral drugs in pregnant women with HIV infection and interventions to reduce perinatal HIV transmission in the United States. Washington (DC): United States Department of Health and Human Services; 2018 (<https://aidsinfo.nih.gov/guidelines/html/3/perinatal/509/diagnosis-of-hiv-infection-in-infants-and-children>, accessed 8 July 2019).
76. Delamere C, Burgard M, Mayaux MJ, Blanche S, Doussin A, Ivanoff S et al. HIV-1 RNA detection in plasma for the diagnosis of infection in neonates. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1997;15:121–5.
77. Nesheim S, Palumbo P, Sullivan K, Lee F, Vink P, Abrams E et al. Quantitative RNA testing for diagnosis of HIV-infected infants. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 2003;32:192–5.
78. Simonds RJ, Brown TM, Thea DM, Orloff SL, Steketee RW, Lee FK et al. Sensitivity and specificity of a qualitative RNA detection assay to diagnose HIV infection in young infants. *AIDS*. 1998;12:1545–9.
79. Young N, Shaffer N, Chaowanachan T, Chotpitayasunondh T, Vanparapar N, Mock PA et al. Early diagnosis of HIV-1 infected infants in Thailand using RNA and DNA PCR assays sensitive to non-B subtypes; *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 2000;24:401–7.
80. Vubil A, Nhachigule C, Loquiha O, Meggi B, Mabunda N, Bollinger T et al. Viral load assay performs comparably to early infant diagnosis assay to diagnose infants with HIV. *J Init AIDS Soc*. In preparation.
81. Kiyaga C, Fong Y, Okiira C, Kushemererwa GE, Kayongo I, Tadeo I et al. Viral load assay performed well when used as a diagnostic for infants. 11th International Workshop on HIV Pediatrics, Mexico City, Mexico, 19–20 July 2019.
82. Global Plan towards the elimination of new HIV infections among children by 2015 and keeping their mothers alive. Geneva: UNAIDS; 2011 (https://www.unaids.org/en/resources/documents/2011/20110609_JC2137_Global-Plan-Elimination-HIV-Children_en.pdf, accessed 8 July 2019).
83. Public report: Alere™q HIV-1/2 Detect. Geneva: World Health Organization; 2016 (http://www.who.int/diagnostics_laboratory/evaluations/pq-list/hiv-vrl/160613PQPublicReport_0226-032-00AlereHIVDetect_v2.pdf?ua=1, accessed 8 July 2019).
84. Public report: Cepheid Xpert®HIV-1 Qual. Geneva: World Health Organization; 2016 (http://www.who.int/diagnostics_laboratory/evaluations/pq-list/hiv-vrl/160613PQPublicReport_0259-0700-00_XpertQualHIV_v2.pdf?ua=1, accessed 8 July 2019).
85. Carmona S, Wedderburn C, Macleod W, Hsaio M, Jani I, Kroon M et al. Field performance of point-of-care HIV testing for early infant diagnosis: pooled analysis from six countries for the EID Consortium. ASLM2016, Cape Town, South Africa, 3–8 December 2016 (<https://eidconsortium.org/Files/EID%20Poster%20v5%20Low%20res.pdf>, accessed 8 July 2019).
86. Jani IV, Meggi B, Mabunda N, Vubil A, Tobaiwa O, Bollinger T et al. Effect of point-of-care early infant diagnosis on retention of patients and rates of antiretroviral therapy initiation on primary health care clinics: a cluster-randomized trial in Mozambique. 21st International AIDS Conference, Durban, South Africa, 18–22 July 2016.
87. Mwenda R. Impact of point-of-care EID testing into the national EID program: pilot experiences from Malawi. 21st International AIDS Conference, Durban, South Africa, 18–22 July 2016.
88. Technau K, Sherman G, Bhowan K, Murnane P, Coovadia AH, Kuhn L. Comparing point of care to laboratory HIV PCR testing at birth in a hospital setting in Johannesburg, South Africa (Abstract O-14). 8th International Workshop on HIV Pediatrics, Durban, South Africa, 15–16 July 2016.

89. Bourne DE, Thompson M, Brody LL, Cotton M, Draper B, Laubscher R et al. Emergence of a peak in early infant mortality due to HIV/AIDS in South Africa. *AIDS*. 2009;23:101–6.
90. Newell ML, Coovadia H, Cortina-Borja M, Rollins N, Gaillard P, Dabis F. Mortality of infected and uninfected infants born to HIV-infected mothers in Africa: a pooled analysis. *Lancet*. 2004;364:1236–43.
91. WHO list of prequalified in vitro diagnostic products. Geneva: World Health Organization; 2019 https://www.who.int/diagnostics_laboratory/evaluations/PQ_list/en, accessed 8 July 2019).
92. Vojnov L, Markby J, Boeke C, Harris L, Ford N, Peter T. POC CD4 testing improves linkage to HIV care and timeliness of ART initiation in a public health approach: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2016;11:e0155256.
93. Mwenda R, Fong Y, Magombo T, Saka E, Midiani D, Mwase C et al. Significant patient impact observed upon implementation of point-of-care early infant diagnosis technologies in an observational study in Malawi. *Clin Infect Dis*. 2018;67:701–7.
94. Jani IV, Meggi B, Loquiha O, Tobaiwa O, Mudenyanga C, Zitha A et al. Effect of point-of-care early infant diagnosis on antiretroviral therapy initiation and retention of patients. *AIDS*. 2018;32:1453–63.
95. Improving the quality of HIV-related point-of-care testing: ensuring the reliability and accuracy of test results. Geneva: World Health Organization; 2015 (<https://www.who.int/hiv/pub/toolkits/handbook-point-of-care-testing/en>, accessed 8 July 2019).
96. Prequalification of in vitro diagnostics. Geneva: World Health Organization; 2019 (https://www.who.int/diagnostics_laboratory/evaluations/en, accessed 8 July 2019).
97. Procurement of in vitro diagnostics. Geneva: World Health Organization; 2019 (https://www.who.int/diagnostics_laboratory/procurement/en, accessed 8 July 2019).
98. Post-market surveillance for in vitro diagnostics (IVDs). Geneva: World Health Organization; 2019 (https://www.who.int/diagnostics_laboratory/postmarket/en, accessed 8 July 2019).
99. Quality assurance of in vitro diagnostics and laboratory technology. Geneva: World Health Organization; 2019 (https://www.who.int/diagnostics_laboratory/quality/en, accessed 8 July 2019).

ANEXO 1. ALGORITMO DO DIAGNÓSTICO PEDIÁTRICO



^a Com base nas orientações consolidadas da OMS sobre ARV de 2016, pode ser considerada a adição do NAT à nascença ao actual algoritmo de testes.

^b O NAT nos POC pode ser usado para diagnosticar a infecção pelo VIH, assim como para confirmar os resultados positivos.

^c Iniciar imediatamente a TAR. Ao mesmo tempo, voltar a fazer o teste para confirmar a infecção. À medida que o tratamento materno é reforçado e as taxas de transmissão vertical diminuem, prevê-se que os resultados falsos-positivos aumentem: por isso, é importante fazer novo teste após um primeiro NAT positivo, para evitar tratamentos desnecessários, particularmente nos contextos com taxas de transmissão inferiores. Se o segundo teste for negativo, deve fazer-se um terceiro NAT, antes de interromper a TAR.

^d Para as crianças que nunca foram amamentadas, está incluído neste algoritmo um novo teste após um resultado negativo do NAT às 4–6 semanas, para explicar potenciais resultados falsos-negativos do NAT.

^e O risco de transmissão do VIH permanece, enquanto a amamentação continuar. Se o teste aos 9 meses for feito antes dos 3 meses após a cessação da amamentação, a infecção contraída nos últimos dias da amamentação poderá não ser detectada. Para a avaliação final do estado de VIH, devem fazer-se novos testes aos 18 meses ou 3 meses após cessação da amamentação (o que ocorrer mais tarde).

^f Se a amamentação continuar para lá dos 18 meses, o diagnóstico final do estado de VIH apenas poderá ser avaliado no final da amamentação. Se a amamentação terminar antes dos 18 meses, o diagnóstico final do estado de VIH com testes de anticorpos apenas poderá ser avaliado aos 18 meses. Os testes de anticorpos devem ser feitos, pelo menos, 3 meses após a cessação da amamentação (para permitir o desenvolvimento de anticorpos do VIH). Para os bebés menores de 18 meses, deve fazer-se o NAT para confirmar a infecção. Se o bebé tiver mais de 18 meses, um teste de anticorpos negativo confirma que o bebé não está infectado; um teste de anticorpos positivo confirma que o bebé está infectado.

Para mais informações, contactar:

World Health Organization
Department of HIV/AIDS
20, avenue Appia
1211 Geneva
Switzerland

E-mail: hiv-aids@who.int
www.who.int/hiv

