

Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM IMUNOBIOLOGICOS**  
**Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular**  
**Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos**

**Antonio Gomes Pinto Ferreira**

**Processo de Transferência da Tecnologia de  
Produção do Teste Rápido de HIV-1 e HIV-2 em  
Bio-Manguinhos: Um Modelo para a Incorporação de  
Novas Tecnologias.**

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Imunobiológicos

**RIO DE JANEIRO**  
**2005**

F383

Ferreira, Antonio Gomes Pinto

Processo de transferência da tecnologia de produção do teste rápido para HIV-1 e HIV-2 em Bio-Manguinhos: um modelo para incorporação de novas tecnologias. / Antonio Gomes Pinto Ferreira. – Rio de Janeiro, 2005.

95 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Bio-Manguinhos, Departamento de Reativos para Diagnóstico, 2005.

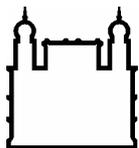
Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos, 2005.

1. Tecnologia em Imunobiológicos 2. Transferência de tecnologia. 3. Reativos para diagnóstico de HIV-1 e HIV-2. 4. Imunocromatografia. 5. Fluxo Lateral

I. Título. II. Instituto Oswaldo Cruz – Bio-Manguinhos - Departamento de Reativos para Diagnóstico

CDD 616.9363

Trabalho realizado no Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, Bio-Manguinhos, FIOCRUZ, sob a orientação do Dr. Akira Homma.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM IMUNOBIOLOGICOS**  
**Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular**  
**Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos**

**Antonio Gomes Pinto Ferreira**

**Processo de Transferência da Tecnologia de Produção do  
Teste Rápido de HIV-1 e HIV-2 em Bio-Manguinhos: Um Modelo  
para a Incorporação de Novas Tecnologias.**

**ORIENTADOR: Dr. Akira Homma**

**Aprovada em: 18/03/2005**

**EXAMINADORES:**

**Prof. Dr. Marco Aurélio Krieger - Presidente**

**Prof. Dr. Ricardo Galler**

**Prof. Dr. José Godinho da Silva Junior**

Rio de Janeiro, 18 de março de 2005.

## AGRADECIMENTOS

- Ao meu orientador Dr. Akira Homma, pela orientação, apoio e incentivo durante o desenvolvimento desta dissertação;
- Aos Revisores e a Banca Examinadora, especialmente o Dr. José Godinho da Silva Junior e Dr. Marco Aurélio Krieger, pelas sugestões e críticas construtivas;
- As Amigas, Marli Sidoni, Maria Souto, Dulce Lopes e Eliane Couceiro, que muito contribuíram para a elaboração desta dissertação;
- Aos Amigos e companheiros do Departamento de Reativos, em especial Emilson Silva, Edimilson Silva e Marco Andrade, que me apoiaram, incentivaram e cuidaram da reta-guarda, de muito trabalho, que permitiu meu ingresso e manutenção no Curso de Mestrado;
- Aos Amigos e companheiros de Bio-Manguinhos, em especial Mário Moreira e Raouf Sykora, que ao meu lado perseveraram e contribuíram para o fechamento do acordo de Transferência de Tecnologia;
- Aos que colaboraram com informações importantes para esta Dissertação;
- Aos Professores, Coordenadora e Secretária do MPTI, que me proporcionaram valiosa gama de novos conhecimentos e os meios acadêmicos para ingresso, manutenção e término do curso;
- A todos os companheiros do MPTI, em especial, Joel Majerowicz e Dulce Lopes, que, por intermédio de um mútuo apoio, conseguimos superar os desafios a nós impostos durante todo o curso;
- A todos os colegas, parentes e amigos que me incentivaram;
- Em especial, agradeço aos meus pais, irmãos e familiares que me apoiaram durante toda a minha vida, além de meu filho Eduardo e minha esposa Paula, fontes de estímulo, motivação e inspiração.

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Aids/SIDA	- Síndrome de Imunodeficiência Humana Adquirida
ARV	- Antiretroviral
BPF	- Boas Práticas de Fabricação
BPL	- Boas Práticas de Laboratório
C&T	- Ciência e Tecnologia
CNCT&I/S	- Conferência Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação em Saúde
CD3, CD4, CD8, CD45	- <i>Cluster of Differentiation</i> 3, 4, 8 e 45
CGLAB	- Coordenação Geral de Laboratórios
CNPq	- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DERED	- Departamento de Reativos para Diagnóstico
DNA	- Ácido desoxidoribonucleico
DST	- Doença Sexualmente Transmissível
EIARA	- Ensaio Imuno Enzimático para Rota e Adenovírus
EIE	- Ensaio Imuno Enzimático
ELISA	- <i>Enzyme Lynked Immuno Assay</i>
FIOCRUZ	- Fundação Oswaldo Cruz
HAV	- <i>Hepatitis A Vírus</i>
HBsAg	- <i>Hepatitis B Surface Antigen</i>
HCV	- <i>Hepatitis C Vírus</i>
HIV	- <i>Human Immunodeficiency Vírus</i>
HIV-1/2	- Vírus da Imunodeficiência Humana dos tipos 1 e 2.
HTLV	- <i>Human T-cell Lymphotropic Viruses</i>
IB	- <i>Imunoblot</i>
IFI	- Imunofluorescência Indireta
IgG	- Imunoglobulina G
IgM	- Imunoglobulina M
IOC	- Instituto Oswaldo Cruz
LACEN	- Laboratório Central
LF	- <i>Lateral Flow</i>
MPTI	- Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos
MS	- Ministério da Saúde

NAT	- <i>Nucleic Acid Test</i>
OMS	- Organização Mundial de Saúde
OPAS	- Organização Pan-Americana de Saúde
P&D	- Pesquisa & Desenvolvimento
PCR	- <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PDTIS	- Programa de Desenvolvimento Tecnológico em Insumos Estratégicos para a Saúde
PNCT&I	- Política Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação
PNDST/Aids	- Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids
PNI	- Programa Nacional de Imunizações
POP	- Procedimento Operacional Padronizado
RDC	- Resolução de Diretoria Colegiada
RNA	- Ácido ribonucléico
SUS	- Sistema Único de Saúde
SVS	- Secretaria de Vigilância em Saúde
UFRJ	- Universidade Federal do Rio de Janeiro
UV	- Ultravioleta

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1. Aspectos Gerais Relacionados ao HIV .....	3
1.1.1. A Epidemia de HIV/Aids .....	3
1.1.1.1. A Epidemia Global de HIV/Aids .....	3
1.1.1.2. A Epidemia de HIV/Aids no Brasil.....	6
1.1.1.3. Mudanças no Perfil da Epidemia .....	7
1.1.2. A Biologia do HIV .....	8
1.1.2.1. Estrutura do HIV-1 .....	8
1.1.2.2. O Genoma do HIV-1 .....	9
1.1.2.3. Variabilidade Genética do HIV .....	10
1.1.2.4. O Ciclo de Replicação do HIV-1 .....	11
1.1.2.4.1. Fase Inicial .....	11
1.1.2.4.1 (a) Infecção das Células-Alvo pelo HIV .....	11
1.1.2.4.1 (b) Integração do Genoma Viral ao DNA da Célula Infectada ..	11
1.1.2.4.2. Fase Avançada .....	12
1.1.2.5. A Imunologia do HIV .....	13
1.2. Políticas Públicas, Tendências Tecnológicas e Alinhamento Estratégico de Bio-Manguinhos/FIOCRUZ na Área de Reativos para Diagnóstico.....	15
1.2.1. Ciência, Tecnologia e Pesquisa em Saúde no Brasil.....	15
1.2.2. Tendências Tecnológicas.....	17
1.2.3. Desenvolvimento e Produção de Reativos em Bio-Manguinhos.....	20
1.3. Testes de Diagnóstico .....	30
1.3.1. Metodologias e Técnicas.....	31
1.3.2. Testes de Diagnóstico Sorológico para HIV .....	34
1.3.2.1. ELISA .....	34
1.3.2.1.1. ELISA Indireto .....	34
1.3.2.1.2. ELISA Competitivo .....	35
1.3.2.2. Imunofluorescência – IFI .....	35
1.3.2.3. <i>Western Blot</i> (WB) e <i>Imunoblot</i> (IB).....	36
1.3.2.4. Testes Rápidos.....	38
1.3.2.4.1. Indicações Gerais para o Uso de Testes Rápidos .....	38

1.3.2.4.2. Uso do Teste Rápido em Situações de Exposição Ocupacional ao HIV .....	39
1.3.2.4.3. Uso de Testes Rápidos para a Indicação de Profilaxia da Transmissão Vertical do HIV em Gestantes .....	40
1.3.2.4.4. Aglutinação .....	45
1.3.2.4.5. <i>Flow Through</i> ou Imunoconcentração .....	45
1.3.2.4.6. Fluxo Lateral/Imunocromatografia.....	46
1.3.3. Testes Baseados na Detecção de Antígenos do HIV.....	48
1.3.3.1. Testes para a Detecção do Antígeno p24 .....	48
1.3.3.2. Ensaio Molecular.....	48
1.3.3.3. RT-PCR .....	48
1.3.3.4. Hibridação.....	49
1.3.4. Técnicas de Cultura Viral .....	49
1.3.4.1. Cultura de Células do Sangue Periférico para o Isolamento do HIV ..	49
1.3.4.2. Cultura Quantitativa de Células .....	50
1.3.4.3. Cultura Quantitativa a Partir de Plasma.....	50
<b>2. OBJETIVO .....</b>	<b>51</b>
2.1. Geral.....	52
2.2. Específico .....	52
<b>3. METODOLOGIA .....</b>	<b>53</b>
3.1. Elementos Básicos no Processo de Transferência de Tecnologia .....	54
3.2. Identificação e Seleção da Empresa Cedente da Tecnologia.....	56
3.3. Etapas da Transferência de Tecnologia .....	61
3.4. Instalações Laboratoriais .....	64
3.4.1. Para a Primeira Fase - Produto Intermediário 0 – Abril/2004 .....	64
3.4.2. Para a Segunda Fase - Produto Intermediário 1 – Junho/2004.....	64
3.4.3. Da Terceira Fase em diante – Produto Intermediário 2 – Previsto para Julho/2005 .....	65
3.4.4. Aquisição de Equipamentos .....	66
3.5. Descrição do Produto Alvo .....	68
3.5.1. Finalidade do Teste .....	69
3.6. Controle de Qualidade – Fases 1 e 2 .....	70

<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>72</b>
4.1. Estudos de Avaliação da Qualidade do <i>Stat-Pak</i> no Mundo.....	73
4.2. Estudos de Avaliação da Qualidade do <i>Stat-Pak</i> no Brasil.....	74
4.3. A Transferência de Tecnologia .....	77
4.3.1. Treinamentos Relacionados à Transferência de Tecnologia .....	78
4.4. Análise Prévia, Certificação de BPF e Registro do <i>Kit</i> “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”.....	79
4.5. Produção dos <i>Kits</i> “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”: Nacionalização da Produção .....	82
4.6. Ensaio de Controle de Qualidade e Estudos de Estabilidade do <i>Kit</i> “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos” .....	84
4.7. Articulação Estratégica para a Transferência de Tecnologia, Incorporação das Novas Tecnologias e Ampliação do Potencial Tecnológico de Bio-Manguinhos ...	89
4.8. Aumento da Escala de Produção e Busca de Outras Demandas Públicas ....	91
4.9. Situação Atual e Futuro da Produção de Testes Rápidos com Possibilidades de Automação dos Processos .....	92
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>95</b>
<b>6. APÊNDICE.....</b>	<b>98</b>
ANEXO I: Cronograma da transferência de tecnologia do <i>Stat-Pak</i> HIV-1/2 da CHEMBIO Diagnostic System, Inc. para Bio-Manguinhos/FIOCRUZ .....	99
ANEXO II: Manual de instruções de uso do <i>Kit</i> .....	105
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>108</b>

## LISTA DE MAPAS

Mapa 1: Número de casos de HIV registrados mundialmente em adultos e crianças até o fim de 2004.....	4
Mapa 2: Número de novos casos de HIV registrados mundialmente em adultos e crianças no ano de 2004 .....	5
Mapa 3: Número de óbitos devido à Aids em 2004.....	5

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Casos de Aids por região do Brasil e por ano de diagnóstico (1980-2004) .....	6
Tabela 2: Taxa de incidência (por 100000 habitantes) de Aids por região do Brasil e por ano de diagnóstico (1993-2003).....	7
Tabela 3: Quantitativo de vacinas de Bio-Manguinhos para o PNI .....	22
(doses X 1000).....	22
Tabela 4: Quantitativo de reativos para diagnóstico, em reações, distribuídos ao Ministério da Saúde.....	23
Tabela 6: Sumário dos estudos realizados com o <i>Stat-Pak</i> , no mundo, onde N/d significa não disponível. ....	74
Tabela 7: Resultados do 1º estudo de avaliação do <i>Stat-Pak</i> HIV-1/2 obtidos por técnicos de Bio-Manguinhos, no Brasil, onde R=reativo, NR=não reativo, P=positivo e N=negativo .....	75
Tabela 8: Quantitativo de <i>Kits</i> “Testes Rápidos HIV-1/2 – Bio-Manguinhos” fornecidos no Brasil, por estado, em janeiro de 2005 .....	88

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura do HIV-1.....	8
Figura 2: Genoma do HIV-1 .....	9
Figura 3: Ciclo de replicação do HIV-1 .....	13
Figura 4: Evolução das tecnologias de reagentes para diagnóstico laboratorial <i>in vitro</i> .....	18
Figura 5: Etapas de desenvolvimento de um reagente para diagnóstico .....	21
Figura 6: Fluxograma de testes sorológicos para diagnóstico da infecção por HIV ..	37
Figura 7: Fluxograma para o uso de teste rápido para HIV em situações de exposição ocupacional .....	40

Figura 8: Fluxograma do processo para uso de teste rápido para HIV em gestantes e ação terapêutica.....	42
Figura 9: Resultado de teste rápido de aglutinação .....	45
Figura 10: Procedimento e resultado de um teste de imunocorrelação.....	46
Figura 11: Procedimento e resultado do teste rápido por fluxo lateral .....	47
Figura 12: Etapas para a identificação, a escolha e a formalização de parceria entre Bio-Manguinhos e a empresa cedente da tecnologia.....	58
Figura 13: Instituições participantes do processo de transferência de tecnologia do teste rápido para HIV-1 e HIV-2 .....	60
Figura 14: Etapas da transferência de tecnologia .....	61
Figura 15: O <i>Kit</i> “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”.....	69
Figura 16: Execução do “Teste Rápido para HIV-1/2 Bio-Manguinhos” .....	70
Figura 17: Laudo de análise prévia do “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos” ...	80
Figura 18: Certificado de BPF .....	81
Figura 19: Publicação do registro do <i>Kit</i> “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”	82
Figura 20: Fluxograma básico de produção do <i>Kit</i> .....	84
Figura 21: Escala de avaliação de reatividade para ensaios de controle de qualidade, onde 1, 2, 3 referem-se a padrões de amostras positivas e N1, N2 são relacionados a padrões de amostras negativas .....	86
Figura 22: Esquema da articulação estratégica das três instituições envolvidas diante da demanda do setor público brasileiro.....	91

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Evolução clínica da infecção pelo HIV .....	14
Gráfico 2: Mercado nacional de diagnósticos por categoria .....	25
Gráfico 3: Distribuição de testes processados por lote de <i>Kit</i> .....	83

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Relação entre demandas de mercado e plataforma tecnológica.....	19
Quadro 2: Projetos novos e em andamento do Departamento de Reativos para Diagnóstico de Bio-Manguinhos, por patologia-alvo, 2004 .....	28
Quadro 3: Características básicas de um reagente para diagnóstico .....	31
Quadro 4: Impacto econômico com o uso do <i>Kit</i> “IFI HIV-1 Bio-Manguinhos” na rede pública brasileira .....	36

Tabela 5: Desempenho dos testes rápidos para HIV, disponíveis no mercado mundial.....	43
Quadro 5: Fases da transferência de tecnologia.....	62
Quadro 6: Especificação dos produtos intermediários do <i>Kit</i> “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos” .....	63
Quadro 7: Áreas de produção e seus requisitos ambientais .....	65
Quadro 8: Equipamentos a serem adquiridos para a implantação da produção dos testes rápidos.....	66
Quadro 9: Componentes do <i>Kit</i> “Teste Rápido para HIV-1/2 – Bio-Manguinhos” .....	69

## **LISTA DE FOTOS**

Fotos 1 e 2: Equipamento para a impregnação de membranas “ <i>Reel to Reel</i> ” .....	67
Fotos 3 e 4: Equipamentos para laminação e corte de membranas .....	67
Fotos 5 e 6: Equipamentos para empacotamento dos suportes de teste.....	67
Fotos 7, 8 e 9: Produção do <i>Kit</i> “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos” .....	83

## RESUMO

Nesta dissertação apresentamos o modelo utilizado pelo Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, Bio-Manguinhos, Fiocruz, para absorver uma nova tecnologia de produção de reativos para diagnóstico, de alta complexidade (imunocromatografia e fluxo lateral) e estratégico para a área de saúde de nosso país. Inicialmente, porque permitirá a produção de um *Kit* de diagnóstico (“Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”), de alto impacto social, indispensável para ampliar as ações de saúde pública em DST/Aids e, em seguida porque será capaz de democratizar o diagnóstico da infecção pelo HIV no Brasil. A absorção desta nova tecnologia redundará em uma economia de divisas para o Brasil com a consequente interrupção de grandes compras de *Kits* importados, além de gerar um potencial a ser futuramente usado no desenvolvimento e produção de *Kits* para o diagnóstico de outras importantes enfermidades que acometem a população brasileira, com baixo custo. Finalmente, devido às repercussões positivas em outros setores relacionados à produção, melhorando e fortalecendo a área de Reativos para Diagnóstico de Bio-Manguinhos. Estes são argumentos significativos para a implementação deste projeto baseado em transferência de tecnologia.

Bio-Manguinhos estabeleceu as articulações necessárias junto ao Ministério da Saúde, especialmente junto ao PNDST/Aids, utilizando a “demanda do setor público brasileiro”, por um período de três anos, como contrapartida nas negociações com a empresa cedente da tecnologia, evitando, desta forma, qualquer gasto adicional de recursos públicos para absorver as referidas tecnologias.

A Aids, ou SIDA, ainda é um dos maiores problemas de saúde pública no mundo, apresentando números absolutamente alarmantes – cerca de 40 milhões de pessoas infectadas pelo HIV, 5 milhões de novos casos por ano e 3,5 milhões de óbitos em 2004. No Brasil, apesar de ser adotada uma boa política de assistência e tratamento, que vem sendo citada como exemplo no mundo inteiro, ainda convivemos com uma epidemia que continua a se alastrar em ritmo preocupante, com estimativa de 600.000 brasileiros infectados.

Atualmente, estamos presenciando uma revolução científica e tecnológica impar e, neste contexto, Bio-Manguinhos vem tendo como missão “*contribuir para a melhoria dos padrões de saúde pública brasileira, através da pesquisa tecnológica e da produção de imunobiológicos necessários para atender à demanda gerada pelo quadro epidemiológico do país*”. Assim, esta Instituição vem investindo, intensamente, em projetos de pesquisa e desenvolvimento (P&D), bem como na aquisição e incorporação de novas tecnologias para a produção, em escala industrial, de produtos capazes de suprir as demandas dos programas nacionais de saúde pública do Ministério da Saúde. Neste contexto, vem seguindo as tendências na área de Reativos para Diagnóstico Laboratorial que estão voltadas, principalmente, para uma melhor orientação da conduta terapêutica com diagnósticos mais precisos, diferenciais e mais precoces na detecção das doenças, maior rapidez nos resultados e realização dos testes afins nos próprios locais de atendimento de pacientes.

## ABSTRACT

This dissertation describes the model adopted by Bio-Manguinhos in the incorporation of a brand-new technology (immunochromatography and lateral flow) for the production of reagents for diagnosis. This technology is strategic and extremely valuable for the country, as it allows for the production of a low-cost diagnostic kit (Rapid Test HIV-1/2 – Bio-Manguinhos) that will, in turn, promote the dissemination of more extensive public health measures in the prevention and control of STD/Aids, including the socialization of HIV diagnosis in Brazil. Also, the substitution of large bulks of imported tests by their nationally produced equivalent will result in great, monetary savings by the Brazilian Ministry of Health and that the technological platform applied in such tests can also be used in the development of rapid tests designed for the diagnosis of other endemic diseases that afflict the Brazilian population. Finally, due to the positive repercussions it may have on other production sectors, this initiative will ameliorate and strengthen the area of Reagents for Diagnosis in Bio-Manguinhos. All of these arguments, represented strong incentives for the establishment of the partnership, being essential for the implementation of the technology transfer process.

Bio-Manguinhos undertook the necessary negotiations with MoH, especially with the National Program for STD/Aids, offering a share of the Brazilian public market for a period of three years in exchange for the technology to be transferred by the American company that detains it, thus avoiding any extra use of public funds by the Brazilian government.

Aids is still one of the biggest public health problems in the world today, presenting impacting figures: approximately 40 million people are infected with HIV worldwide, with 5 million new cases diagnosed per year and 3.5 million deaths being reported in 2004. Despite Brazil's policy for universal Aids treatment and assistance coverage – which is considered an example for the rest of the world – the country, with its estimated 600,000 HIV positive citizens, still deals with an epidemic that continues to spread at alarming rates.

Certainly, much is yet expected to result from today's scientific and technological revolution. Within this context, Bio-Manguinhos, whose mission is to *“contribute to the improvement of the Brazilian public health standards through technological research and development and the production of immunobiologicals necessary for the fulfillment of the demands generated by the country's epidemiological status”*, has been investing heavily in R&D projects as well as in the acquisition and incorporation of new technologies for the large scale manufacture of products that will feed MoH's national public health programs. One of the new tendencies in the field of reagents for laboratorial diagnosis is geared toward guiding a better therapeutic approach and calls for a more precise, differential and early disease diagnosis. The time required to obtain results also tends to be shorter and the tests, designed in much simpler formats, can be performed faster, without need for extensive professional expertise or fully – equipped facilities.

## **1. INTRODUÇÃO**

As atividades tecnológicas desenvolvidas por Bio-Manguinhos requerem que a Instituição incorpore, permanentemente, novas tecnologias nas suas atividades produtivas, quer seja pelo desenvolvimento autóctone quer seja por transferência de tecnologia.

Bio-Manguinhos tem procurado, ao longo dos anos, incorporar os conhecimentos científicos desenvolvidos pela área de pesquisa básica da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), notadamente do Instituto Oswaldo Cruz (IOC). Utilizando esta fonte de conhecimentos científicos, Bio-Manguinhos coletou dados concernentes à sensibilidade, especificidade e estabilidade de métodos e/ou reagentes e/ou produtos, investindo em atividades relacionadas ao escalonamento e à consistência de sua produção. Praticamente, todos os *Kits* fornecidos por Bio-Manguinhos foram desenvolvidos e produzidos utilizando esta estratégia.

Atualmente, buscam-se alianças estratégicas com outras Instituições, fora do “campus” da FIOCRUZ, estabelecendo parcerias tecnológicas com Universidades e outros Centros de Pesquisa, necessárias para o desenvolvimento de uma série de outros produtos, muitos em forma de *Kits*, de interesse para a Saúde Pública brasileira.

O grande avanço da ciência básica e empírica, no contexto mundial, tem propiciado a área de Reativos para Diagnóstico laboratorial uma dinâmica diferencial traduzida por uma velocidade muito grande na apresentação de seus produtos, porque as exigências requeridas para o registro e a utilização dos mesmos são bem menos complexas do que, por exemplo, para as vacinas e os medicamentos em geral.

Assim é que, com muita rapidez, têm aparecido novas metodologias de diagnóstico laboratorial, os quais, graças aos novos mecanismos de comunicação global, tais como a internet, chegam, de imediato, ao conhecimento do público especializado e das autoridades de Saúde Pública. Estas últimas, passam a receber uma certa “pressão”, inclusive dos laboratórios produtores e detentores da tecnologia, por vezes protegidas por patentes, para que o governo incorpore o novo *Kit* no Sistema Único de Saúde (SUS).

No entanto, um produto novo, na maioria das vezes, tem um preço muito elevado, pois os laboratórios embutem no preço, o custo do desenvolvimento tecnológico e outras despesas, procurando recuperar o investimento feito, o mais rapidamente possível. E o preço destes produtos nesta fase inicial costuma ser proibitivo para o governo, em face de suas prioridades.

O Programa de DST/Aids é permanentemente pressionado pela sociedade em geral, sobretudo por organizações não-governamentais e representativas da sociedade civil, a incorporar novos medicamentos e métodos de prevenção e de diagnóstico rápido, como este, independente do custo, tornando-se imprescindível a busca de formas para incorporar e sustentar a “nova tecnologia” na luta contra a doença.

Em conseqüência, o governo por intermédio do Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids (PNDST/Aids), buscando formas de diminuir o custo e a dependência de importação de tais produtos, mobilizou Bio-Manguinhos para encontrar formas de nacionalizar a produção dos testes rápidos para o diagnóstico do HIV-1 e HIV-2, o mais rapidamente possível. Como o binômio tempo –resposta era um fator da maior importância para a solução do problema, a referida Instituição optou pela busca de tecnologia no exterior, para incorporá-la em um curto espaço de tempo.

## **1.1. Aspectos Gerais Relacionados ao HIV**

Em qualquer atividade produtiva e de desenvolvimento tecnológico, é de fundamental importância conhecer, ampla e profundamente, todas as questões diretamente relacionadas ao tema que, neste caso, refere-se ao diagnóstico laboratorial do vírus – HIV – causador da Aids.

### **1.1.1. A Epidemia de HIV/Aids**

#### **1.1.1.1. A Epidemia Global de HIV/Aids**

Estima-se que o número de indivíduos mundialmente infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) seja de 39,4 milhões, 37,2 milhões dos quais relatados para adultos (17,6 ocorrendo em mulheres) e 2,2 milhões para crianças, abaixo de 15 anos de idade. Somente no ano de 2004, foram globalmente registradas 4,9 milhões de novas infecções por HIV (640000 em crianças menores de 15 anos) e 3,1 milhões de óbitos, dos quais 2,6 milhões foram registrados em adultos e o restante em crianças (UNAIDS, 2004). Os Mapas 1, 2 e 3 ilustram a

distribuição dos casos de HIV (casos acumulados e novos casos) bem como dos óbitos por Aids em 2004.

Acredita-se que aproximadamente 90% da pandemia esteja concentrada nos países em desenvolvimento, sobretudo nos que estão localizados na África subsaariana. Apesar da população registrada nos países da África Subsaariana representar pouco mais de 10% da população mundial, 60% dos casos de infecção pelo HIV encontram-se concentrados nesta região (UNAIDS, 2004). Atualmente, o número de soropositivos na África subsaariana soma 25 milhões, sendo 13,3 das infecções registradas apenas em mulheres. Em 2004, foram observados 3,1 milhões de novos infectados e 2,3 milhões de óbitos por Aids. A prevalência do HIV/Aids na África subsaariana é de 7,4, média significativamente superior à de outras regiões no mundo (UNAIDS, 2004).

**Mapa 1: Número de casos de HIV registrados mundialmente em adultos e crianças até o fim de 2004**



Fonte: <http://www.unaids.org>: Aids epidemic update: December, 2004

**Mapa 2: Número de novos casos de HIV registrados mundialmente em adultos e crianças no ano de 2004**



Fonte: <http://www.unaids.org>: Aids epidemic update: December, 2004

**Mapa 3: Número de óbitos devido à Aids em 2004**



Fonte: <http://www.unaids.org>: Aids epidemic update: December, 2004

### 1.1.1.2. A Epidemia de HIV/Aids no Brasil

Segundo dados divulgados pela UNAIDS (2004), o total de casos de HIV/Aids nas Américas<sup>1</sup> totaliza 3,14 milhões. Aproximadamente um terço dos casos de HIV/Aids relatados na América do Sul estão concentrados no Brasil, onde foram notificados 362,364 casos acumulados de Aids de 1980 ao início de 2004. Destes, pouco menos de 221 mil foram notificados em adultos do sexo masculino, aproximadamente 89 mil em adultos do sexo feminino e cerca de 10,500 em crianças menores de 13 anos. Estima-se, contudo, que o número de soropositivos no Brasil seja bastante superior, atingindo aproximadamente 600,000 infectados (PNDST/Aids, 2004).

A grande maioria (68,7%) dos casos de HIV/Aids ainda permanece concentrada nos grandes centros urbanos da região sudeste, porém as taxas de incidência, sobretudo na região sul e, até recentemente, na região centro-oeste, indicam que a epidemia continua a se alastrar em ritmo preocupante pelo país (Tabelas 1 e 2). Atualmente, a via de transmissão heterossexual constitui o principal modo de exposição ao HIV, sendo a grande responsável pelo aumento significativo da epidemia entre as mulheres. A transmissão sexual do HIV contribuiu com 86,9% de todos os casos de Aids notificados entre 1980 e 2003 em indivíduos acima de 13 anos do sexo feminino. A maior incidência dos casos de HIV/Aids em mulheres, sobretudo as mulheres mais jovens com baixo grau de escolaridade e mais baixa renda, acarreta num aumento das taxas de transmissão vertical do HIV: dos 10.577 casos de Aids observados em crianças menores de 13 anos de idade, 83,6% resultaram da transmissão perinatal do HIV.

**Tabela 1: Casos de Aids por região do Brasil e por ano de diagnóstico (1980-2004)**

Regiões	1980/1992	1994	1996	1998	2000	2002	2004	Total 1992-2004
Norte	580	352	503	717	778	1055	620	4605
Nordeste	4261	1615	2330	3091	2914	3390	1464	19065
Sudeste	41140	14260	18049	20257	16936	17398	7743	135783
Sul	5102	2802	4120	6025	6303	7004	2843	34199
Centro-Oeste	2196	1078	1418	1532	1600	1941	1174	10939

Fonte: Adaptado a partir de PNDST/AIDS-MS, 2004

<sup>1</sup> Inclui América do Norte, América Central e Caribe e América do Sul.

**Tabela 2: Taxa de incidência (por 100000 habitantes) de Aids por região do Brasil e por ano de diagnóstico (1993-2003)**

Regiões	1993	1995	1997	1999	2001	2003	Total 1993-2003
Norte	2,3	3,7	5,4	6,7	6,3	8,8	33,2
Nordeste	3,3	4,1	6	6,7	6,1	6,8	33
Sudeste	20,6	24	28	25,2	21,1	24,3	143,2
Sul	10,1	14,5	20,7	22,8	24,4	26,6	119,1
Centro-Oeste	9,3	12,5	15,6	12,1	13,7	19,9	83,1

Fonte: Adaptado a partir de PNDST/AIDS-MS, 2004

### 1.1.1.3. Mudanças no Perfil da Epidemia

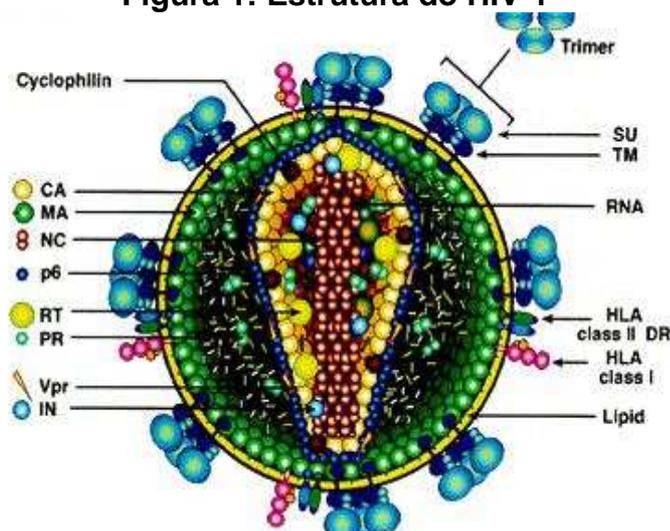
Os primeiros casos de Aids no Brasil foram relatados no início da década de oitenta em grandes centros urbanos (mais especificamente nas cidades do Rio de Janeiro e de São Paulo), atingindo indivíduos com alto grau de escolaridade, sobretudo homens que faziam sexo com homens (Castillo & Chequer, 1997; Bastos *et al*, 2000). Contudo, o perfil da epidemia mudou. De meados dos anos noventa em diante, vem observando-se a tendência de interiorização da epidemia de HIV/Aids a qual pode ser constatada, em geral, pelo aumento gradual dos casos de Aids notificados para as regiões norte, nordeste e centro-oeste ao longo dos anos. Verifica-se, também, um aumento nas taxas de incidência do HIV/Aids em municípios de médio e pequeno porte bem como em populações de baixa renda, sobretudo entre adolescentes e adultos jovens (< 30 anos). Dentre estes, o sexo feminino é o mais afetado; observa-se forte expansão da epidemia de HIV/Aids entre as mulheres – decréscimo da razão dos casos de Aids notificados entre os sexos – devido ao fato da via de transmissão heterossexual constituir, atualmente, a principal modalidade de exposição ao HIV (Diniz & Villela, 1999; Bastos *et al*, 2000; Brasil, PNDST/Aids-SVS/MS, 2004). Tais tendências – interiorização, pauperização, juvenização e feminização (Galvão, 2000) – da epidemia de HIV/Aids são observadas tanto em nível nacional quanto internacional.

## 1.1.2. A Biologia do HIV

### 1.1.2.1. Estrutura do HIV-1

O vírus da imunodeficiência humana (HIV-1), um retrovírus que pertence a família dos lentivirus, é formado por duas fitas simples de RNA genômico<sup>2</sup> que permanecem estáveis no “núcleo” viral (capsídeo) devido à sua associação às proteínas presentes no interior do mesmo (NC, p7). O capsídeo, formado por proteínas conhecidas como p24 (CA, p24), também aloja três importantes enzimas – transcriptase reversa (RT), protease (PR) e integrase (IN) – bem como um grupo de proteínas-acessório (Nef, Vif e Vpr). Estas enzimas e proteínas são essenciais à replicação, desenvolvimento e sobrevivência do vírus no organismo infectado. Uma matriz viral – composta pelas proteínas p17 (MA, p17) – sustenta o capsídeo. Esta matriz, por sua vez, é envolta pelo envelope viral, derivado da membrana celular do organismo infectado, formado tanto por proteínas humanas (incluindo proteínas das classes I e II do MHC) quanto por glicoproteínas específicas ao vírus. As principais proteínas que compõem o envelope são gp120 e gp41. As moléculas de gp41 estão presentes ao longo do envelope; já as moléculas de gp120 estão associadas (por ligações não-covalentes) às moléculas de gp41 e estendem-se para além do envelope viral (Figura 1). Estas duas proteínas são responsáveis por facilitar a entrada do vírus nas células-alvo (Kuby, 1997; Turner & Summers, 1999).

Figura 1: Estrutura do HIV-1



Fonte: <http://msl.cs.uiuc.edu>

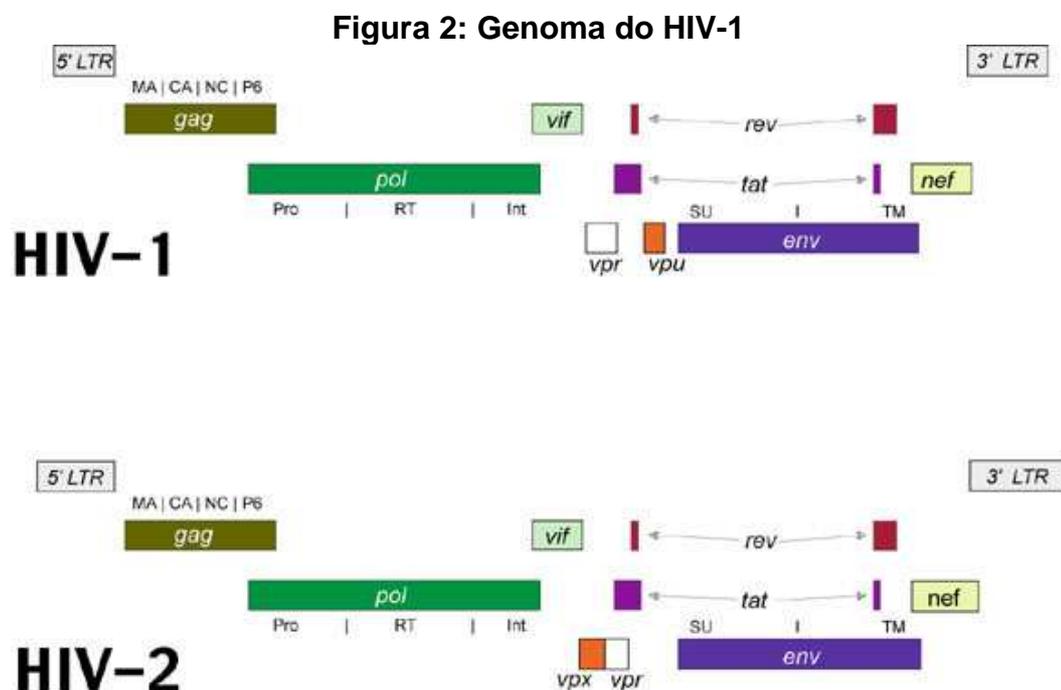
<sup>2</sup> “single-stranded, unspliced RNA”

### 1.1.2.2. O Genoma do HIV-1

O HIV possui, como todos os outros retrovírus, seqüências repetitivas em seu genoma denominadas de *long terminal repeats* (LTRs). Na região 5' da LTR, estão localizadas as seqüências do potencializador<sup>3</sup> e do promotor, essenciais à transcrição do vírus. Já a região 3' da LTR é necessária na poliadenilação dos transcritos de RNA. O HIV também possui três genes comuns a outros retrovírus, sendo estes *gag*, *env* e *pol*, onde *gag* codifica as proteínas do capsídeo, *env*, as glicoproteínas presentes na superfície do envelope e *pol*, as proteínas não-estruturais necessárias à replicação do vírus. Além destes três genes – *gag*, *env* e *pol* – o genoma do HIV-1 é composto por seis outros genes importantes, a saber:

- *vif* – fator de infectividade do vírus;
- *vpr* – proteínas virais;
- *tat* – transativador;
- *rev* – regulador da expressão das proteínas do vírus;
- *nef* – fator regulador negativo; e
- *vpu* – proteína viral U.

Destes genes, três – *tat*, *rev* e *nef* – codificam proteínas regulatórias que controlam a expressão dos genes estruturais *gag*, *env* e *pol* [Figura 2] (Kuby, 1997).



Fonte: [http://www.aids.harvard.edu/images/laboratories/figure\\_HIV1and2.jpg](http://www.aids.harvard.edu/images/laboratories/figure_HIV1and2.jpg)

<sup>3</sup> Original: *enhancer*.

### 1.1.2.3. Variabilidade Genética do HIV

O HIV é passível de sofrer enorme variação genética, com mutações genômicas ocorrendo a taxas infinitamente mais altas do que as observadas para o DNA humano. A taxa de mutação do HIV é, aproximadamente, 65 vezes maior do que a taxa de mutação do vírus da influenza, cuja alta variabilidade vem impedindo o desenvolvimento de uma vacina mais efetiva contra a gripe. A princípio, a diversidade observada nas seqüências de DNA do HIV se deve a operacionalidade da transcriptase reversa<sup>4</sup>, enzima extremamente suscetível a erros, capaz de gerar inúmeras substituições, adições e omissões de bases. Estima-se que de 5-10 erros sejam introduzidos no genoma do HIV a cada nova replicação do vírus.

A variação genética do HIV levou à existência de cepas pertencentes a grupos, subtipos e formas recombinantes circulantes (CRFs) diferentes<sup>5</sup>, que apresentam atividade biológica distinta. Atualmente três são os grupos oficialmente identificados para HIV-1: grupo M (*major group*), grupo O (*outlier*) e grupo N (*não-M, não-O*). Os dois últimos grupos permanecem restritos ao continente Africano, mais especificamente ao oeste da África. O grupo M, o principal dos três, encontra-se disseminado em todo o mundo. Foram identificados nove subtipos do HIV-1 para o grupo M, que diferem entre si em 27% da seqüência de nucleotídeos, sendo eles: subtipos A, B, C, D, F, G, H, J e K. Em nível global, o subtipo de maior prevalência é o subtipo C, seguido do subtipo B e suas variantes. O subtipo B, primeiro subgrupo identificado entre as cepas caracterizadas no início da epidemia, é o mais comum na América do Norte, na Europa e na Austrália. Este subtipo também predomina na América do Sul, porém, nesta região, os subtipos C e F são também freqüentemente encontrados. Especificamente no Brasil, observa-se a presença de cinco subtipos, sendo eles o subtipo B e sua “variante B” (o qual predomina no país), o subtipo C, o subtipo F, o subtipo D e, no Rio de Janeiro (e possivelmente Porto Alegre), o subtipo A. Encontram-se disseminadas, também, as formas recombinantes B/F e B/C (Fernandez, 2004).

---

<sup>4</sup> A alta variabilidade do HIV também pode ser atribuída a eventos de recombinação viral e a pressões geradas pelo sistema imune de cada indivíduo infectado e/ou por ARVs.

<sup>5</sup> São 15 as formas recombinantes circulantes (CRFs) conhecidas atualmente: CRF01\_AE; CRF02\_AG; CRF03\_AB; CRF04cpx; CRF05\_DF; CRF06\_cpx; CRF07BC; CRF08\_BC; CRF09\_cpx; CRF10CD, CRF11\_cpx; CRF12\_BF; CRF13\_cpx; CRF14\_BG e CRF15\_01B.

#### 1.1.2.4. O Ciclo de Replicação do HIV-1

O ciclo de replicação do HIV-1 ocorre em duas fases – fase inicial e fase avançada. A fase inicial é desencadeada pelo reconhecimento das células-alvo pelo vírus e envolve todas as etapas que levam ao processo de integração do genoma viral ao DNA da célula infectada. A fase avançada, por sua vez, se inicia a partir da expressão regulada do genoma integrado (hospedeiro-vírus) e envolve todas as etapas que se estendem desde o processo de brotamento (liberação do vírus da célula-mãe) à maturação do vírus [Figura 3] (Turner & Summers, 1999).

##### 1.1.2.4.1. Fase Inicial

###### 1.1.2.4.1 (a) Infecção das Células-Alvo pelo HIV

A entrada do HIV nas células-alvo ocorre em duas etapas: *ligação* do vírus aos receptores das células-alvo e  *fusão* do envelope viral com a membrana celular. A associação do HIV às células-alvo dá-se através da ligação das moléculas de gp120 aos receptores das mesmas. O principal receptor para HIV é CD4<sup>6</sup>. Uma vez que os linfócitos T<sub>H</sub> são as células que expressam os níveis mais altos de CD4 no corpo humano, tais células constituem o alvo principal do HIV (Figura 3).

###### 1.1.2.4.1 (b) Integração do Genoma Viral ao DNA da Célula Infectada

A ligação gp120/CD4 por si só não é suficiente para viabilizar a entrada do HIV nas células-alvo, sendo necessária também a fusão do envelope viral com a membrana celular do hospedeiro. Tal fusão é facilitada pelas proteínas virais, gp41<sup>7</sup>.

Uma vez internalizado, o capsídeo do HIV se desfaz liberando o RNA genômico que é, então, transcrito pela ação catalítica da transcriptase reversa, em DNA viral. Este DNA viral se integra ao DNA da célula-alvo formando um pró-vírus, processo mediado pela enzima integrase. Uma vez integrado ao DNA da célula-alvo,

---

<sup>6</sup> O HIV-1 demonstra uma afinidade à CD4, 25 vezes maior do que a afinidade do HIV-2 – variante do vírus – pelo mesmo receptor; isto pode explicar, em parte, a menor patogenicidade desta variante e sua mais baixa prevalência em nível global.

<sup>7</sup> Acredita-se que o processo de fusão envolve uma região hidrofóbica – denominada de “*domínio fusogênico*” – localizada próxima ao terminal N da gp41.

o DNA do pró-vírus é herdado, via mitose, pelas próximas gerações de células. Desta forma o pró-vírus é capaz de se proliferar rapidamente no hospedeiro, escapando à resposta do sistema imune do mesmo enquanto permanecer em estado de latência, estado em que seus genes não são expressos.

#### **1.1.2.4.2. Fase Avançada**

A ativação do pró-vírus tem início com a síntese de RNA de cadeia simples (ssRNA) e transcrição dos genes estruturais do HIV em RNA mensageiro (mRNA), o qual é então traduzido em proteínas virais essenciais à formação de novas partículas virais. A transcrição do DNA do pró-vírus em ssRNA e mRNA é catalisada pela ação da enzima RNA polimerase. Inicialmente, esta enzima liga-se ao promotor, localizado na região 5' da LTR do DNA viral. Contudo, a baixa afinidade deste promotor à RNA polimerase faz com que esta enzima dissocie-se, rapidamente, da fita de DNA viral após o início da transcrição, gerando apenas segmentos curtos de RNA. A síntese completa dos transcritos de RNA verifica-se apenas mediante a conversão do promotor – de um promotor fraco a um promotor totalmente funcional – o que ocorre quando a proteína regulatória Tat liga-se ao transcrito de RNA<sup>8</sup>. A ativação do pró-vírus por Tat se dá, portanto, quando tal proteína interage com uma seqüência curta<sup>9</sup> – denominada “elemento TAR” – do RNA transcrito de forma reversa, que se encontra no terminal 5' do mesmo. A ligação de Tat a este elemento – uma alça, localizada no RNA transcrito, com 59 nucleotídeos – não apenas incrementa a iniciação da transcrição, como também estabiliza o complexo formado pela RNA polimerase na medida em que se move ao longo da fita de DNA viral. A transcrição do DNA do pró-vírus resulta num RNA primário que é, por sua vez, fragmentado para gerar três mRNAs distintos. Estes são então transportados do núcleo ao citoplasma, onde são traduzidos em proteínas virais que são organizadas para formar novas partículas virais.

Uma vez formadas, as moléculas de HIV desprendem-se das células-mãe por brotamento (Figura 3). A eventual morte (por lise) das células infectadas resulta na

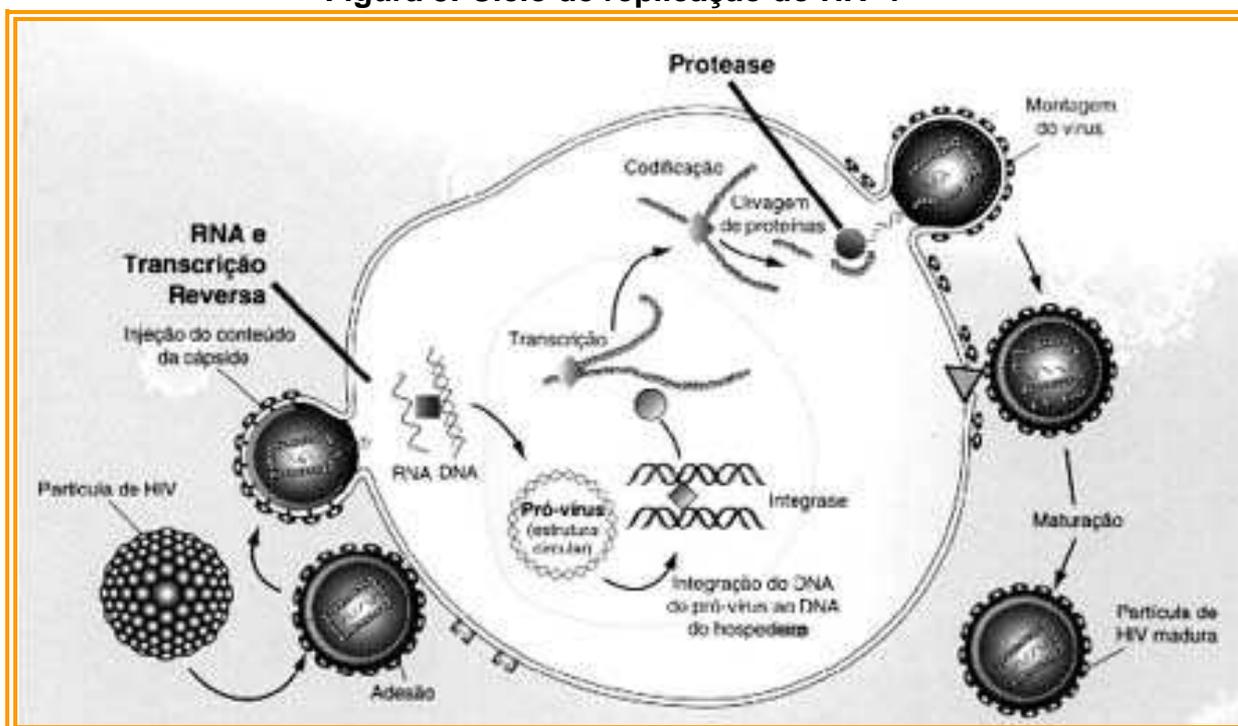
---

<sup>8</sup> Além da ação da Tat alguns fatores de transcrição celulares, tais como NF-kB, bem como diversos outros vírus (ex. HTLV-1, HBV, entre outros) podem também se ligar ao promotor do HIV, potencializando a transcrição do DNA do próviro, acelerando a progressão da doença.

<sup>9</sup> Seqüência de aproximadamente 59 nucleotídeos que formam uma estrutura “*stem-loop*”.

redução do número de linfócitos  $T_H$  e no concomitante aumento da carga viral do HIV no hospedeiro.

**Figura 3: Ciclo de replicação do HIV-1**



Fonte: <http://www.aids.gov.br>

### 1.1.2.5. A Imunologia do HIV

O processo de infecção pelo HIV é caracterizado por três estágios: a fase aguda, a fase crônica e a fase final de infecção. A fase aguda também é denominada de período de sorologia latente ou período de janela imunológica. Esta fase marca o início da infecção, em que apenas o RNA viral e antígenos específicos ao HIV são detectáveis no paciente. Nesta fase inicial, o organismo do indivíduo infectado ainda não produziu anticorpos anti-HIV em níveis e subtipos que permitam uma detecção eficaz. A fase aguda atinge seu ápice aproximadamente 6 semanas após a infecção, quando apresenta uma carga viral (RNA viral) alta e reduções significativas no número de células  $T_H CD4^+$  ( $< 500$  células/ $mm^3$ ) [Iweala, 2004]<sup>10</sup>.

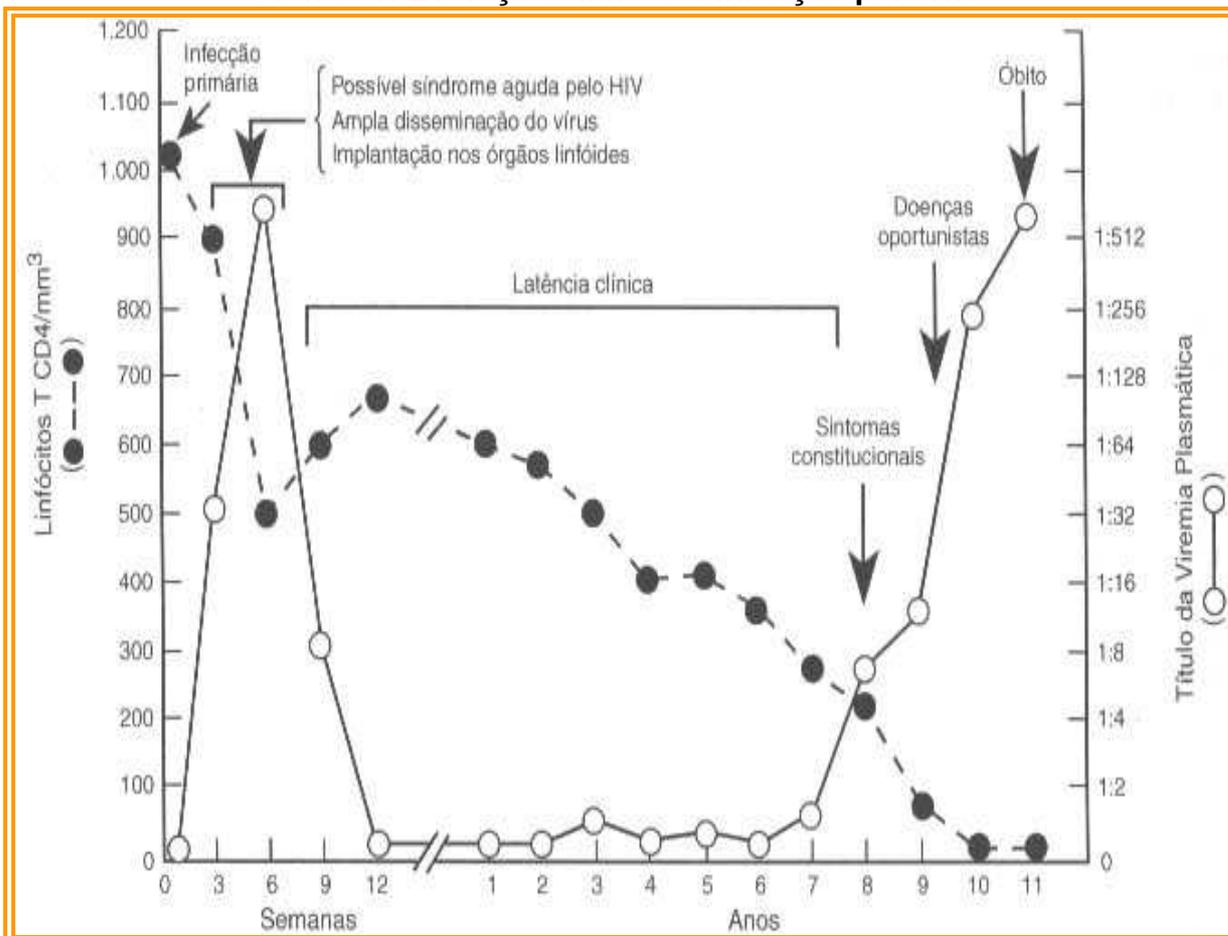
A detecção de anticorpos na corrente sanguínea do indivíduo infectado só se torna possível 6-8 semanas após a infecção, sendo improvável a não-detecção de anticorpos anti-HIV depois de três meses. O período em que o indivíduo infectado

<sup>10</sup> De acordo com as designações do CDC – Atlanta, GA/E.U.A, a contagem dos linfócitos  $T_H CD4^+$  num indivíduo não-infectado é de aproximadamente 1100  $T_H CD4^+$ / $\mu L$  sangue total.

passa a produzir anticorpos anti-HIV em níveis detectáveis é chamado de período de soroconversão e marca o início da próxima etapa de infecção, denominada de fase crônica. Esta fase se caracteriza por um aumento no número de anticorpos anti-HIV produzidos pelo paciente infectado e por uma conseqüente estabilização dos níveis de antígenos virais presentes na corrente sanguínea, o que resulta, conseqüentemente, numa redução gradual – e não mais drástica – do número de células T<sub>H</sub> CD4<sup>+</sup> (entre 200-500 células/mm<sup>3</sup>) [Iweala, 2004].

Já a fase final de infecção é caracterizada por uma redução considerável no número de células T<sub>H</sub> CD4<sup>+</sup> (< 200 células/mm<sup>3</sup>) e pela aparição de doenças oportunistas, o que marca a transição à condição clínica de imunodeficiência, mais conhecida como AIDS (Iweala, 2004). O Gráfico 1, abaixo, resume os diferentes estágios da evolução clínica da infecção pelo HIV.

**Gráfico 1: Evolução clínica da infecção pelo HIV**



Fonte: <http://www.geocities.yahoo.com.br/lapabtu>

## **1.2. Políticas Públicas, Tendências Tecnológicas e Alinhamento Estratégico de Bio-Manguinhos/FIOCRUZ na Área de Reativos para Diagnóstico**

### **1.2.1. Ciência, Tecnologia e Pesquisa em Saúde no Brasil**

A pesquisa em saúde enraizou-se no Brasil em fins do século XIX, com o estabelecimento de importantes Institutos de pesquisa<sup>11</sup>. Certamente a Fundação Oswaldo Cruz deve ser lembrada como marco da história da ciência brasileira que desde sua criação, com Instituto Soroterápico Federal em 25 de maio de 1900, vêm atuando com ênfase em Saúde Pública. A fase acadêmica da pesquisa brasileira culminou com a inauguração, em 1951, do Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq)<sup>12</sup>, primeiro órgão nacional de fomento para pesquisas. A partir de então, as atividades de pesquisa, ciência e tecnologia em geral, foram fortemente estimuladas pelo governo federal. No que diz respeito à pesquisa em saúde, acreditava-se que a produção de grandes inovações tecnológicas seria conseqüência de um acúmulo gradual de conhecimentos, o qual se daria através de um processo linear, em que a pesquisa básica seria o ponto de partida. Nas décadas subseqüentes, verificou-se uma crescente separação entre as atividades de pesquisa fundamental e as políticas nacionais de saúde pública o que, por sua vez, se traduziu num profundo distanciamento entre a temática da pesquisa e as necessidades básicas de saúde da população brasileira (Guimarães, 2004).

A alteração deste quadro se deu apenas recentemente, em 1994, durante a I Conferência Nacional de Tecnologia em Saúde, onde foram discutidas as bases para a elaboração de uma Política Nacional de Ciência e Tecnologia em Saúde e, dez anos mais tarde, seriam rediscutidas na II Conferência Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação em Saúde. A atual política tem como objetivo geral fomentar avanços na produção e disseminação de conhecimentos científicos, estimular o desenvolvimento tecnológico de caráter inovador e otimizar a absorção destes processos tanto pelo complexo industrial da saúde<sup>13</sup>, quanto pelos serviços de

---

<sup>11</sup> Entre eles o Instituto Butantã, o Instituto Adolfo Lutz (SP) e o Instituto Oswaldo Cruz (RJ).

<sup>12</sup> Atualmente, "Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico".

<sup>13</sup> Formado por três grandes componentes, a saber: Indústrias Químicas e de Biotecnologia (que englobam fármacos, vacinas, testes diagnósticos e hemoderivados); Indústrias Mecânicas, eletrônicas e de materiais (equipamentos, órteses e próteses e materiais de consumo); e organizações de prestação de serviços.

saúde (Guimarães, 2004). Entre as diversas estratégias traçadas para a consolidação da PNCT&I/S, encontra-se a elaboração de uma agenda nacional de prioridades para pesquisa e desenvolvimento tecnológico em saúde, visando um alinhamento entre as prioridades de pesquisa e as reais necessidades de saúde do país. A “Agenda Nacional de Prioridades de Pesquisa em Saúde” reconhece a necessidade da expansão da capacidade indutora do sistema de fomento científico e tecnológico na escolha racional e seletiva de projetos da área de saúde e de pesquisa em saúde. Desta forma, o estabelecimento de ações e/ou projetos de fomento contemplados como prioritários no âmbito da PNCT&I/S deve basear-se na relevância sócio-econômica dos mesmos sendo o mérito científico, tecnológico e ético, o quesito fundamental na garantia da qualidade e legitimidade das ações de P&D que serão financiadas pela sociedade.

Dada a enorme diversidade dos temas relacionados à saúde, a orientação das políticas de pesquisa em saúde se deu através da eleição de subagendas prioritárias para o desenvolvimento em ciência, tecnologia e inovação em saúde [CNS/MS, 2004]. Entre os focos elencados pelo Ministério da Saúde (MS) encontra-se o das Doenças Sexualmente Transmissíveis, com prioridade para o HIV/Aids, sobretudo no que tange ao desenvolvimento de novos métodos e procedimentos diagnósticos, especialmente os testes rápidos.

Agrega-se a todos estes aspectos de macro-políticas, o fato da recente promulgação da Lei de Inovação Tecnológica em 03/12/2004, pelo Presidente da República, Luiz Inácio Lula da Silva. "Certamente, o Brasil será outro daqui para frente, sobretudo na área de Ciência e Tecnologia. A inovação é a palavra-chave dos nossos tempos", salientou o presidente. A referida lei irá estimular a inovação no setor produtivo e promover o aumento de investimentos em CT&I por parte das empresas. Hoje, as Instituições públicas respondem por mais de 60% dos dispêndios nacionais em pesquisa de novas tecnologias. Cerca de 73% dos cientistas estão atuando nas Instituições públicas e apenas 11% nas empresas privadas. A Lei da Inovação vem mudar este quadro e incentivar a emancipação tecnológica do País, por intermédio de parcerias do Setor produtivo com as Instituições de pesquisa.

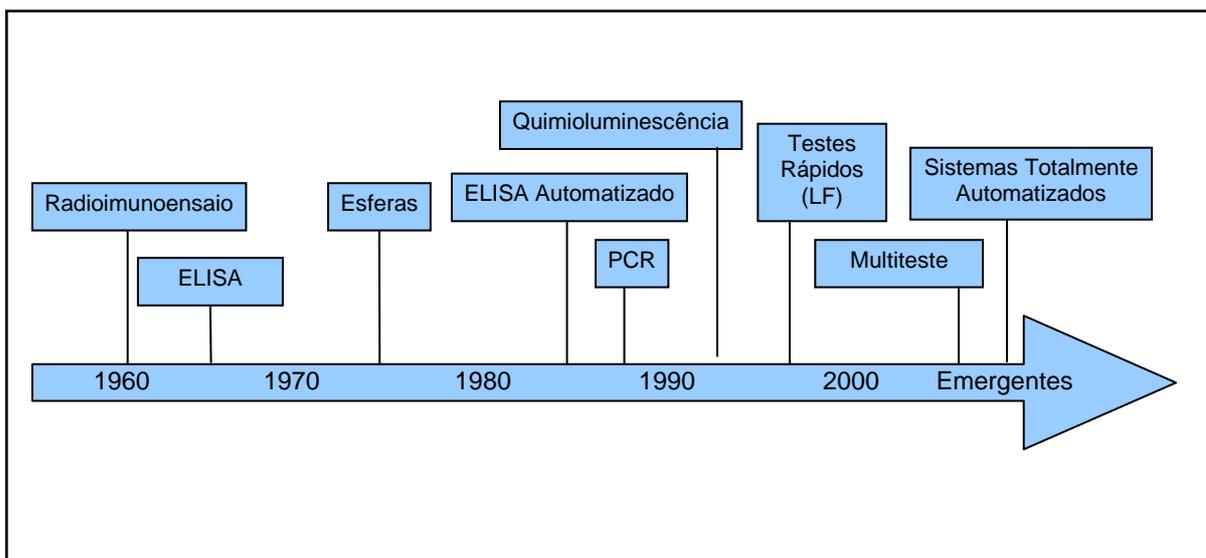
### 1.2.2. Tendências Tecnológicas

A tecnologia tem sido a chave facilitadora do crescimento da indústria de Reagentes para Diagnóstico Laboratorial *in vitro* ao longo dos últimos anos. Desde o desenvolvimento do Radioimunoensaio, na década de 60, a indústria tem sido um campo fértil para a inovação, e, o desenvolvimento de novas tecnologias, tem produzido grandes avanços na área diagnóstica. Uma representação esquemática (não exaustiva) da evolução das tecnologias ao longo das últimas décadas é mostrada na Figura 4.

Observa-se, neste contexto, a presença de diversos elementos que Rothwell (1992) denomina de “Modelo de Quinta Geração do Processo de Gestão da Inovação”, tais como: o forte relacionamento com os principais clientes (foco estratégico no cliente), a integração estratégica com fornecedores, a ocorrência de ligações horizontais (*joint-ventures*, alianças tecnológicas, pesquisa cooperativa e outras), a ênfase na flexibilidade e na velocidade de resposta dos demais fatores de competitividade, além de preço.

A característica deste setor, cuja trajetória tecnológica é caracterizada por Tidd *et al* (2001; p.113) como baseada nas ciências, aliada a estrutura oligopolista do mercado, onde grandes empresas atuam em um espaço altamente competitivo, tem determinado essa necessidade de inovar como fonte de vantagem competitiva e mesmo de sobrevivência. Verifica-se, portanto, forte ligação entre a evolução da ciência e as atividades de P&D das empresas. Os investimentos em P&D por essas grandes empresas situam-se em cerca de 10% de seu faturamento (Gadelha, 2002), o que tem permitido introduzir um grande número de inovações radicais. Tais inovações, no entanto, têm uso limitado em países em desenvolvimento devido à alta complexidade tecnológica, requerer o uso de equipamentos especiais que, por via de regra, apresentam um alto custo.

**Figura 4: Evolução das tecnologias de reagentes para diagnóstico laboratorial *in vitro***



Fonte: Adaptado de apresentação de Andrew Shepherd no Seminário “Painel de Especialistas em Reagentes para Diagnóstico” – Projeto Inovação em Saúde – Fiocruz - setembro 2003

Nesta perspectiva, as tendências em novos Reagentes para Diagnóstico Laboratorial estão voltadas, principalmente, para uma melhor orientação da conduta terapêutica com diagnósticos mais precisos, diferenciais e mais precoces das doenças, maior rapidez nos resultados, realização dos testes específicos nos próprios locais de atendimento de pacientes; associa-se a isto a redução dos custos e o aumento da eficiência visando maior facilidade para o processamento de grandes quantidades de testes, incluindo testes simultâneos para patologias diversas. Estes alvos estão sendo atendidos pelo desenvolvimento de reagentes baseados em plataformas de ensaios moleculares, testes rápidos, testes automatizados, *point of care*<sup>14</sup>, testes multiplex e testes genéticos. O Quadro 1 apresenta a relação entre as demandas do mercado e as plataformas tecnológicas utilizadas (Medeiros, 2004).

Vale ressaltar que ao se buscar um novo produto, deve-se utilizar os conhecimentos tecnológicos disponíveis mais avançados, assegurando a possibilidade de aplicação ou uso do produto e considerando, sobretudo, o aspecto custo-benefício.

<sup>14</sup> O conceito “Point of Care” refere-se a testes que são realizados e têm seu resultado revelado no próprio local.

**Quadro 1: Relação entre demandas de mercado e plataforma tecnológica**

<b>Demanda do Mercado</b>	<b>Plataforma Tecnológica</b>
Maior precisão no resultado, maior sensibilidade e especificidade.	Testes moleculares
Diagnóstico diferencial, maior especificidade	Testes moleculares, Testes rápidos
Diagnóstico precoce, maior sensibilidade	Testes moleculares, Testes rápidos, Testes genéticos
Resultado rápido	Testes rápidos
Facilidade de realização ( <i>in situ</i> )	Testes rápidos, <i>point of care</i>
Multi-diagnóstico (Multiplex)	Testes moleculares, Testes rápidos, Testes genéticos, testes envolvendo “Microarranjos” e nanotecnologias
Maior capacidade de processamento	ELISAs automatizados e SUMA-ELISA
Diagnóstico Não Invasivo (saliva, urina, coleta de amostras em papel filtro e uso de volumes mínimos de amostras)	ELISA, Testes rápidos

Fonte: Modificado a partir de: Medeiros,2004.

Uma outra tendência que tem sido observada é a de desenvolvimento de Reagentes para Diagnóstico Laboratorial de doenças virais. Com a indústria de diagnósticos *in vitro* alcançando a maturidade, as empresas estão agora olhando para o mercado de diagnósticos virais para alcançar lucros. As vendas de produtos para as áreas de microbiologia e virologia estão, atualmente, crescendo a uma taxa de 15% ao ano, representando este valor anual, o triplo do valor relacionado ao crescimento da indústria de diagnóstico *in vitro*, segundo relatório publicado na Clinical Reports (2001).

Merece realce ainda um novo conceito para o tratamento rápido de doenças infecciosas: O Teranóstico, que aproxima a terapia do diagnóstico. Segundo Picard *et al* (2002), “a crescente disponibilidade de testes rápidos e sensíveis de ácidos nucléicos para doenças infecciosas vai revolucionar a prática da medicina, reduzindo gradualmente a necessidade de métodos padrão baseados em cultura microbiológica, cujos resultados levam pelo menos dois dias. Teranóstico molecular em doenças infecciosas é um conceito emergente no qual ferramentas de biologia molecular são usadas para propiciar rápido (menos de uma hora), acurado e mais

*informativo teste diagnóstico, permitindo, então, uma melhor intervenção terapêutica nos pacientes e um melhor uso de antimicrobianos” (Picard et al 2002)<sup>15</sup>.*

### **1.2.3. Desenvolvimento e Produção de Reativos em Bio-Manguinhos**

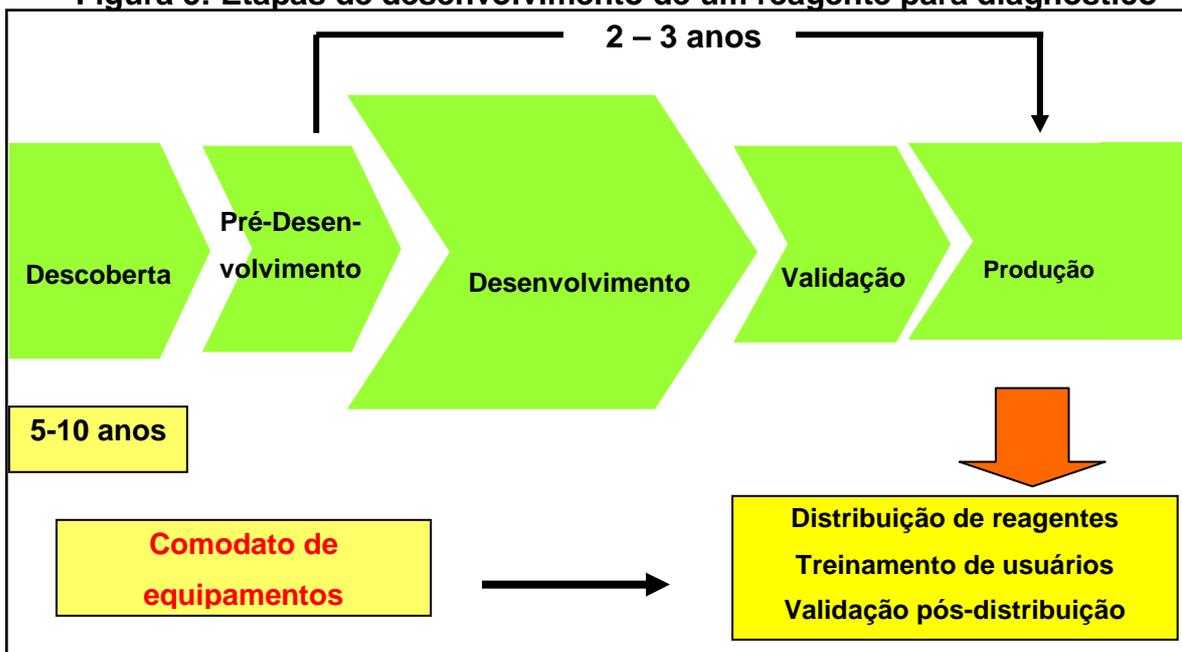
O desenvolvimento de um reagente para diagnóstico é significativamente mais barato e mais rápido do que o de uma vacina ou de um medicamento. O fato de não serem requeridos testes pré-clínicos e, principalmente, testes clínicos, reduz consideravelmente os investimentos necessários e reduz muito o tempo entre as fases de descoberta e de início do processo de produção. A etapa da descoberta científica e pré-desenvolvimento, cujas pesquisas, dependendo da complexidade, podem se estender por 5 a 10 anos ou mais. Nesta etapa são realizadas a caracterização do antígeno e a seleção e definição de métodos diagnósticos. A etapa seguinte do desenvolvimento tecnológico propriamente dito, pode demorar entre 2 e 3 anos, e deve ser realizada em laboratórios específicos, dotados de instalações validadas, equipamentos calibrados e mediante o uso de insumos certificados, e os requisitos de Boas Práticas de Laboratórios (BPL) devem ser adotados. Os parâmetros utilizados nesta fase são diferentes dos utilizados na pesquisa: Os profissionais de desenvolvimento tecnológico devem possuir experiência e competências diferentes do pesquisador, requerendo, além de formação específica, maior proximidade e “intimidade” com o processo de produção e com os usuários dos produtos<sup>16</sup>. Dentre as atividades específicas desta fase sobressaem-se: O estabelecimento do lote semente, o escalonamento e a consistência da produção, a estabilidade e a determinação da viabilidade econômica e tecnológica de produção. É, portanto, a fase onde se decide pela continuidade ou não do processo de desenvolvimento. A última fase antes do início do processo produtivo é a validação do produto, onde são avaliadas e validadas, de forma ampliada, as principais características básicas do produto, ou seja, a sensibilidade, a especificidade, a reprodutibilidade, a estabilidade e a avidéz. Nesta fase também é avaliada a adaptação do produto à rede de usuários-alvo, com objetivo de garantir as condições de implantação do produto. As etapas de desenvolvimento do produto estão representadas na Figura 5.

---

<sup>15</sup> Traduzido do original pelo autor.

<sup>16</sup> Conhecimentos tácitos sobre os processos de produção são de extrema utilidade para os profissionais que participam da fase de desenvolvimento de um produto.

**Figura 5: Etapas de desenvolvimento de um reagente para diagnóstico**



Fonte: Adaptado de apresentação de Akira Homma no Seminário “Planejamento Estratégico para a Área de Reativos”, realizado em Bio-Manguinhos em novembro 2003.

O processo de produção do reagente para diagnóstico deve atender as normas de Boas Práticas de Fabricação (BPF) - instalações adequadas e validadas, evitando cruzamento de fluxos de pessoal e materiais, equipamentos calibrados, validados e dedicados por linha de produção, insumos certificados, documentação do processo produtivo lote a lote (dossiês de produção), uso de procedimentos operacionais padronizados (POP) em todas as atividades relacionadas à produção, pessoal qualificado e permanentemente submetido a treinamentos entre outras. O produto deve estar registrado pela autoridade regulatória, que no Brasil é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Os lotes de produção devem ser submetidos obrigatoriamente a testes de controle de qualidade pelo produtor, por profissionais e em instalações independentes daquelas encontradas na área de produção e pela referida autoridade regulatória que, por sua vez, analisa os protocolos de controle de qualidade e de produção, além de realizar análises no Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. As instalações e procedimentos devem ser inspecionados regularmente pela ANVISA, para certificação do cumprimento dos requisitos mencionados acima.

O Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos – Bio-Manguinhos – é uma Instituição pública nacional que desempenha, no âmbito da Fundação Oswaldo Cruz

(FIOCRUZ)<sup>17</sup>, um papel estratégico na auto-suficiência brasileira em vacinas, reativos para diagnóstico e, mais recentemente, iniciou uma nova linha de atuação na área de biofármacos. Tendo como missão “*contribuir para a melhoria dos padrões de saúde pública brasileira, através da pesquisa tecnológica e da produção de imunobiológicos necessários para atender à demanda gerada pelo quadro epidemiológico do país*”, Bio-Manguinhos vem investindo intensamente em projetos de pesquisa e desenvolvimento (P&D) bem como na aquisição e incorporação de novas tecnologias para a produção, em escala industrial, de produtos capazes de suprir as demandas dos programas nacionais de saúde pública do Ministério da Saúde, tais como o Programa Nacional de Imunização (PNI) [Tabela 3], o Programa Nacional de Sangue e Hemoderivados, a Secretaria de Vigilância em Saúde (CGLAB/SVS) e o Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids (PNDST/Aids) [Tabela 4] {FIOCRUZ, 2004}.

**Tabela 3: Quantitativo de vacinas de Bio-Manguinhos para o PNI (doses X 1000)**

<b>Vacinas</b>	<b>1998</b>	<b>1999</b>	<b>2000</b>	<b>2001</b>	<b>2002</b>	<b>2003</b>	<b>2004</b>
<b>Tríplice Viral</b> (Sarampo, Cachumba e Rubéola); <b>Hemófilos tipo B;</b> <b>Difteria, Tétano, Pertussis e</b> <b>Hemófilos B;</b> <b>Sarampo;</b> <b>Meningite A/C;</b> <b>Poliomielite;</b> <b>Febre Amarela.</b>	<b>105832</b>	<b>119531</b>	<b>79983</b>	<b>52441</b>	<b>114641</b>	<b>71117</b>	<b>92920</b>

Fonte: Relatório Anual 2002 de Bio-Manguinhos (1999 a 2002) e Departamento de Relações com o Mercado (2003)

<sup>17</sup> Fundação autárquica do Ministério da Saúde.

**Tabela 4: Quantitativo de reativos para diagnóstico, em reações, distribuídos ao Ministério da Saúde**

<b>Patologia</b>	<b>1999</b>	<b>2000</b>	<b>2001</b>	<b>2002</b>	<b>2003</b>	<b>2004</b>
<b>Leishmaniose Humana</b>	<b>145320</b>	<b>189780</b>	<b>152510</b>	<b>133220</b>	<b>98710</b>	<b>162000</b>
<b>Leishmaniose Canina</b>	<b>1570000</b>	<b>1416000</b>	<b>1562000</b>	<b>1497136</b>	<b>1223584</b>	<b>1516000</b>
<b>Doença de Chagas</b>	<b>114768</b>	<b>123984</b>	<b>151272</b>	<b>136440</b>	<b>136728</b>	<b>64800</b>
<b>Leptospirose</b>	<b>40500</b>	<b>50700</b>	<b>49800</b>	<b>31872</b>	<b>47616</b>	<b>40800</b>
<b>Hanseníase</b>	<b>27770</b>	<b>660</b>	<b>2880</b>	<b>300</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Diarréias Virais</b>	<b>4080</b>	<b>6400</b>	<b>4880</b>	<b>2000</b>	<b>2800</b>	<b>880</b>
<b>HIV 1</b>	<b>84500</b>	<b>120384</b>	<b>143000</b>	<b>134500</b>	<b>173000</b>	<b>130000</b>
<b>Doenças Exantemáticas</b>	<b>13920</b>	<b>4000</b>	<b>6320</b>	<b>160</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Hepatite Viral</b>	<b>53580</b>	<b>75380</b>	<b>61060</b>	<b>103680</b>	<b>109440</b>	<b>172800</b>
<b>Insumos Virais</b>	<b>107</b>	<b>90780</b>	<b>46520</b>	<b>51260</b>	<b>60640</b>	<b>25000</b>
<b>Dengue</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>78720</b>	<b>166272</b>	<b>167424</b>
<b>Total</b>	<b>2054545</b>	<b>2078068</b>	<b>2180242</b>	<b>2169288</b>	<b>2018790</b>	<b>2666640</b>

Fonte: Relatório Anual 2002 de Bio-Manguinhos (1999 a 2002) e Departamento de Relações com o Mercado (2003).

Vale ressaltar que Bio-Manguinhos foi criado em 1976 para reunir as atividades de desenvolvimento tecnológico e produção, antes dispersas em áreas de pesquisa e ensino da FIOCRUZ. Neste contexto, Bio-Manguinhos aproveitou a experiência dos Laboratórios do Instituto Oswaldo Cruz, que vinham de forma artesanal fornecendo reativos para diagnóstico para os Laboratórios de Saúde Pública e, em 1982, iniciou as atividades produtivas de Reagentes para Diagnóstico

Laboratorial. O atendimento das demandas do Sistema Único de Saúde (SUS) nestes segmentos, dentro dos padrões tecnológicos e de qualidade requeridos, tem sido o objetivo maior de Bio-Manguinhos. Desde 1998, um novo modelo de gestão vem sendo implantado na Instituição. Dentre o conjunto de metas a serem empreendidas, Bio-Manguinhos “*deverá buscar a auto-sustentação econômica de suas atividades, competindo em termos de eficiência, de custos e qualidade com os demais agentes atuantes neste mercado*” (Fiocruz, 1997).

No que se refere a processos de transferência de tecnologia, Bio-Manguinhos possui uma extensa e antiga história que se iniciou em 1937 com a produção de vacina contra a Febre Amarela, seguida do estabelecimento das produções de vacinas contra o Sarampo e poliomielite, na década e 80. Mais recentemente, em fins de 1998, Bio-Manguinhos fechou o contrato internacional para transferência da tecnologia de produção da vacina contra *Haemophilus influenzae tipo b*.

Em 1999, com o início da produção e fornecimento desta vacina ao Programa Nacional de Imunizações (PNI), aliado ao aumento dos quantitativos produzidos pelo início das operações do novo Centro de Processamento Final de Vacinas (CPFV), a Unidade deu seus primeiros passos em direção a sua auto-sustentabilidade econômica, tendo suas receitas com o fornecimento de vacinas aumentado cerca de 3,25 vezes, e a produtividade líquida da mão-de-obra aumentada cerca de 133% em dois anos<sup>18</sup>. Além disso, esse processo de transferência de tecnologia e as novas instalações industriais representaram um novo patamar tecnológico e de qualidade para o Instituto, transformaram Bio-Manguinhos no maior produtor nacional e maior fornecedor do PNI e fizeram das vacinas a “âncora” dos negócios da Unidade. A partir daí, portanto, Bio-Manguinhos adquiriu proporções industriais de grande porte, permitindo inclusive o fechamento de um novo e grande acordo que prevê a incorporação das tecnologias de ponta para produção da vacina Tríplice Viral (Sarampo, caxumba e rubéola) que deverá consolidar ainda nossa posição de destaque no cenário nacional e internacional como produtor de vacinas. (Homma, 2003).

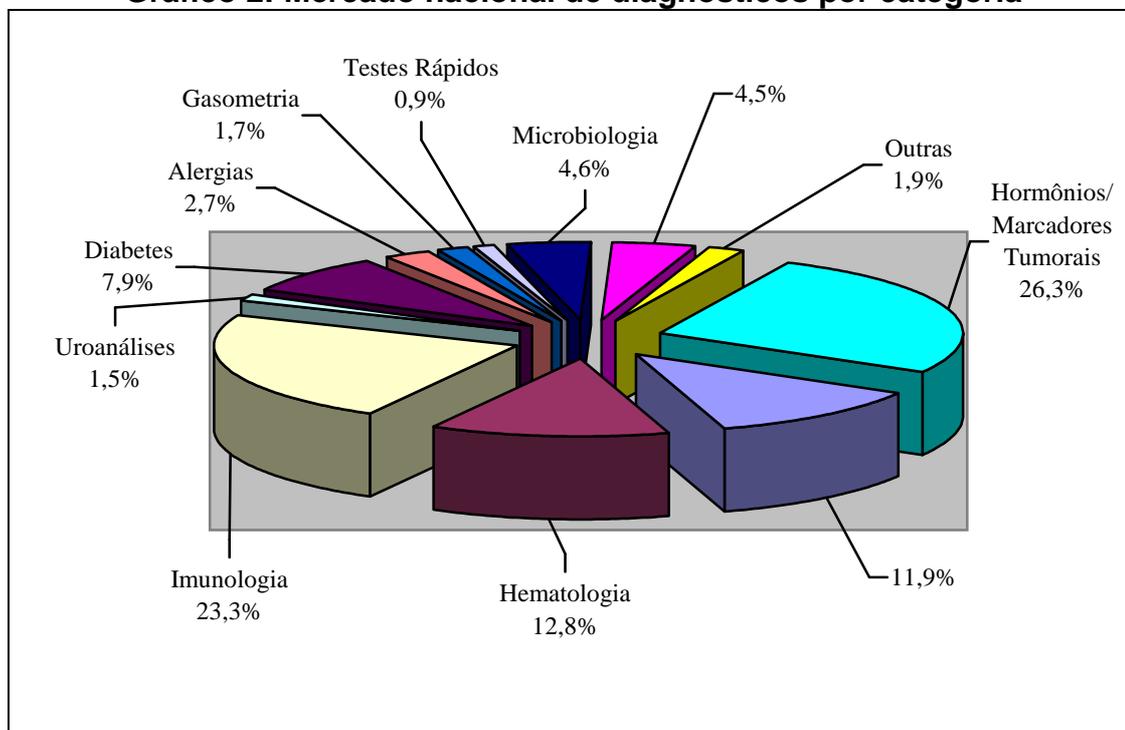
Na área de Reagentes para Diagnóstico Laboratorial o mercado nacional segue com domínio de grandes produtores multinacionais, com produtos de alto conteúdo tecnológico em todas as categorias, gerando um expressivo déficit no saldo da balança do comércio exterior no segmento. De 1997 à 2001 este déficit tem

---

<sup>18</sup> Para estes e outros indicadores, ver Relatórios de Atividades de Bio-Manguinhos a partir de 1998.

permanecido constante, entre US\$ 125 e US\$ 130 milhões anuais. No Gráfico 2 pode-se observar a distribuição do mercado nacional de acordo com as categorias de produtos.

**Gráfico 2: Mercado nacional de diagnósticos por categoria**



Fonte: adaptado de apresentação de Jorge Janoni no Seminário “Painel de Especialistas em Reagentes para Diagnóstico” – Projeto Inovação em Saúde – Fiocruz - setembro 2003

Estima-se que em 2002 este mercado tenha alcançado cerca de US\$ 350 milhões e que as cinco maiores empresas em vendas (Roche, Abbott, DPC, Bayer e Biomerieux) responderam por cerca de 54,3% deste total.

Algumas tendências podem ser observadas neste mercado: Na primeira delas, os grandes fornecedores devem oferecer, cada vez mais, pacotes completos aos laboratórios, incluindo o comodato de equipamentos, para dificultar a entrada de pequenos e médios fornecedores. Na segunda, as fusões e aquisições devem continuar acontecendo, onde as grandes redes de laboratório adquirem as menores para aumentar a sofisticação dos serviços, o volume de atendimentos, e o poder de barganha entre estes laboratórios de atendimento e processamento de testes. Já os laboratórios pequenos e médios tendem a se organizar em cooperativas para também aumentarem seu poder de barganha. Como terceira tendência, pode-se observar que os pequenos e médios laboratórios devem enviar cada vez mais os testes especiais para as grandes redes, mantendo apenas os testes de rotina. Por fim, a automatização das grandes redes para o processamento de grandes

quantidades de testes, incluindo aí os serviços de hemoterapia, permite que sejam realizados mais de 1500 atendimentos por dia.

De uma forma geral, observa-se que a competitividade dos produtores locais é cada vez menor. Apesar do grande parque de pesquisa instalado no país, não se verificam resultados que representem grandes avanços tecnológicos na área de saúde, demonstrado pela baixa capacidade de inovação das empresas deste segmento do Complexo Industrial de Saúde e pela explosão do déficit comercial (Gadelha, 2003).

A participação de Bio-Manguinhos na área de reativos para diagnóstico dá-se de forma complementar, atuando em áreas onde empresas privadas não possuem interesse, ou seja, no diagnóstico de doenças órfãs ou em apoio aos Programas prioritários de saúde pública.

Em Bio-Manguinhos, os investimentos foram pequenos e as políticas governamentais e institucionais não alcançaram esta área com a intensidade devida, a produção permaneceu em escala não industrial e ainda não satisfaz plenamente os requisitos contemporâneos de Boas Práticas de Fabricação (BPF) para produtos farmacêuticos, preconizados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Apesar da importante contribuição que os reagentes para diagnóstico laboratorial de Bio-Manguinhos vêm representando para alguns programas públicos de vigilância epidemiológica e assistência em saúde, e do grande potencial comercial existente no mercado público, a participação da Unidade neste mercado ainda é muito pequena. Bio-Manguinhos é o único produtor público em condições de estabelecer processos de produção de Reativos para Diagnóstico em maior escala, de possuir significativa competência nesta área e de ter seus produtos inteiramente desenvolvidos na FIOCRUZ ou em parcerias com outras Instituições nacionais. Em função disso, pode-se oferecer, com preços, portanto, muito menores. Verifica-se que os programas públicos estão valendo-se, cada vez mais, de produtos importados que dispõem de tecnologias mais avançadas.

Este quadro tem reflexo direto nos aspectos econômicos e tecnológicos do negócio de reagentes do Instituto. É nítido que Bio-Manguinhos, também na área de Reagentes para Diagnóstico Laboratorial, está transitando em um espaço onde a competitividade é fator crucial de sobrevivência do negócio. Assim, apesar do menor porte em relação ao negócio de vacinas, e da necessidade de manter em linha produtos de baixo valor comercial para atender demandas estratégicas de saúde

pública, onde a empresa privada não se interessa em atuar, é fundamental a adoção de práticas de gestão empresarial, que busquem igualmente uma estratégia própria de auto-sustentabilidade econômica e tecnológica. Esta, por sua vez, poderia também estar ancorada em processos de transferência de tecnologia de produtos estratégicos, de grande demanda e maior valor agregado, além de focar a absorção de tecnologias de ponta passíveis a serem aplicadas à obtenção de novos produtos, iniciando-se um ciclo virtuoso de desenvolvimento para a área de reativos, em Bio-Manguinhos.

Sem perder de vista seu foco estratégico – a melhoria das condições de saúde da população brasileira – ou o seu comprometimento em suprir as demandas prioritárias induzidas pelo Ministério da Saúde, Bio-Manguinhos vem buscando novas abordagens tecnológicas por meio de inovações incrementais tanto no desenvolvimento de novas vacinas e testes diagnósticos de importância estratégica para o país, como na absorção de novas plataformas de produção de vacinas e reativos já em uso e no aprimoramento dos produtos que integram a atual linha de produção. Para tanto, o acompanhamento dos novos avanços tecnológicos e das novas técnicas de biologia molecular nas áreas de virologia, bacteriologia, protozoologia e imunologia, bem como o estabelecimento de parcerias e alianças estratégicas formais com outros Institutos de pesquisa e/ou empresas transnacionais, tornam-se imprescindíveis. Visando a consolidação de uma gestão tecnológica que propicie parcerias e o desenvolvimento autóctone de produtos importantes para a saúde pública, a construção de uma infra-estrutura científica e tecnológica capaz de responder rapidamente às demandas emergenciais de novos produtos para a área de saúde e a formação de recursos humanos altamente capacitados, Bio-Manguinhos vem implementando novas bases institucionais<sup>19</sup> onde o desenvolvimento de novos produtos se dá através da gestão por projetos.

Neste contexto, através de parcerias e intercâmbios técnico-científicos com grupos nacionais de pesquisa e, mais recentemente, empresas internacionais, o Departamento de Reativos para Diagnóstico de Bio-Manguinhos vem assumindo projetos de alto impacto para a saúde pública brasileira e implantando novas plataformas tecnológicas através dos mesmos, sobretudo no que tange aos testes moleculares em tempo real e aos testes rápidos para diagnóstico simples e precoce de doenças transmissíveis prioritárias. Além de operar nestas bases inovadoras, o

---

<sup>19</sup> Esta construção implica na construção do denominado *Project Management Office*.

Departamento de Reativos mantém, ainda, suas linhas rotineiras de desenvolvimento e produção de outros testes diagnósticos para doenças endêmicas, preconizados nos algoritmos definidos pelo Ministério da Saúde. Atualmente, quinze projetos de desenvolvimento tecnológico são gerenciados e executados pelo Departamento de Reativos e quatro novos projetos estão previstos para futura implementação (Quadro 2). Nota-se que as prioridades para o desenvolvimento e a produção de reativos para diagnóstico em Bio-Manguinhos/FIOCRUZ, encontram-se absolutamente alinhadas às prioridades governamentais, definidas pela recém-consolidada PNCT&I/S.

**Quadro 2: Projetos novos e em andamento do Departamento de Reativos para Diagnóstico de Bio-Manguinhos, por patologia-alvo, 2004**

PATOLOGIAS ALVO	PROJETOS
HIV	Transferência e absorção da tecnologia de fluxo lateral e imunocromatografia para a nacionalização da produção de testes rápidos para diagnóstico do HIV-1 e HIV-2
	Desenvolvimento de metodologia alternativa para a quantificação da carga viral do HIV-1.
	Desenvolvimento de insumos (conjugados) para imunofenotipagem e quantificação de CD3/CD4/CD8 por citometria de fluxo em amostras de indivíduos infectados pelo HIV.
	Desenvolvimento da metodologia de <i>Western Blot</i> para confirmação sorológica da infecção pelo HIV-1.
	Desenvolvimento de metodologia (NAT) para a detecção de ácido nucléico do HIV e HCV para ser utilizada em serviços de hemoterapia do país.
LEISHMANIOSE	Desenvolvimento de <i>Kit</i> imunoenzimático (EIE) utilizando antígenos recombinantes.
	Padronização e controle de qualidade do método de produção de antígeno para intradermo reação de Montenegro.
	Desenvolvimento de Testes Rápidos para diagnóstico de Leishmaniose Canina.
	Teste de Aglutinação Direta (DAT) para Leishmaniose Visceral Americana (LVA).
LEPTOSPIROSE	Desenvolvimento de <i>Kit</i> imunoenzimático (EIE) utilizando antígenos recombinantes.
	Desenvolvimento de <i>Kit</i> para captura de antígenos.
	Desenvolvimento de Testes Rápidos para diagnóstico de leptospirose.
DENGUE	Desenvolvimento de <i>Kit</i> de imunofluorescência (IFI) para a caracterização de isolados dos vírus Dengue.
	Desenvolvimento de <i>Kit</i> imunoenzimático (EIE) para detecção de IgG de Dengue.
	Estabelecimento de metodologia de PCR em tempo real para identificação molecular qualitativa e quantitativa dos vírus Dengue.
	Expressão de proteínas recombinantes para desenvolvimento de <i>Kit</i> (enzimático ou PCR em tempo real).
HEPATITES VIRAIS	Aprimoramento do <i>Kit</i> de Hepatite B
DIARRÉIAS VIRAIS	Estabelecimento de um ensaio imunoenzimático (EIE) para a detecção de rotavirus, adenovirus e astrovirus em amostras fecais
HTLV	Desenvolvimento de <i>Kit</i> de Imunofluorescência (IFI) para HTLV I e HTLV II.

Fonte: FIOCRUZ, Bio-Manguinhos. Departamento de Reativos para Diagnóstico, 2004.

Além disso, Bio-Manguinhos participa efetivamente das políticas e ações coordenadas pela FIOCRUZ na área de desenvolvimento tecnológico. Em sua “chamada” por projetos relacionados à área de reativos para diagnóstico, o Programa de Desenvolvimento Tecnológico de Insumos em Saúde, mais conhecido como PDTIS, é o melhor exemplo da articulação de Bio-Manguinhos na identificação das linhas estratégicas a serem fomentadas por este programa. Desta forma, foram escolhidos 34 projetos de pesquisa aplicada, absolutamente alinhados aos interesses e prioridades de Bio-Manguinhos. Os resultados efetivos destes projetos serão inicialmente avaliados e aproveitados por Bio-Manguinhos visando à obtenção de novos produtos de diagnóstico, a serem ofertados à sociedade.

Dentre os principais projetos de desenvolvimento para testes diagnósticos em Bio-Manguinhos, sobressaem-se àqueles voltados para a detecção do vírus da imunodeficiência humana (HIV), causador da AIDS, por seus impactos econômicos, tecnológicos e de alcance social. O diagnóstico rápido, simples, e de fácil acesso torna-se, portanto, imprescindível no pronto encaminhamento de indivíduos com testes positivos ao tratamento médico. Dado o atual contingente de soropositivos no Brasil e no mundo, os testes laboratoriais quantitativos e qualitativos utilizados no monitoramento da infecção, como os testes para a quantificação da carga viral e dos níveis de CD4 no indivíduo, são de suma importância na determinação de um esquema adequado de tratamento o que, por sua vez, poderá resultar num aumento da sobrevida e da qualidade de vida dos pacientes vivendo com HIV/Aids.

Em sua proposta, no âmbito da PNCT&I/S, para o desenvolvimento científico e tecnológico em DST/HIV/AIDS, o Programa Nacional de DST/Aids (PNDST/Aids) identificou como projetos de foco e financiamento prioritário o desenvolvimento de testes diagnósticos<sup>20</sup> para: a) a quantificação da carga viral do HIV; b) a imunofenotipagem e quantificação de CD3/CD4/CD8; c) confirmação sorológica da infecção pelo HIV (*Western Blot*); e d) testes rápidos para o diagnóstico dos tipos 1 e 2 do HIV. Todos estes testes estão sendo desenvolvidos e produzidos pelo Departamento de Reativos para Diagnóstico de Bio-Manguinhos e constam como projetos prioritários do Departamento, considerando, especialmente, seus impactos para a saúde pública.

---

<sup>20</sup> Testes alternativos aos já disponíveis no mercado privado (nacional e internacional), de alta eficácia e fornecidos a preços competitivos.

### 1.3. Testes de Diagnóstico

De uma maneira geral, os *kits* para diagnóstico utilizam reações químicas, bioquímicas, imunológicas ou biológicas “*in vitro*”, para obter resultados de apoio às avaliações clínicas em pacientes. O objetivo principal dos testes diagnósticos é a detecção precoce de infecções, capaz de reduzir o período de janela imunológica e contribuir para o pronto tratamento do paciente. Há também testes diagnósticos que visam estabelecer, por exemplo, como no caso do HIV, o grau de infecção em seus diferentes estágios de evolução. Estes testes são de grande relevância para a vigilância epidemiológica no que se refere às estimativas de incidência da patologia em dado subgrupo populacional. Seja qual for o teste em questão e seu propósito principal, todos os testes diagnósticos possuem características básicas que determinarão sua qualidade e terão influência decisiva nos resultados obtidos. Essas características diferenciam os produtos e em alguns casos determinam sua aplicação. O Quadro 3 define estas características e detalha sua importância para o produto.

Os diferentes tipos de testes diagnósticos específicos para HIV podem detectar tanto os anticorpos produzidos pelo organismo infectado em resposta à proliferação do vírus, quanto os antígenos (proteínas ou ácido nucléico) virais presentes na amostra coletada do paciente. A amostra preferencialmente utilizada nos testes diagnósticos para HIV provém de soro, plasma ou sangue total, uma vez que testes com base sorológica permitem não apenas a detecção do HIV no indivíduo sendo testado, como também a diferenciação entre o tipo de vírus (HIV-1 e/ou HIV-2), os subgrupos virais (no caso do HIV-1, sobretudo no que tange aos subtipos do grupo M) e a determinação da carga viral no paciente soropositivo bem como sua resposta à terapia anti retroviral (ARV). Também estão disponíveis testes diagnósticos que utilizam amostras derivadas de saliva ou urina para a triagem do HIV.

**Quadro 3: Características básicas de um reagente para diagnóstico**

Característica	Importância
Sensibilidade	Quanto maior a sensibilidade, menor a possibilidade de obtenção de resultados “falso negativos”, porém quase sempre é menor a especificidade.
Especificidade	Quanto maior a especificidade, menor a possibilidade de obtenção de resultados “falso positivos”, porém quase sempre é menor a sensibilidade.
Reprodutibilidade	Obtenção de características homogêneas entre os diversos lotes de produção e/ou obter resultados similares por diferentes usuários e laboratórios.
Repetitividade	Apresentar resultados com variações mínimas e dentro de faixas aceitáveis em vários ensaios simultâneos.
Estabilidade	Maior estabilidade térmica, química e biológica do produto influencia positivamente o seu prazo de validade e as condições de armazenamento.
Simplicidade	Facilidade de realização, leitura e interpretação do teste pelo usuário.
Avidez	Maior interação entre antígeno e anticorpo - melhor desempenho do imunodiagnóstico.
Resultado Rápido	Propiciar uma intervenção terapêutica mais rápida.

Fonte: Modificado a partir de: Medeiros, 2004

### 1.3.1. Metodologias e Técnicas

As metodologias e técnicas utilizadas para o diagnóstico de doenças infecto-contagiosas, estão amplamente difundidas em várias publicações científicas. No entanto, a seguir será apresentado uma abordagem sumária sobre os testes de diagnóstico, mais comumente utilizados nos laboratórios de diagnóstico da rede pública, com o objetivo de recapitular os princípios metodológicos envolvidos.

Os principais testes de diagnóstico laboratorial atualmente em uso podem ser divididos, de uma forma geral, em três grupos: 1 - os convencionais, em geral de menor conteúdo tecnológico, uso mais simples, menor preço e, por conseguinte, usados em maior escala, como a Aglutinação, a Imunofluorescência e o ELISA. Ainda neste grupo enquadram-se os ensaios *Western Blot* e *Dot Blot*, que, no entanto, possuem maior conteúdo tecnológico, custo e complexidade de produção e realização; 2 – os testes rápidos, de tecnologias mais recentes, são de utilização

simples, leitura fácil e, dependendo de seu tipo e finalidade, com grandes variações de preços, e 3 – ensaios moleculares, de alto conteúdo tecnológico, geralmente de maior sensibilidade, exigindo equipamentos especiais para sua utilização, preços altos e, por isso, utilizados em pesquisas e para testes especiais ou em testes confirmatórios. A seguir são detalhadas as características principais de cada uma destas tecnologias, a saber:

Nas técnicas de Aglutinação, Imunoprecipitação e Floculação o antígeno é particulado e o anticorpo apresenta ligações cruzadas com essas partículas devido às interações específicas entre antígeno e anticorpo, quando a amostra é positiva. O procedimento é manual, sem uso de equipamentos, a observação visual é de fácil interpretação, porém subjetiva nas amostras que reagem fracamente. Por sua simplicidade e baixo custo é defendida como opção para a aplicação em saúde pública por alguns profissionais da área.

A metodologia de Imunofluorescência compreende um procedimento em que as reações antígeno-anticorpo podem ser observadas por microscopia através da utilização de um anticorpo (específico ou não) marcado com um corante fluorescente. Os complexos imunes contendo estes anticorpos marcados com fluorescência podem ser detectados pela emissão de luz colorida quando excitadas por uma luz de comprimento de onda apropriado. A luz emitida pode ser vista com o auxílio de um microscópio de fluorescência equipado com uma fonte de luz ultravioleta. Os corantes podem ser conjugados à uma molécula de anticorpo sem afetar a sua especificidade. A coloração do anticorpo fluorescente pode ser direta ou indireta. Na coloração direta, o anticorpo específico é conjugado diretamente com a fluoresceína, na coloração indireta um segundo anticorpo (anti-anticorpo) é marcado com a fluoresceína. A coloração da imunofluorescência indireta tem duas vantagens sobre a coloração direta. A primeira delas é que o anticorpo primário não necessita estar conjugado e a segunda é que os métodos indiretos aumentam a sensibilidade da coloração porque as moléculas múltiplas do reagente fluorocromo ligam-se a cada molécula do anticorpo primário, aumentando a quantidade de luz emitida no seu local de ligação.

É muito utilizado no diagnóstico de antígenos virais (vírus respiratórios, raiva, HIV), em secreções ou células do paciente, assim como no diagnóstico de Doença de Chagas e Leishmaniose. É uma técnica altamente sensível e específica, permite um resultado em poucas horas e de fácil realização. A interpretação é considerada,

em geral, subjetiva em amostras que reagem fracamente e depende da experiência do observador.

Já a técnica de Ensaio Imunoenzimático (EIE ou ELISA) utiliza anticorpos marcados com a enzima peroxidase ou fosfatase alcalina para detectar a reação antígeno-anticorpo. Ao serem adicionados o substrato dessas enzimas e um cromógeno, há a formação de um produto colorido, cuja intensidade pode ser medida espectrofotometricamente. É uma técnica sensível, específica e de fácil interpretação. Os testes podem ser desenvolvidos tanto para a detecção e a quantificação de anticorpos como para a quantificação de antígenos presentes nas amostras de soro ou plasma. Existem vários tipos de ELISA, entre eles: o ELISA indireto, o ELISA sanduíche e o ELISA competitivo.

No caso da técnica de *Western Blot*, uma mistura de proteínas antigênicas é separada por eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de um agente desnaturante. As bandas de proteína separadas são transferidas para uma membrana de nitrocelulose também por eletroforese. A membrana é cortada em tiras que são utilizadas para a reação de imunodiagnóstico, como um teste de Elisa. É muito sensível e utilizada como teste confirmatório. A observação é visual. O fator limitante é o custo elevado desse teste.

No Teste Rápido (técnica *Lateral Flow*) todos os componentes do sistema (solução tampão, anticorpo e conjugado) são forçados a migrar em sentido lateral por cromatografia, passando pelo antígeno que se encontra fixo. O complexo antígeno-anticorpo é revelado por um conjugado de proteína A marcada com ouro coloidal, que se agrega também ao complexo deixando-o visível (corado). O procedimento é manual e é realizado em dispositivo específico, com observação visual e de fácil interpretação. O resultado é obtido em, aproximadamente, cinco minutos. O fator limitante deste teste é o seu custo, ainda elevado.

Por fim, no Teste Molecular – PCR (*Polymerase Chain Reaction*), emprega-se o princípio da hibridização de ácido nucléico. Uma fita simples de DNA se hibridizará através de pontes de hidrogênio com outra fita simples do DNA (ou RNA) que tenha seqüência de bases complementares. O princípio da reação de hibridização consiste em “produzir-se” sondas, que são seqüências complementares ao DNA ou RNA alvo, marcado com radioisótopos ou enzimas específicas e posterior revelação do ácido nucléico pesquisado. A técnica de PCR constitui no maior avanço da biologia molecular desde o advento da tecnologia do DNA recombinante. Ela permite que uma simples cópia de qualquer seqüência do gene seja amplificada *in vitro* em

milhões de cópias em poucas horas. Então, o DNA viral extraído de uma quantidade muito pequena de virions ou células infectadas pode ser amplificado ao ponto em que ele pode ser detectado por ensaios de hibridização. Mais ainda, o PCR pode ser modificado para a detecção de RNA, incorporando um passo preliminar no qual a transcriptase reversa é usada para sintetizar o DNA através do RNA. Esta técnica tem alta sensibilidade devido à amplificação exponencial da fita de DNA e é altamente específica devido à especificidade do *primer*. As desvantagens, além do alto custo, são que pequenas quantidades de possíveis contaminantes podem levar a resultados falso-positivos e também que a presença de inibidores da reação de PCR podem resultar em resultados falso-negativos.

### **1.3.2. Testes de Diagnóstico Sorológico para HIV**

#### **1.3.2.1. ELISA**

A grande maioria dos ensaios imunoenzimáticos voltados para a detecção de anticorpos anti-HIV são do tipo indireto, mas encontramos também alguns produtos que empregam a metodologia de ELISA competitivo. Os ELISA são amplamente utilizados na triagem sorológica em Serviços de Hemoterapia ou ainda como testes preliminares ou iniciais quando existe a finalidade de diagnóstico. A possibilidade de automação, ampliando sua capacidade de testar um grande número de amostras e o baixo custo, sem dúvidas são as principais vantagens desta metodologia.

##### **1.3.2.1.1. ELISA Indireto**

Esta técnica permite a detecção de anticorpos anti-HIV nas amostras testadas. Amostras de soro ou plasma supostamente contendo os referidos anticorpos, são adicionadas aos orifícios das placas, onde os antígenos específicos do HIV encontram-se adsorvidos. Caso a amostra contenha, de fato, anticorpos anti-HIV, estes associam-se aos antígenos presentes na placa. Um anti-anticorpo conjugado a uma enzima específica é adicionado às placas, associando-se ao complexo anticorpo-antígeno. Em seguida, um substrato da enzima presente nas placas é adicionado e a interação substrato-enzima gera um produto cuja ação sobre uma substância cromogênica fornece uma coloração típica cuja intensidade é

medida e utilizada para determinar, comparativamente com um padrão, a presença dos anticorpos anti-HIV nas amostras testadas.

#### **1.3.2.1.2. ELISA Competitivo**

O ELISA competitivo representa, ainda, outra variação utilizada na detecção de anticorpos. Neste ensaio promove-se uma competição entre os anticorpos anti-HIV presentes na amostra a ser testada e uma pequena quantidade de anticorpos anti-HIV marcados com a enzima fosfatase alcalina ou peroxidase. Caso não haja anticorpos anti-HIV na amostra (negativa), a pequena quantidade de anticorpos conjugados se ligarão ao antígeno, possibilitando o aparecimento de cor na revelação do teste. Por outro lado, caso existam anticorpos anti-HIV na amostra, estes se combinarão aos antígenos específicos presentes na fase sólida, evitando a ligação dos anticorpos conjugados. Desta forma, a ausência de cor indica que a amostra é positiva.

Os testes de ELISA, cuja sensibilidade e especificidade devem ser mantidas acima de 99%, ainda exigem a realização de testes complementares tais como Imunofluorescência, *Imunobloting* ou *Western Blot*, antes que possam ser divulgados, visando minimizar os resultados falso-positivos informados aos pacientes e às autoridades de vigilância epidemiológica.

#### **1.3.2.2. Imunofluorescência – IFI**

As células infectadas pelo HIV, fixadas em lâminas de microscópio, são, inicialmente, incubadas com o soro ou plasma que se deseja testar. Numa segunda etapa, utiliza-se uma anti-imunoglobulina humana conjugada a um fluorocromo (Isotiocianato de fluoresceína). A presença dos anticorpos anti-HIV da amostra teste é revelada por meio da observação de fluorescência observada através de microscópio apropriado. Atualmente, a grande maioria dos laboratórios da rede pública do Brasil (cerca de 130 Instituições) utiliza a metodologia de IFI para a confirmação sorológica da infecção pelo HIV, o que representa uma economia significativa para os cofres públicos (ver Quadro 4), uma vez que os outros ensaios complementares (WB e IB) são importados e de alto custo.

**Quadro 4: Impacto econômico com o uso do Kit “IFI HIV-1 Bio-Manguinhos” na rede pública brasileira**

Preço Bio-Manguinhos	Preço do Concorrente (WB ou IB)	Consumo Anual	Economia Anual (valores aproximados)
R\$3,95/reação	R\$105,00/reação	160000 reações	<b>R\$ 17 milhões</b>

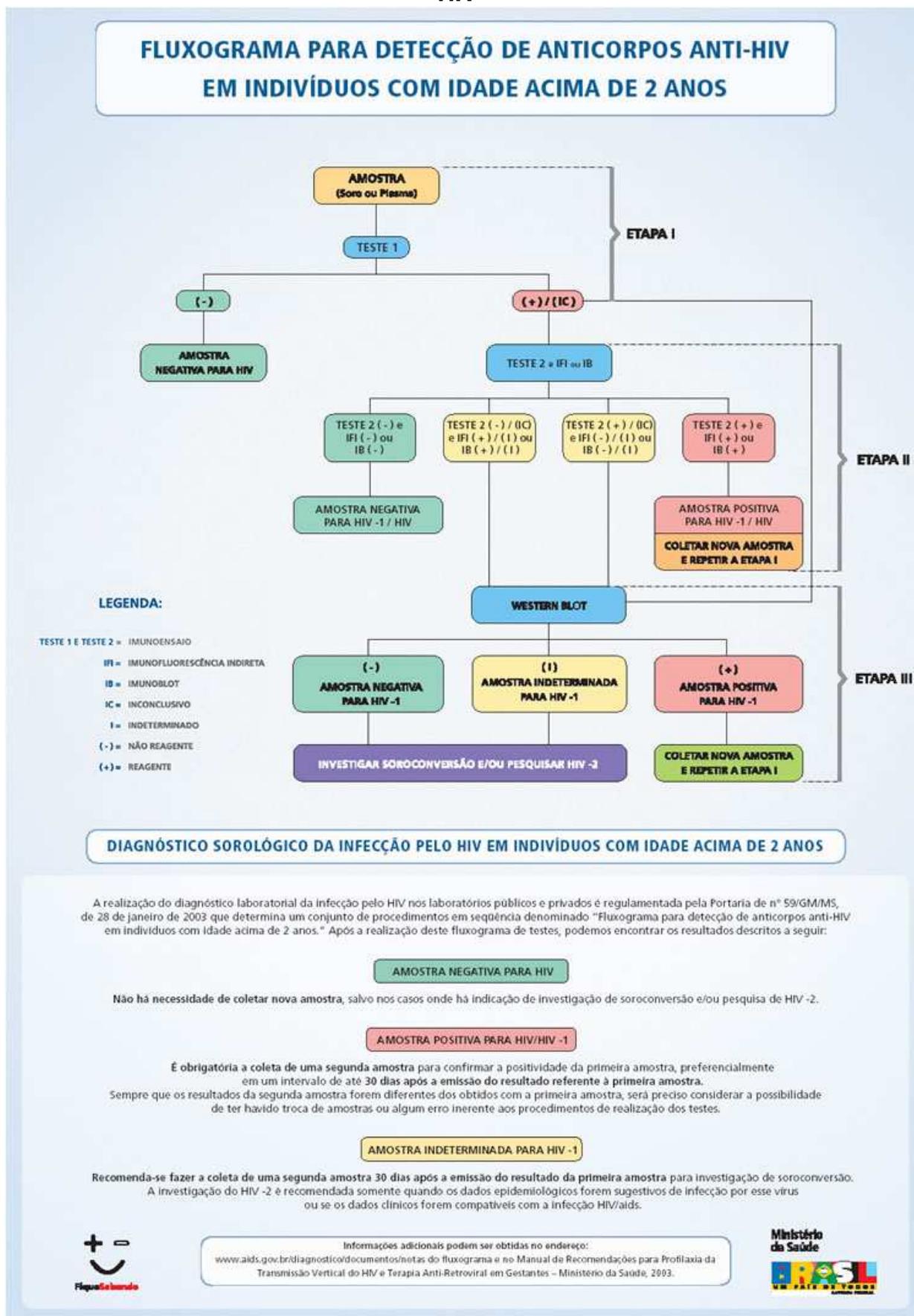
Elaborado pelo autor, 2004.

### 1.3.2.3. *Western Blot* (WB) e *Imunoblot* (IB)

Os ensaios de *Western Blot* são utilizados como testes confirmatórios para a infecção por HIV devido a sua capacidade de discriminar a reatividade dos anticorpos contra os diversos antígenos de HIV. Partindo-se de culturas celulares infectadas pelo HIV, seguido de processos de concentração e purificação de proteínas é originado um extrato contendo todas as proteínas de importância do HIV-1 tais como: p17, p24, p31, gp41, p51, p55, pg65, gp120 e gp160. O ensaio envolve inicialmente a separação das proteínas virais por eletroforese desnaturante, em gel de poliacrilamida, seguida da transferência eletroforética dos antígenos para uma membrana de nitrocelulose. Posteriormente, a membrana é bloqueada com outras proteínas que são adsorvidas por sítios não ocupados pelos antígenos virais e a mesma é colocada em contato com o soro que se deseja testar. As reações antígeno-anticorpo são detectadas por meio de uma reação com anti-imunoglobulina humana, conjugada normalmente a peroxidase ou fosfatase. A ação desta enzima, geralmente, sobre o peróxido de hidrogênio, gera O<sub>2</sub> que, atuando sobre um cromógeno, gera um produto corado no local das bandas antigênicas, permitindo, desta forma, a observação visual das frações polipeptídicas que reagiram. Alguns ensaios semelhantes ao “*Western Blot*” foram desenvolvidos e denominados como *Imunoblot*. Nestes casos, são utilizadas diferentes fontes de antígenos de HIV purificados, recombinantes ou sintéticos, devendo-se registrar que os antígenos não são separados por eletroforese. Ambos os testes (WB e IB) são interpretados a partir das bandas reveladas, sendo aceitos diversos critérios para a determinação da positividade de uma amostra.

No Brasil, o Ministério da Saúde determina, através da Portaria 488/1998 e, mais recentemente, da Portaria 59/2002, o uso de um fluxograma de testes sorológicos para o diagnóstico de indivíduos, infectados ou não, a partir de dois anos de idade (Figura 6) que contempla e disciplina a utilização dos testes citados acima.

Figura 6: Fluxograma de testes sorológicos para diagnóstico da infecção por HIV



Fonte: <http://www.aids.gov.br>, 2003.

#### **1.3.2.4. Testes Rápidos**

Os testes rápidos para a detecção de anticorpos anti-HIV também constituem testes de triagem sorológica. Contudo, os testes rápidos são testes de fácil execução que dispensam infra-estrutura laboratorial e cujos resultados podem ser obtidos em menos de uma hora (em alguns casos, de 5 a 10 minutos, no máximo). Estes testes podem e devem ser utilizados quando há a necessidade de obtenção de resultados de forma imediata, como no caso de gestantes em trabalho de parto que desconhecem seu estado sorológico, quando há necessidade de testar-se indivíduos que se encontram em localidades isoladas e com acesso restrito aos serviços de atenção básica em saúde e quando o volume de amostras a ser testado não justifica a realização dos testes de diagnóstico ELISA em termos de custo-efetividade (Iweala, 2004).

Os testes rápidos para HIV foram inicialmente desenvolvidos no final da década de 80, ganhando maior popularidade a partir dos anos 90. As tecnologias empregadas nos testes rápidos evoluíram ao longo do tempo. Atualmente, os testes rápidos apresentam sensibilidade e especificidade equivalentes aos testes de ELISA de terceira geração, sobretudo quando utilizados junto a populações em que se constata a alta prevalência do HIV (Brasil, PNDST/AIDS-SVS/MS, 2004).

##### **1.3.2.4.1. Indicações Gerais para o Uso de Testes Rápidos**

Baseado nas características gerais dos testes rápidos, eles podem ser indicados como testes de triagem para o diagnóstico da infecção pelo HIV, triagem de doadores em bancos de sangue e de outros tecidos biológicos e, também, para tomar-se uma decisão terapêutica em situações de emergência específicas. Nas duas primeiras situações, conforme recomendado no fluxograma de testes para o diagnóstico da infecção pelo HIV do Ministério da Saúde, o teste rápido pode substituir o teste ELISA, convencional na etapa de triagem sorológica e inicial para a infecção pelo HIV, quando as facilidades técnicas dos testes rápidos compensam a ausência de uma estrutura laboratorial mais complexa ou de custo mais elevado.

Porém, a grande utilidade dos testes rápidos encontra-se em algumas situações de emergência, quando o seu uso não é dirigido primariamente para fins diagnósticos e sim para ocasiões onde existe a necessidade de avaliar-se e decidir rapidamente sobre a utilização da profilaxia medicamentosa a ser usada no combate à infecção pelo HIV. Isto ocorre, principalmente, nos casos de profissionais de saúde

que tenham tido exposição ocupacional de risco ou de gestantes prestes a entrar em trabalho de parto, ou já em trabalho de parto, e que não tenham sido testadas para o HIV no pré-natal, ou cujo resultado não esteja disponível. Nessas situações, os testes rápidos mostram-se convenientes para indicar um tratamento profilático rápido e com boa relação de custo-efetividade, justificando assim o seu uso. Tendo em vista que não se trata de um exame com fim diagnóstico e que o resultado é considerado como provisório, pode ser aceito a realização de um único teste rápido para tomar-se uma decisão terapêutica de emergência. Nesse caso, é imprescindível que a amostra reagente ou o paciente seja encaminhado ao laboratório o mais rápido possível, e em caráter prioritário, para a realização de testes confirmatórios.

#### **1.3.2.4.2. Uso do Teste Rápido em Situações de Exposição Ocupacional ao HIV**

Nesta situação, o uso de testes rápidos no paciente-fonte do material biológico ao qual o profissional de saúde foi exposto justifica-se pelo fato de haver um curto período de tempo para iniciar-se a terapêutica profilática com anti-retroviral no profissional acidentado, que reduz o risco de infecção em pelo menos 80%. Nesses casos, a terapia anti-retroviral deve ser iniciada preferencialmente entre 1 e 2 horas após a exposição de risco, e mantida por um período de 4 semanas.

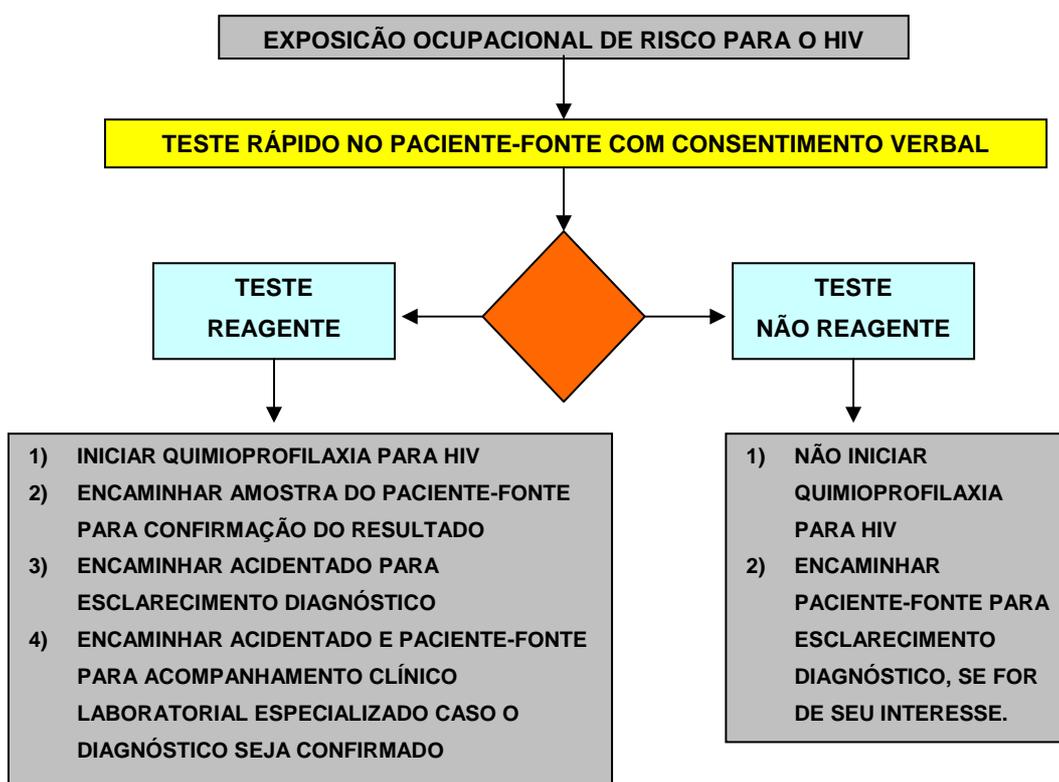
Sempre que possível, a solicitação de teste do paciente-fonte deverá ser feita com o seu consentimento, informando-o sobre a natureza do teste, o significado dos seus resultados e as implicações para o profissional de saúde envolvido no acidente.

A constatação de um resultado não-reagente evita o início ou a manutenção desnecessária da quimioprofilaxia anti-retroviral para o profissional de saúde acidentado. Considera-se que a possibilidade do paciente-fonte estar em um estágio muito recente da infecção ("janela imunológica") é rara. Porém, a ocorrência de resultados falso-negativos por esse e, mesmo por outros motivos, deve ser sempre levada em conta na avaliação de qualquer teste anti-HIV em função dos dados clínicos e epidemiológicos do paciente. Portanto, em casos de suspeita, recomenda-se uma investigação laboratorial mais detalhada, o mais breve possível.

No entanto, deve-se ressaltar que os testes rápidos, que nessa situação estão sendo indicados para decidir-se pelo uso de uma quimioprofilaxia de emergência no acidentado, não são considerados testes definitivos para o diagnóstico da infecção no paciente-fonte, o qual somente deverá receber o resultado final de sua sorologia

anti-HIV após a realização de testes anti-HIV, conforme o fluxograma para avaliação diagnóstica, recomendado pelo Ministério da Saúde (PNDST/Aids,2003). Abaixo é apresentado um algoritmo (Figura 7) que resume as ações recomendadas para uso do teste rápido nesta situação.

**Figura 7: Fluxograma para o uso de teste rápido para HIV em situações de exposição ocupacional**



Fonte: Adaptado de: <http://www.aids.gov.br>, 2003.

#### 1.3.2.4.3. Uso de Testes Rápidos para a Indicação de Profilaxia da Transmissão Vertical do HIV em Gestantes

Considerando-se que a principal via de infecção pelo HIV na população infantil é a transmissão perinatal, e que diversos estudos realizados até o momento demonstraram uma redução importante da transmissão vertical (50 a 70%) com o uso de zidovudina<sup>21</sup> na gestação, no parto e no recém-nascido, é altamente recomendável a garantia do acesso ao acompanhamento pré-natal e aos testes para o diagnóstico do HIV em todas as gestantes durante este período.

Entretanto, muitas mulheres chegam ao trabalho de parto sem terem feito o pré-natal. Para estas mulheres, a única oportunidade de terem acesso a um teste

<sup>21</sup> Um medicamento preconizado na terapia anti-retroviral (ARV).

anti-HIV é na hora do parto, o que traz questionamentos sobre os aspectos éticos dos próprios testes e do aconselhamento nesta situação.

Durante o trabalho de parto para mulheres sem atendimento pré-natal, ou que o resultado do teste não se encontra disponível no momento do parto, o teste rápido pode ser usado para a indicação da profilaxia com zidovudina na mãe e no recém-nascido em tempo hábil para a intervenção medicamentosa.

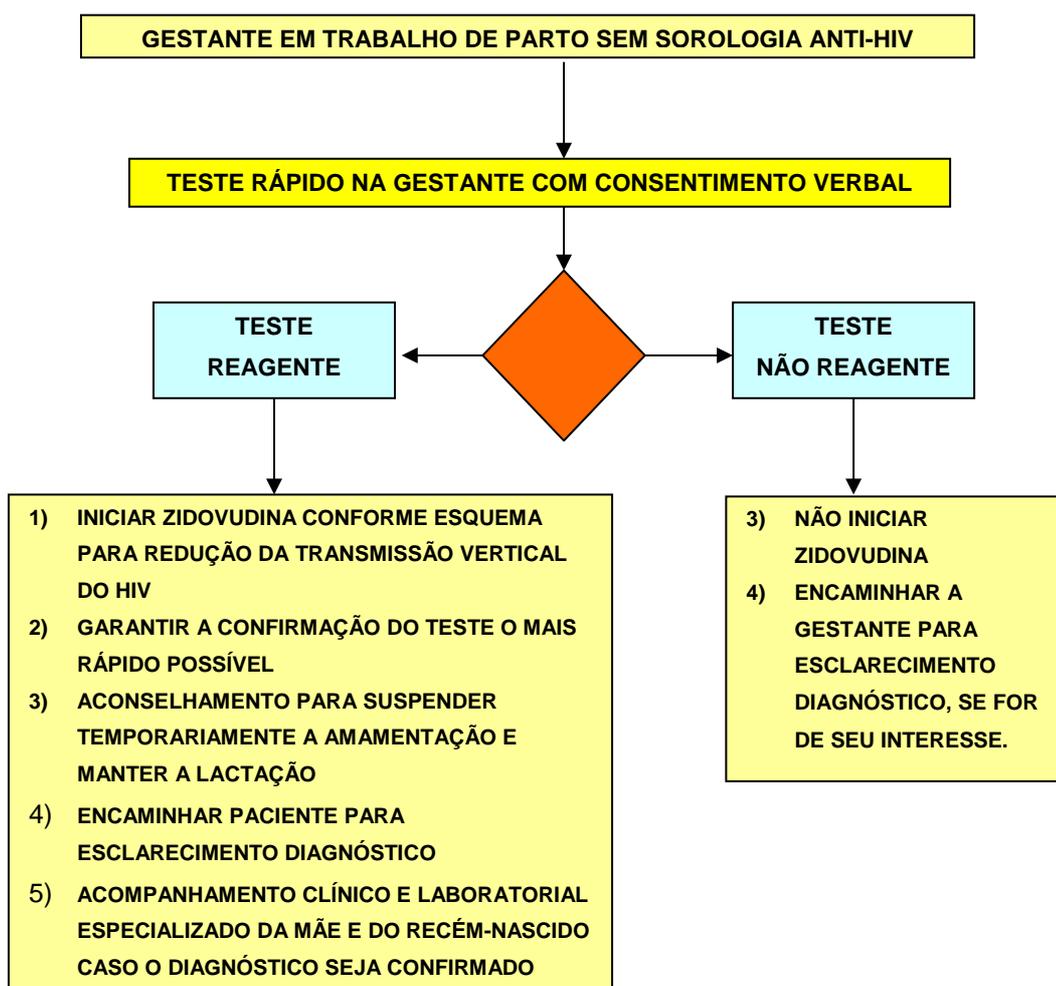
Obviamente, o momento do parto não é uma situação ideal para aconselhamento e a indicação de um teste anti-HIV. Entretanto, negar à mulher a oportunidade de ser submetida ao teste e, em caso de resultado positivo, poder iniciar o tratamento adequado ao recém-nascido, com uma terapia disponível e que reduz significativamente a chance da criança contrair o HIV, parece mais danoso do que qualquer questionamento sobre a adequação da aplicação do teste no momento do parto. Apesar de tratar-se de uma situação de emergência com risco de vida para terceiros (no caso, o recém-nascido), o PNDST/Aids recomenda a realização do teste rápido na gestante em trabalho de parto desde que haja o consentimento verbal da paciente. Deve-se salientar que a eficácia da quimioprofilaxia é bastante elevada. As mulheres que apresentarem resultado não reagente não teriam indicação para o uso profilático de zidovudina. As mulheres que apresentarem resultado reagente ao teste rápido devem receber a quimioprofilaxia, serem aconselhadas a não amamentar e encaminhadas para a confirmação sorológica, de acordo com as recomendações técnicas estabelecidas pelo Ministério da Saúde para o diagnóstico sorológico da infecção pelo HIV. Porém, é importante enfatizar-se que o uso da zidovudina, durante o trabalho de parto e no recém-nascido, deve ser feito e mantido por indicação médica até a elucidação diagnóstica do caso.

Considerando-se que em populações de baixa prevalência para a infecção pelo HIV, como é o caso das gestantes (estimada entre 0,5 e 1%), são esperadas a ocorrência relativamente freqüente de exames falso-positivos.

A utilização dos testes rápidos em gestantes fora do momento do parto ou próximo a ele poderá ser feita, na dependência das características próprias de cada unidade ou programa de atenção e naquelas situações em que o fluxo normal dos testes não possa ser realizado em tempo hábil para implementar as intervenções profiláticas. O PNDST/Aids recomenda, nestes casos, o uso de dois testes com princípios diferentes para a introdução da quimioprofilaxia com zidovudina. Todas as amostras positivas nos dois testes, ou em um deles, devem ser submetidas a testes confirmatórios. Quando não for possível realizar testes confirmatórios em tempo

hábil para prevenir-se a transmissão vertical, deve-se iniciar a quimioprofilaxia na gestante e no neonato. A adoção deste procedimento não exime o serviço da obrigatoriedade de realizar os testes confirmatórios posteriormente, bem como a coleta de uma segunda amostra, conforme determinado na Portaria Ministerial de N.º 488/98 da Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, que já prevê a utilização dos testes rápidos. Assim, entende-se que os testes rápidos reativos serão considerados provisoriamente positivos, para fins de iniciação das medidas profiláticas. Desta forma, nova amostra de soro deverá ser obtida para posterior confirmação e aconselhamento à gestante, segundo o fluxograma proposto pelo Ministério da Saúde. Abaixo encontra-se um algoritmo na Figura 8 que resume a conduta recomendada para o uso de teste rápido em gestantes para indicação do uso de zidovudina na profilaxia da transmissão vertical do HIV.

**Figura 8: Fluxograma do processo para uso de teste rápido para HIV em gestantes e ação terapêutica**



Fonte: Adaptado de: <http://www.aids.gov.br>, 2003

A Tabela 5 apresenta diversos tipos de Testes Rápidos para HIV, disponíveis no mercado, acompanhado de seu princípio metodológico (fluxo lateral = LF; aglutinação de partículas = PA; e imunocaptação = FT) e os desempenhos de sensibilidade e especificidade, divulgadas em publicações independentes. Ainda que os resultados não possam ser diretamente comparados, vale ressaltar a alta sensibilidade e especificidade, apresentadas nos testes. Segundo determinações da ANVISA, o índice mínimo de desempenho em sensibilidade requerido para que o produto possa ser registrado no país, é de 99,5%. O *Kit* comercializado por Bio-Manguinhos, atende plenamente este requisito técnico.

**Tabela 5: Desempenho dos testes rápidos para HIV, disponíveis no mercado mundial**

<b>Fabricante</b>	<b>Produto</b>	<b>Princípio</b>	<b>Sensibilidade %</b>	<b>Especificidade %</b>
<i>Abbott Laboratories Abbott Park, Illinois USA</i>	<i>Determine HIV-1/2/O</i>	<b>LF</b>	<b>100</b>	<b>99.4</b>
<i>AccuDx Inc. San Diego, California USA</i>	<i>SUDS HIV-1</i>	<b>FT</b>	<b>99.8</b>	<b>75.1</b>
<i>AccuSpot HIV-1 and HIV-2</i>		<b>FT</b>	<b>100</b>	<b>86.3</b>
<i>BioRad Laboratories Redmond, Washington USA</i>	<i>Genie II HIV-1/2</i>	<b>FT/LF</b>	<b>99.8</b>	<b>100</b>
<i>Multispot HIV-1/2</i>		<b>FT</b>	<b>99.6</b>	<b>99.8</b>
<i>CHEMBIO, Inc. Medford, New York USA</i>	<i>FastCheck HIV1/2</i>	<b>LF</b>	<b>99.6</b>	<b>99.8</b>
<i>Efoora. Inc. Chicago, Illinois USA</i>	<i>Efoora HIV 1/2/O</i>	<b>LF</b>	<b>99.6</b>	<b>99.9</b>
<i>Embee Diagnostics Delhi, India</i>	<i>HIV Tri-Dot</i>	<b>FT</b>	<b>99.6</b>	<b>99.7</b>
<i>Fujirebio Tokyo, Japan</i>	<i>Serodia HIV-1/2</i>	<b>PA</b>	<b>100</b>	<b>98</b>
<i>Genelabs Diagnostics Singapore</i>	<i>HIV-Spot</i>	<b>FT</b>	<b>98.2</b>	<b>99.7</b>
<i>Guardian Scientific Africa Monmouth Beach, N.Jersey USA</i>	<i>Quix HIV-1/2/O</i>	<b>FT</b>	<b>100</b>	<b>99.8</b>
<i>InTec Products, Inc.</i>	<i>Advanced Quality</i>	<b>LF</b>	<b>98.8</b>	<b>100</b>

<i>Xiamen, China</i>	<i>Rapid HIV Test</i>			
<i>Merlin Biomedical and Pharmaceutical Huntington Beach, CA/USA</i>	<i>Merlin Immediate HIV-1 and HIV-2 test</i>	<b>LF</b>	<b>99.8</b>	<b>100</b>
<i>MedMira Laboratories Halifax, Canada</i>	<i>Med Mira HIV 1/2</i>	<b>FT</b>	<b>100</b>	<b>97.6</b>
<i>OraSure Technologies Inc. Bethlehem Pennsylvania USA</i>	<i>OraQuick Rapid HIV Antibody Test</i>	<b>LF</b>	<b>99.6</b>	<b>100</b>
<i>Orogencis Ltd. Yavne, Israel</i>	<i>DoubleCheck HIV-1/2</i>	<b>FT</b>	<b>100</b>	<b>99.7</b>
<i>Ortho Diagnostics New Brunswick, N.Jersey USA</i>	<i>HIVCHEK System 3</i>	<b>FT</b>	<b>99.6</b>	<b>99.7</b>
<i>PMC Medical Pty. Ltd. Daman, India</i>	<i>First Response HIV-1 / HIV-2 WB</i>	<b>LF</b>	<b>100</b>	<b>98.8</b>
<i>Saliva Diagnostic Systems New York, New York USA</i>	<i>Hema-Strip HIV-1 e HIV-2</i>	<b>LF</b>	<b>99.6</b>	<b>99.9</b>
<i>Span Diagnostics</i>	<i>Sero-Strip HIV-1/2</i>	<b>LF</b>	<b>98.9</b>	<b>100</b>
<i>Surat, India</i>	<i>CombAIDS RS</i>	<b>FT</b>	<b>100</b>	<b>88</b>
<i>Trinity Biotech plc  Bray, Ireland</i>	<i>Capillus HIV-1/2</i>	<b>PA</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
	<i>SeroCard HIV-1/2</i>	<b>FT</b>	<b>100</b>	<b>97.9</b>
	<i>UniGold Recomb HIV-1/2</i>	<b>LF</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<i>Wiener Laboratorios Rosario, Argentina</i>	<i>DIA HIV-1+2</i>	<b>FT</b>	<b>99.6</b>	<b>99.4</b>

**Fonte: Aids Reviews, 2000.** <http://www.medadvocates.org/diagnostics/cdc/rapidtest.html>.

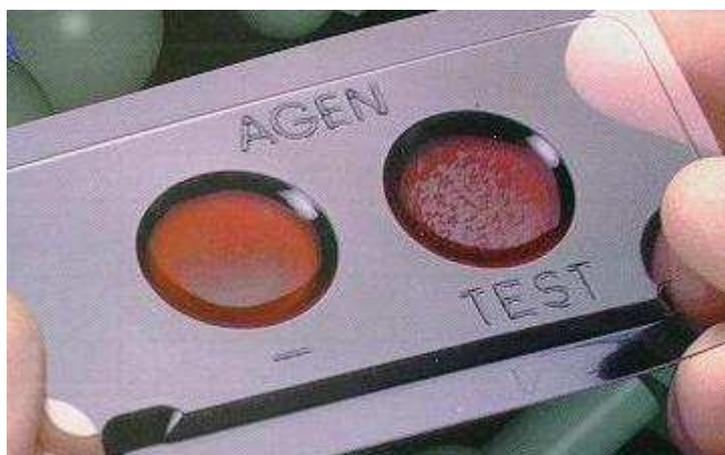
Diversos são os tipos de testes rápidos para HIV disponíveis no mercado. Entre estes, podem ser mencionados os testes de aglutinação (alguns por látex), os testes de fase sólida (ou *immunodot*), os testes denominados de *flow through* ou imunoconcentração e os testes de imunocromatografia com fluxo lateral.

#### 1.3.2.4.4. Aglutinação

Os testes de aglutinação (Figura 9) baseiam-se na agregação de diferentes partículas, tais como látex, gelatina ou outras, que são recobertas com antígenos específicos do HIV. A presença de anticorpos anti-HIV na amostra permite a ocorrência de aglutinação que, em geral, são observadas visualmente (Iweala, 2004).

Podemos ressaltar a simplicidade e a facilidade de utilização dos testes de aglutinação, no entanto, em geral, possuem índices de desempenho inferiores em termos de sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade, se comparado a outras metodologias tais como ELISA e IFI.

**Figura 9: Resultado de teste rápido de aglutinação**



Fonte: Extraído de “<http://www.agen.com.au/products/>”

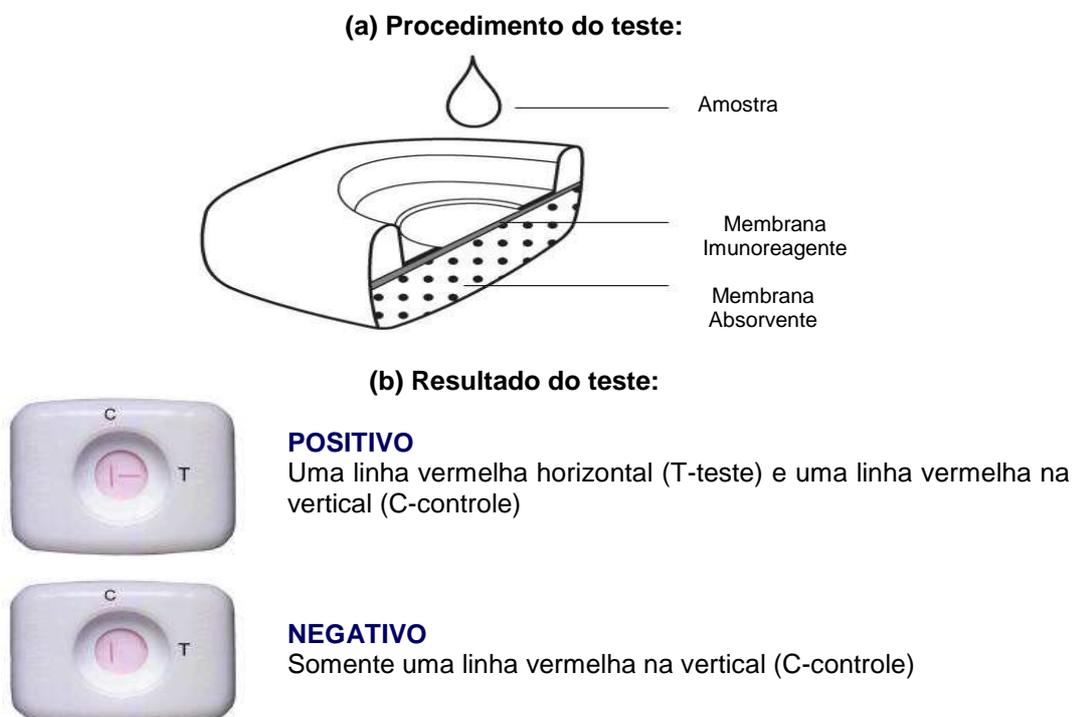
#### 1.3.2.4.5. *Flow Through* ou Imunoconcentração

Na Figura 10, observa-se que este teste utiliza antígenos virais imobilizados em uma membrana porosa. A amostra extraída do paciente é colocada no suporte de teste e migra por uma membrana porosa, onde antígenos específicos do HIV encontram-se imobilizados. Caso a amostra contenha anticorpos contra o HIV, uma linha será visível tanto na área de controle quanto na área teste da membrana, onde associa-se ao reagente de revelação (geralmente um conjugado de ouro coloidal ou selênio). Caso contrário, apenas observa-se uma linha na área de controle. O resultado é obtido de 5 a 15 minutos. Muitos destes testes utilizam somente soro ou plasma (Branson, 2000).

Neste tipo de teste rápido, quando da análise de amostras de sangue total, existe o inconveniente de utilizar-se, obrigatoriamente, uma membrana adicional que

absorverá os elementos (hemácias, glóbulos brancos e plaquetas) do sangue total. Alternativamente, em alguns outros testes, determina-se que seja feita a adição de uma solução tampão que provoque a lise dos referidos constituintes do sangue.

**Figura 10: Procedimento e resultado de um teste de imunoc concentração**



Fonte: <http://www.meerburgpharmacy.com>

#### 1.3.2.4.6. Fluxo Lateral/Imunocromatografia

Nestes testes, a amostra do paciente é transferida para o suporte de teste. Após a adição de uma solução tampão, usada na corrida cromatográfica, a amostra migra lateralmente pelos poros das membranas da fita de teste contendo os reagentes de revelação, como, por exemplo, um conjugado<sup>22</sup> de ouro coloidal. Caso o teste seja positivo, serão observadas duas linhas: uma na área de controle e a outra na área do teste. Caso o teste não seja reativo, apenas será observada uma linha, na área de controle, (Figura 11) [Iweala, 2004].

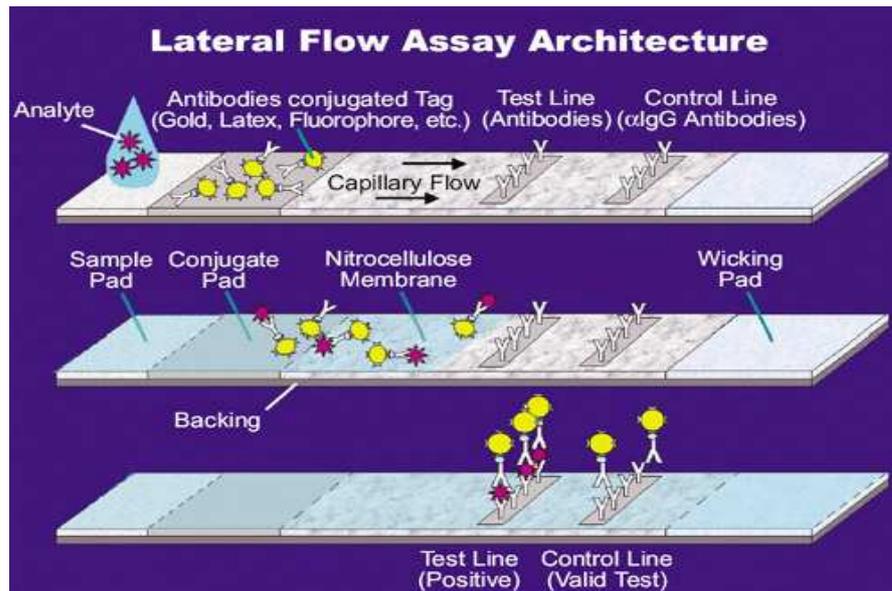
Esta metodologia vem sendo alvo de um grande número de projetos de desenvolvimento de testes rápidos, uma vez que aliam as vantagens da simplicidade, rapidez e facilidade para o usuário, com desempenhos cada vez

<sup>22</sup> O conjugado pode ser imunoglobulina específica, proteína A ou proteína G, quimicamente marcados, ou adsorvidos, com ouro coloidal.

melhores em termos de sensibilidade, especificidade, reprodutibilidade e estabilidade. Além disso, em geral não faz distinção do tipo de amostra a ser testado, podendo ser utilizado soro, plasma ou sangue total.

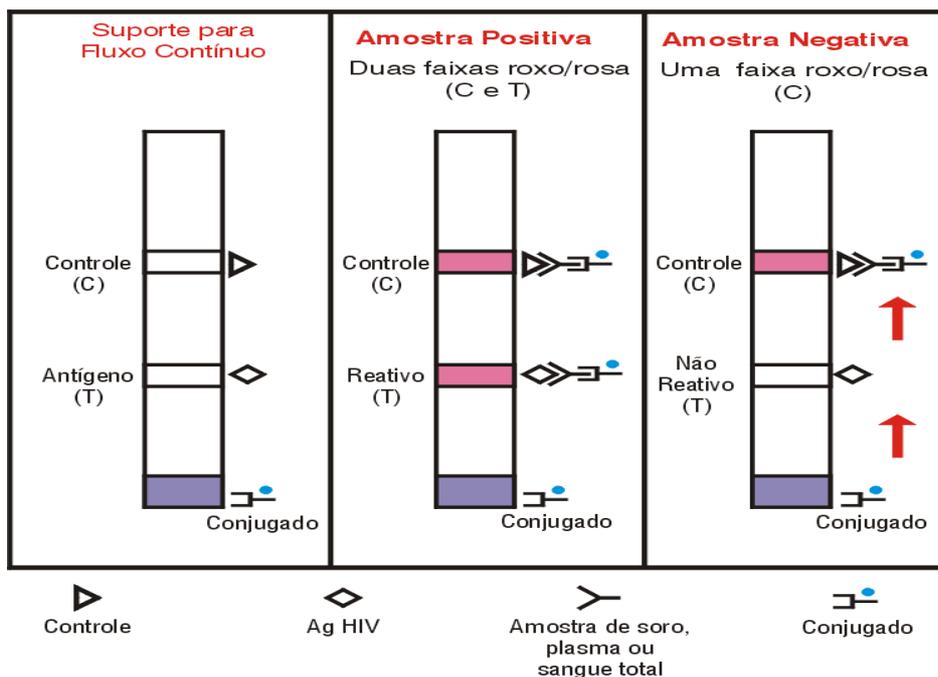
Por fim, em tese, podemos utilizar como antígeno nos testes de fluxo lateral, desde pequenos peptídeos sintéticos até uma mistura complexa de proteínas naturais ou proteínas recombinantes que provenham de um extrato semi-purificado.

**Figura 11: Procedimento e resultado do teste rápido por fluxo lateral**  
**(a) Procedimento do teste:**



Fonte: Extraído de “[http://spaceresearch.nasa.gov/general\\_info/homeplanet.html](http://spaceresearch.nasa.gov/general_info/homeplanet.html)”

**(b) Resultado do teste:**



Fonte: Elaborado pelo autor.

### **1.3.3. Testes Baseados na Detecção de Antígenos do HIV**

Os testes diagnósticos desenvolvidos para detectar os antígenos ou o próprio vírus do HIV são extremamente importantes por sua capacidade de identificar um indivíduo infectado antes que o mesmo tenha sofrido soroconversão. Estes testes, descritos abaixo, incluem a detecção do antígeno p24, dos ensaios moleculares e as técnicas de culturas de células.

#### **1.3.3.1. Testes para a Detecção do Antígeno p24**

Em geral, estes testes quantificam, através de ELISAs, a presença do antígeno p24 na amostra do indivíduo sendo testado. Sua sensibilidade, contudo, é bastante baixa quando comparada à dos ensaios moleculares descritos mais à frente. Sendo assim, estes testes são raramente utilizados como a única forma de diagnóstico da infecção por HIV. Por esta razão, os ensaios para detecção do antígeno p24 foram incorporados a uma nova geração de ELISAs – os denominados ensaios sorológicos de quarta geração – capazes de detectar anticorpos anti-HIV e antígenos p24, simultaneamente, numa amostra sorológica. Estas melhorias nos ensaios de triagem permitem, portanto, a detecção do HIV no paciente ainda nos estágios iniciais da infecção (Iweala, 2004).

#### **1.3.3.2. Ensaio Molecular**

Os ensaios moleculares envolvem diferentes técnicas utilizadas na amplificação do genoma viral para o diagnóstico da infecção do HIV no período pré-soroconversão. Dentre estas técnicas, duas são amplamente utilizadas: o RT-PCR e a quantificação do RNA viral através de sua hibridação a oligonucleotídeos de seqüências complementares.

#### **1.3.3.3. RT-PCR**

A técnica de RT-PCR baseia-se na conversão do RNA em DNA viral pela ação catalítica da enzima *transcriptase reversa*. O DNA viral assim produzido é, então, amplificado por PCR para que, com o aumento no número de cópias, sua detecção possa ser facilitada. Em seguida, o DNA amplificado associa-se a uma sonda de ácido nucléico específica para uma determinada seqüência genética do HIV, a qual, por sua vez, encontra-se associada a uma enzima. A enzima,

complexada ao DNA, interage com seu substrato específico e cromógeno, gerando um produto corado cuja intensidade quantifica, indiretamente, o RNA viral, inicialmente presente na amostra (Iweala, 2004)<sup>23</sup>.

#### **1.3.3.4. Hibridação**

Nos ensaios que se baseiam em técnicas de hibridação, o RNA viral é capturado por sequências complementares curtas de ácidos nucleicos, denominadas de oligonucleotídeos, que foram fixadas previamente a uma placa. Numa variação deste ensaio que utiliza oligonucleotídeos ramificados, podemos promover a hibridação simultânea do RNA viral bem como da enzima. Assim como na reação de RT-PCR, o complexo ácido nucleico-enzima aqui formado, reage com seu substrato específico, produzindo uma coloração cuja intensidade é utilizada para quantificar o RNA presente na amostra (Iweala, 2004)<sup>24</sup>.

Apesar de sua alta sensibilidade e especificidade (entre 98% e 99%), estes testes diagnósticos não atingem os padrões de sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos utilizados na detecção de anticorpos. Os testes moleculares somente atingem o grau necessário de precisão quando complementados por um teste confirmatório voltado à detecção de anticorpos anti-HIV. Além disso, considerando que grande parte destes testes foram desenvolvidos para a detecção do subtipo B do grupo M do HIV-1, a possibilidade de não-detecção de outras cepas e subtipos é alta, o que contribui para um acréscimo no número de resultados falso-negativos encontrados.

#### **1.3.4. Técnicas de Cultura Viral**

##### **1.3.4.1. Cultura de Células do Sangue Periférico para o Isolamento do HIV**

Esta técnica foi inicialmente utilizada para caracterizar o HIV como agente causador da Aids. As culturas são observadas quanto à evidência de formação sincicial (células gigantes multinucleadas), presença de atividade da transcriptase

---

<sup>23</sup> O *Kit* Nuclisens HIV RNA QT da Organon utiliza esta técnica na detecção de infecção por HIV.

<sup>24</sup> O *kit* Quantiplex HIV-1 RNA da Bayer é um exemplo de *kit* que utiliza esta metodologia em sua variação de oligonucleotídeo ramificado. Já o *kit* Amplicor HIV-1 da Roche, adota uma abordagem combinada que associa a metodologia de PCR com a de hibridação para detectar DNA diretamente.

reversa e produção de antígeno p24 em sobrenadantes. São consideradas positivas quando dois testes consecutivos positivos confirmam os resultados.

#### **1.3.4.2. Cultura Quantitativa de Células**

É uma técnica que mede a carga viral intracelular, mediante a diluição seriada decrescente de uma população de  $10^6$  células do paciente infectado. Considera-se como positiva a menor diluição capaz de isolar alguma célula infectada.

#### **1.3.4.3. Cultura Quantitativa a Partir de Plasma**

É uma técnica semelhante à anterior, porém utiliza alíquotas decrescentes do plasma. Considera-se como positiva a menor diluição capaz de infectar células mononucleares. Atualmente, este teste tem sua utilidade restrita a ensaios clínicos de pesquisa.

## **2. OBJETIVO**

A atividade de transferência de tecnologia não ocorre constantemente, sendo até considerada um evento pouco freqüente, especialmente no sistema público e ainda mais na Área de Saúde. Trata-se de um evento de alta complexidade, que exige uma ampla experiência em estratégias de negociação, conhecimentos profundos da tecnologia envolvida, do mercado para o produto em questão bem como da legislação comercial e regulatória vigentes. Sendo assim, buscou-se, nesta dissertação, os seguintes objetivos:

### **2.1. Geral**

Apresentar e discutir um modelo de transferência de tecnologia, aplicável para outros produtos similares.

### **2.2. Específico**

Aplicar o modelo de transferência de tecnologia visando nacionalizar a produção do *Kit* “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”.

### **3. METODOLOGIA**

O início do processo de transferência de tecnologia deu-se por intermédio do Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids (PNDST/Aids), buscando formas de diminuir o custo e a dependência de importação de Testes Rápidos para o diagnóstico da infecção causada pelos HIV-1 e HIV-2. Desta forma, Bio-Manguinhos foi convocado para mobilizar-se no sentido de buscar formas de nacionalização da produção deste *Kit*, o mais rapidamente possível. Como foi dito anteriormente, cumpre novamente ressaltar que, como o tempo era o fator de maior importância para a solução do problema, decidiu-se pela busca de tecnologia no exterior, para internalizá-la em curto espaço de tempo, por intermédio de um processo de transferência de tecnologia.

### **3.1. Elementos Básicos no Processo de Transferência de Tecnologia**

Ainda que altamente complexa, a transferência de tecnologia é uma das formas mais eficientes de incorporação rápida de tecnologia. O modelo que apresentamos refere-se à transferência de tecnologia de uma unidade industrial privada para uma unidade industrial pública, e são descritos alguns elementos básicos que devem nortear o sucesso e o alcance dos objetivos, a saber:

- Existência na Instituição receptora de infra-estrutura adequada de laboratórios e equipamentos, massa crítica de profissionais capaz de receber, incorporar e aperfeiçoar a tecnologia objeto de transferência;
- Existência de uma política tecnológica governamental e institucional permanente e contínua, no sentido de buscar a capacitação e o fortalecimento tecnológico das Instituições do setor;
- Conscientização da importância do uso adequado do poder de compra do Estado brasileiro no processo de negociação de transferência da tecnologia. Além disso, considera-se a concessão da prioridade de compras pelo Estado das empresas nacionais, desde que as mesmas ofereçam preços adequados, compatíveis e inferiores aqueles praticados pelo mercado internacional;
- Existência de demanda configurada do produto durante um período mínimo de três anos, o que permite a negociação e a valoração do processo de transferência de tecnologia, em torno de um quantitativo. Esta demanda, de fato, pode requerer a importação do produto semi-acabado ou acabado, durante o prazo necessário para a Unidade de produção receptora preparar-se física e tecnologicamente para dar início a produção local;

- Avaliação aprofundada sobre a tecnologia a ser transferida, com o objetivo de conhecer o “estado da arte” e os detentores dos direitos de patente;
- Existência de profissionais com experiência e conhecimento científico e tecnológico, em temas relacionados com o objeto da transferência, para poder garantir que a tecnologia almejada é de fato contemporânea, com rendimentos de produção adequados, que resulte em produtos de alta qualidade, e atenda aos requisitos e especificações definidos pelo Ministério da Saúde. Além disso, é necessário garantir que a tecnologia será transferida e incorporada nas atividades produtivas;
- Existência de profissionais com experiência e conhecimento em negociação de transferência de tecnologia, além de temas relacionados com propriedade intelectual, patentes, mercado, preços e aspectos legais;
- Existência do compromisso de transferir a tecnologia, objeto de negociação, de ambas as partes. Do lado da Instituição cedente da tecnologia, é necessário o compromisso de todo o seu corpo de funcionários e, não somente do corpo diretivo da empresa. Pelo lado da Instituição receptora, também deverá existir “espírito aberto” para receber a tecnologia;
- Organização de um comitê técnico de acompanhamento do processo de transferência de tecnologia, com participação igualitária de ambas as partes, para discutir e encaminhar os problemas encontrados, temas não previstos e fazer avaliação do andamento do processo de transferência de tecnologia. Este comitê deve reunir-se pelo menos uma vez por semestre, ou sempre que convocado por uma das partes;
- Deve ser incorporado cláusula que garanta o fornecimento de qualquer melhoria tecnológica do processo de produção ou característica do produto, que venha a ser desenvolvida pela parte cedente, durante o período acordado de transferência de tecnologia, de tal forma a garantir que a tecnologia transferida não seja obsoleta no final do processo de transferência;
- Não devem ser aceitas cláusulas comerciais restritivas contrárias à legislação, em especial, a lei do abuso de poder econômico. Sobre esta matéria, consultas ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) são indicadas;
- No tocante ao processo de licitação, supostamente exigida pela lei 8.666/93, os seus princípios devem ser atendidos por intermédio de negociação com diversos detentores da tecnologia, e selecionada a unidade industrial privada que apresentou melhores condições de preço e qualidade. Hoje, a lei recente

de Inovação Tecnológica promulgada em 03/12/2004, em um dos seus artigos, isenta a necessidade de licitação nos casos de transferência de tecnologia.

### **3.2. Identificação e Seleção da Empresa Cedente da Tecnologia**

Este processo talvez seja o mais complexo e delicado para ser implementado. Inúmeros cuidados a serem observados nas relações entre empresas públicas e privadas deve ser exaustivamente discutidos e acordados com bom senso e, sobretudo, respeitando as exigências impostas pela legislação e a ética.

O processo de transferência de tecnologia iniciou-se com uma ampla pesquisa para a identificação de empresas detentoras das tecnologias necessárias e ainda, contatar as empresas que comercializam o produto, com qualidade, em especial no Brasil.

Diante de uma lista de empresas com potencial de serem transformadas em parceira de Bio-Manguinhos, foi elaborada uma “chamada” formal, com as bases de uma possível cooperação baseada em transferência de tecnologia e estabelecimento da produção em Bio-Manguinhos, além de critérios e condições que as empresas deveriam submeter-se para a efetivação da parceria. O envio desta convocação para as empresas inicia um processo de seleção entre as empresas que, por sua vez, manifestaram formalmente o interesse.

Por intermédio de reuniões com ampla participação de Bio-Manguinhos, representado por seu corpo técnico, gerencial e assessorias, iniciou-se o processo de negociações com cada empresa interessada. Um Termo de Sigilo acordado entre as partes foi assinado para a exposição clara e objetiva de todas as questões. Seguiu-se, então, um mútuo conhecimento e amadurecimento das possibilidades de ações e estratégias, visando verificar a viabilidade do processo de transferência de tecnologia. Neste ponto, discutiu-se cada detalhe, inclusive e, especialmente o binômio custo-preço a ser ofertado ao Ministério da Saúde.

O próximo passo do processo envolveu uma análise minuciosa por parte dos profissionais de Bio-Manguinhos onde foram discutidos os aspectos técnico, administrativo, jurídico e econômico. Todos os dados e impressões foram considerados numa matriz de decisão para subsidiar, inclusive juridicamente, a escolha da empresa que apresentaria as melhores condições para o bem público. Na prática, em nossa experiência neste processo, ao final das negociações,

somente restava a CHEMBIO (USA), uma vez que as outras três empresas que responderam a convocação não reuniam os elementos necessários para o estabelecimento do acordo de transferência de Tecnologia, a saber:

A Empresa FK Biotecnologia (RS, Brasil), manifestou grande interesse, mas na verdade, não possuía um produto acabado e sim as bases tecnológicas para fazê-lo. Neste caso, poderíamos apenas, iniciar com ela um projeto de desenvolvimento e, certamente o tempo necessário (mínimo três anos) e a incerteza de que chegaríamos ao produto alvo com sucesso, determinaram sua exclusão do processo.

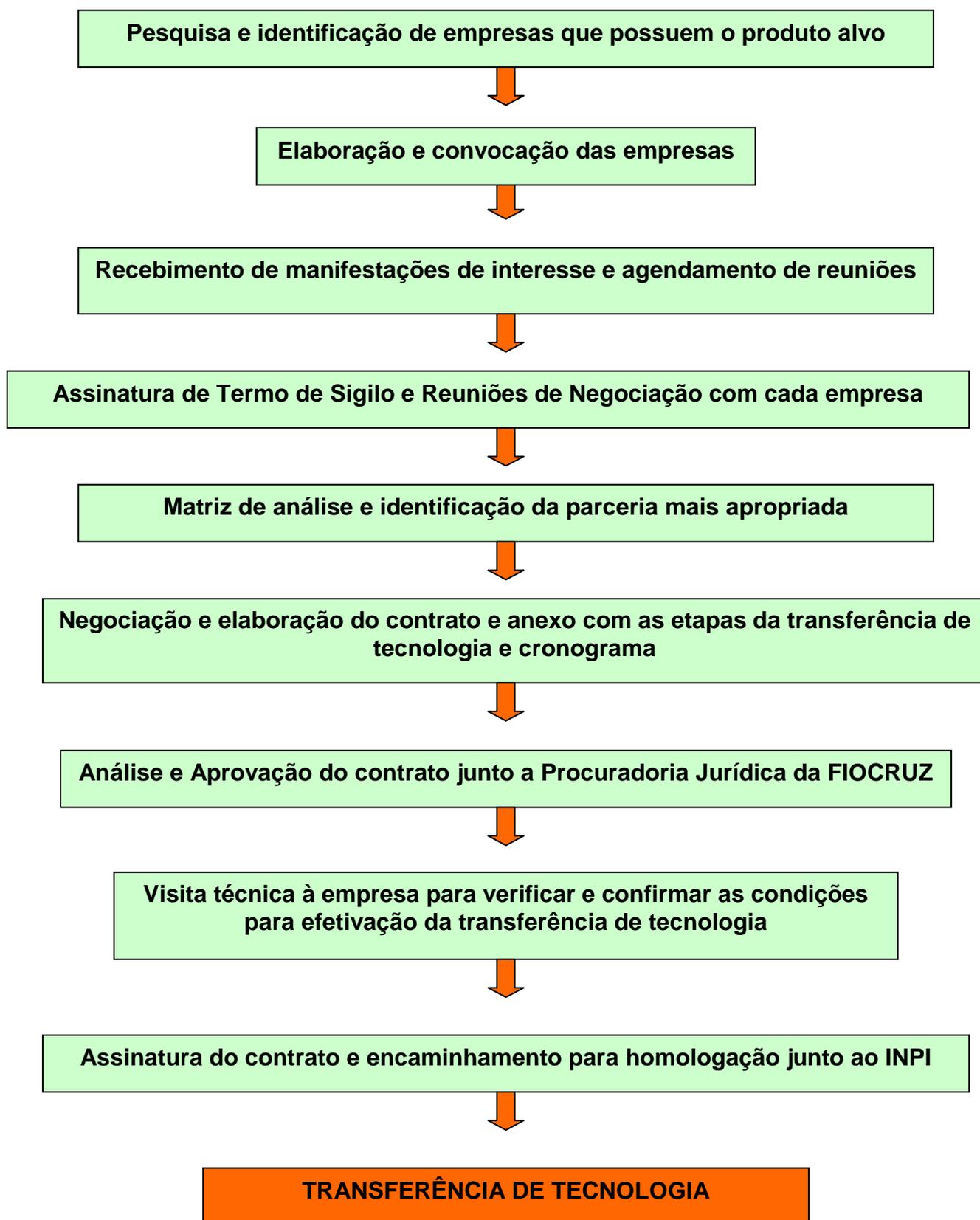
Com a empresa SALIVA (USA), conseguimos avançar significativamente nas negociações, mas o produto-alvo oferecido por ela apresentava um diferencial técnico negativo que nos impediria de ofertar o produto ao Ministério da Saúde. Neste caso, o produto era indicado e validado para testes com sangue coletado de punção digital, mas não poderíamos garantir os resultados obtidos com as amostras coletadas em tubo. Pelo aspecto técnico fomos obrigados a eliminá-la também do processo.

Finalmente, a empresa Abbott, (USA), detinha o produto alvo que inspirou nosso interesse, pois vinha sendo adquirido e utilizado com sucesso pelo PNDST/Aids. No entanto, após uma série de reuniões e negociações, a empresa manifestou-se contrária a transferência de tecnologia para Bio-Manguinhos, alegando que não haveria demanda que viabilizasse a produção do teste rápido para HIV-1 e HIV-2 no Brasil e afirmando que ela própria mantinha, por questões de viabilidade econômica, uma única fábrica para o atendimento da demanda mundial.

A elaboração do contrato com a CHEMBIO/USA, bem como um documento listando as etapas, e um cronograma necessário para a transferência de tecnologia, foram concluídos, seguindo os mesmos para as instâncias legais de aprovação e homologação.

Na Figura 12, segue um sumário dos passos seguidos para a identificação, a escolha e a formalização da parceria entre Bio-Manguinhos e a empresa cedente da tecnologia.

**Figura 12: Etapas para a identificação, a escolha e a formalização de parceria entre Bio-Manguinhos e a empresa cedente da tecnologia**



Fonte: Elaborado pelo autor

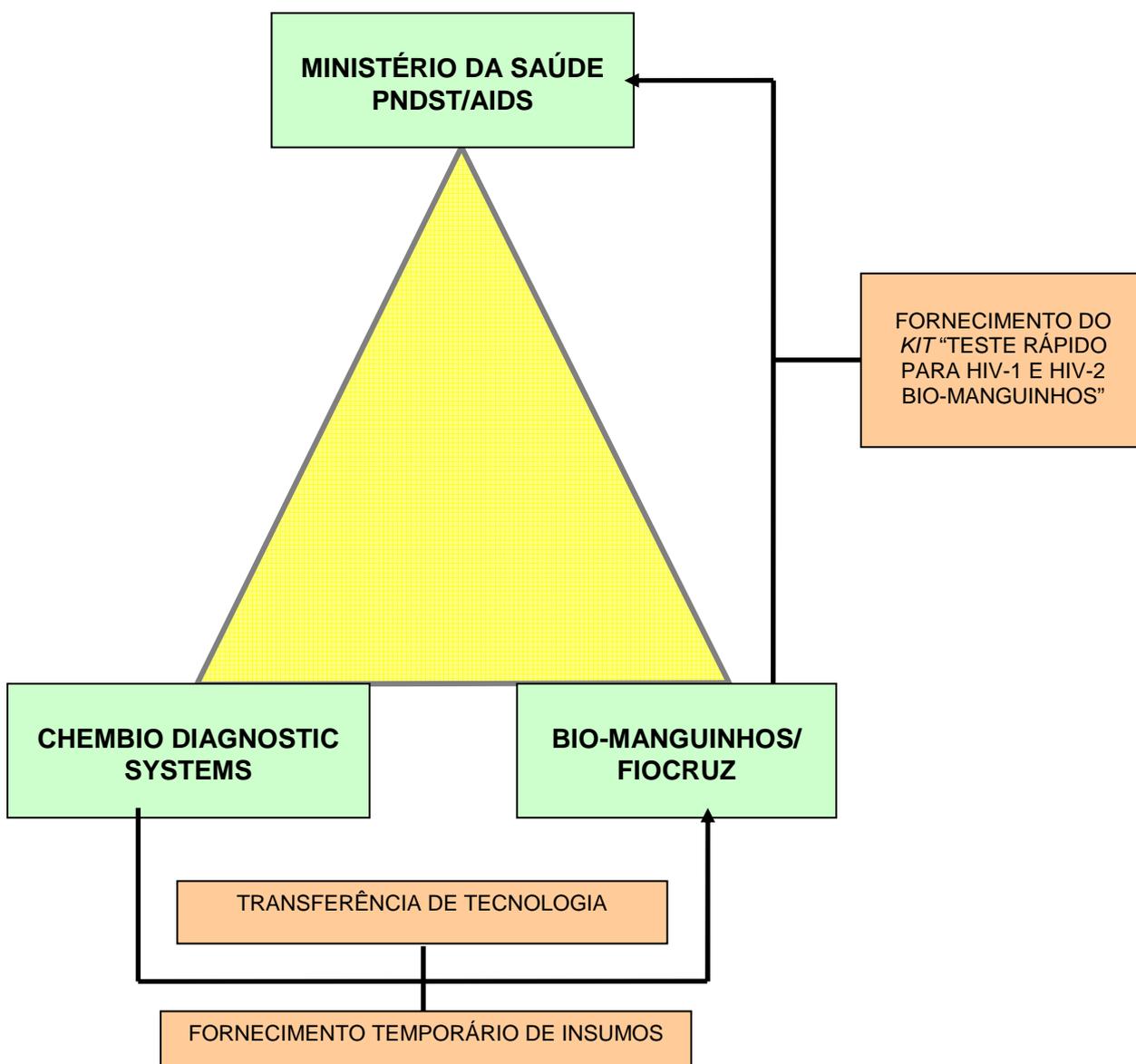
Neste contexto, em 5 de fevereiro de 2004, a FIOCRUZ – por intermédio de Bio-Manguinhos – assinou um contrato com a empresa americana CHEMBIO DIAGNOSTIC SYSTEMS INC, visando a transferência das tecnologias necessárias à produção nacional dos testes rápidos utilizados no diagnóstico dos tipos 1 e 2 do HIV, vírus causador da Aids. O contrato de transferência de tecnologia prevê um prazo de três anos para a realização total da transferência, a qual deverá ocorrer, de maneira gradual, em três fases. Ao fim de cada fase ou ano, 300000 testes deverão ser importados, processados por Bio-Manguinhos<sup>25</sup> e fornecidos ao PNDST/Aids, sendo 150000 no primeiro semestre e 150000 no segundo semestre de cada ano. Os membros da equipe de produção de Bio-Manguinhos vêm sendo treinados por técnicos da CHEMBIO na absorção dos conhecimentos e na execução das atividades relacionadas a cada fase, as quais são sempre validadas pela empresa, visando o cumprimento das diferentes etapas da transferência. Ao término dos três anos ou fases de transferência, portanto, um mínimo de 900000 testes deverão ter sido produzidos por Bio-Manguinhos e fornecidos ao PNDST/Aids. A fim de viabilizar a comercialização dos *kits* de diagnóstico, fez-se necessário o cumprimento de pré-requisitos técnico-burocráticos que incluíram a análise prévia, realizada pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde Pública (INCQS) e a obtenção de registro do “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos” junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

A Figura 13 apresenta a articulação feita entre as Instituições envolvidas no processo de transferência de tecnologia, visando o fornecimento de teste rápido para HIV-1 e HIV-2, atendendo as demandas do Ministério da Saúde, em especial o PNDST/Aids.

---

<sup>25</sup> Bio-Manguinhos importa os insumos intermediários necessários ao processamento do *kit*, adquirindo, ao longo do processo de transferência, a tecnologia necessária para que, ao término do mesmo possa, de forma autônoma, realizar todas as etapas de produção utilizando fontes alternativas de insumos.

**Figura 13: Instituições participantes do processo de transferência de tecnologia do teste rápido para HIV-1 e HIV-2**



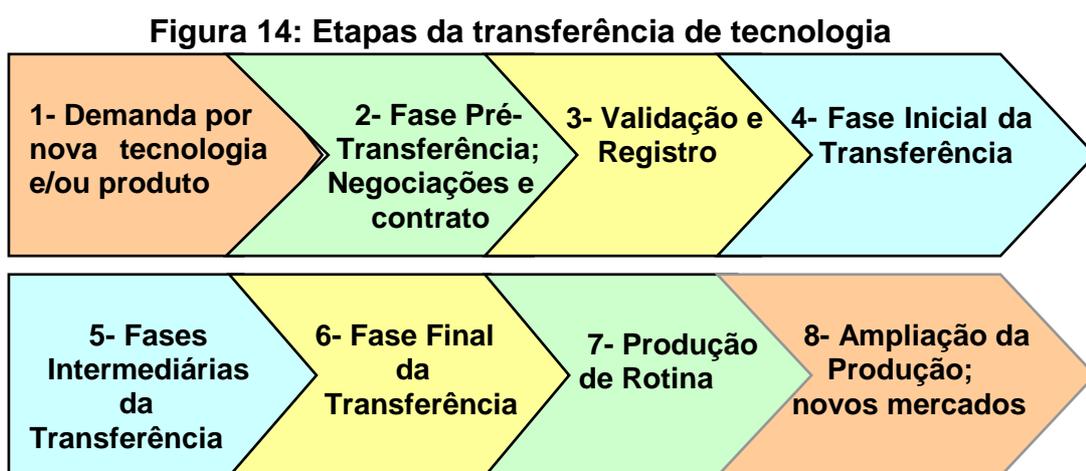
Fonte: Elaborado pelo autor

Como podemos observar no esquema acima, nosso modelo não poderia lograr êxito se não houvesse anuência, acompanhamento, sugestões e apoio efetivo do Ministério da Saúde, mais especificamente do PNDST/Aids que possui as demandas e o poder de compra dos testes em foco. Na prática, em diversas etapas do processo fomos ao Ministério da Saúde para passar as informações e dividir as responsabilidades nas decisões quanto às estratégias a serem adotadas. Estes fatos permitiram que, em paralelo a negociação com as empresas, estivesse, também sendo negociado, junto ao PNDST/Aids, o convênio para o fornecimento do produto e ainda, um segundo convênio para suprir as necessidades de Bio-Manguinhos no que se refere a investimentos relacionados a aquisição de

equipamentos assim como treinamentos de pessoal necessários para absorver as tecnologias e estabelecer a produção nacional do teste rápido para HIV-1 e HIV-2. Foram então encaminhados e aprovados junto às instâncias técnicas os dois convênios. O primeiro no valor de R\$ 2438000,00 para fornecimento de 300000 testes e, o segundo, no valor de R\$ 2424434,30 para os investimentos e mais 150000 testes. Na verdade, até o presente momento, somente o primeiro valor foi integralmente disponibilizado enquanto o segundo, encontra-se em fase final de tramitação junto a UNESCO, com aval e recomendação extremamente favorável do PNDST/Aids.

### 3.3. Etapas da Transferência de Tecnologia

O modelo adotado por Bio-Manguinhos para o processo de transferência de tecnologia, conforme ilustrado na Figura 14, prevê o seguimento de diversas etapas indispensáveis para o alcance dos objetivos e o sucesso do projeto:



Fonte: Elaborado pelo autor

Durante a exaustiva fase de negociações entre Bio-Manguinhos e a CHEMBIO foram desenvolvidas etapas seqüenciais para a transferência da tecnologia específica, atreladas a um cronograma, prevendo todas fases de trabalho, treinamentos, supervisões, importação de insumos e entrega de produtos (Ver Apêndice, Anexo 1). O Quadro 5 apresenta, de forma resumida, as principais fases e ações do processo de transferência de tecnologia que se baseia na incorporação, etapa por etapa, da produção e controle de qualidade, numa seqüência lógica invertida, isto é, do final para o início do processo, culminando na incorporação integral das tecnologias.

**Quadro 5: Fases da transferência de tecnologia**

<b>SUMÁRIO DE FASES E AÇÕES PREVISTAS PARA A TRANSFERÊNCIA</b>		
<b>ANO 1</b>	<b>ANO 2</b>	<b>ANO 3</b>
<b>1º SEMESTRE</b> 150000 unidades de PRODUTO INTERMEDIÁRIO 0	<b>1º SEMESTRE</b> 150000 unidades PRODUTO INTERMEDIÁRIO 1	<b>1º SEMESTRE</b> 150000 unidades PRODUTO INTERMEDIÁRIO 2
<b>Etapas Incorporadas por BioManguinhos:</b> Envase da solução tampão, processamento final do <i>kit</i> e Controle de Qualidade.	<b>Etapas a serem incorporadas por BioManguinhos:</b> Produção e envase da solução tampão, <b>embalagem dos suportes</b> , processamento final do <i>kit</i> e Controle de Qualidade.	<b>Etapas a serem incorporadas por BioManguinhos:</b> Produção e envase da solução tampão, <b>produção das fitas de teste</b> , produção e embalagem dos suportes, proces. final do <i>kit</i> e Controle de Qualidade.
<b>2º SEMESTRE</b> 150000 unidades PRODUTO INTERMEDIÁRIO 1	<b>2º SEMESTRE</b> 150000 unidades PRODUTO INTERMEDIÁRIO 2	<b>2º SEMESTRE</b> 150000 unidades PRODUTO INTERMEDIÁRIO 2
<b>Etapas Incorporadas por BioManguinhos:</b> <b>Produção</b> e envase da <b>solução solução tampão</b> , processamento final do <i>kit</i> e Controle de Qualidade.	<b>Etapas a serem incorporadas por BioManguinhos:</b> Produção e envase da solução tampão, <b>montagem</b> e <b>embalagem dos suportes</b> , processamento final do <i>kit</i> e Controle de Qualidade.	<b>Etapas a serem incorporadas por BioManguinhos:</b> Produção e envase da solução tampão, <b>preparo do conjugado a base de ouro coloidal</b> , <b>impregnação das membranas</b> , produção das fitas de teste, produção e embalagem dos suportes, processamento final do <i>kit</i> e Controle de Qualidade.

Fonte: Elaborado pelo autor

Para cumprir as fases do processo de transferência de tecnologia, foi necessário desenvolver especificações para os conjuntos de insumos a serem importados em cada fase e denominados: Produtos intermediários 0, 1 e 2, necessários para a produção dos *Kits*, (Quadro 6). Estes conjuntos de insumos tornam-se mais simples a medida que forem absorvidas e implantadas, em BioManguinhos, as etapas do processo de produção.

**Quadro 6: Especificação dos produtos intermediários do Kit “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”**

Denominação dos Insumos	Especificação
<b>Produto Intermediário 0</b>	Solução tampão e suporte plástico adaptado à fita de teste sensibilizada com peptídeos sintéticos de HIV-1 e HIV-2, ligado à ouro coloidal, uma membrana para retenção de células e hemoglobina e uma membrana absorvente de líquidos, de forma a funcionar perfeitamente dentro dos princípios de imunocromatografia e fluxo lateral, embalado em envelopes individuais de folha laminada, contendo dessecantes, tendo como acessórios lancetas, alça de transferência capaz de coletar 5 µL e adesivos curativos. BIO-MANGUINHOS dispensa a solução tampão, bulas, rótulos e embala o produto, bem como realiza a estocagem e Controle de Qualidade.
<b>Produto Intermediário 1</b>	Suporte plástico adaptado à fita de teste sensibilizada com peptídeos sintéticos de HIV-1 e HIV-2, junto com ouro coloidal, uma membrana para retenção de células e hemoglobina e uma membrana absorvente de líquidos, de forma a funcionar perfeitamente dentro dos princípios de imunocromatografia e fluxo lateral, embalado em envelopes individuais de folha laminada, contendo dessecantes, tendo como acessórios, lancetas, alça de transferência capaz de coletar 5 µL e adesivos curativos. BIO-MANGUINHOS produz a solução tampão, bulas, rótulos e embala o produto, bem como realiza a estocagem e Controle de Qualidade.
<b>Produto Intermediário 2</b>	Membrana de teste sensibilizada com peptídeos sintéticos de HIV-1 e HIV-2 tendo como acessórios os materiais necessários para a produção de suportes do teste, lancetas, alças de transferência capazes de coletar 5 µL e adesivos curativos. BIO-MANGUINHOS produz o suporte plástico adaptado à fita de teste sensibilizada com peptídeos sintéticos de HIV-1 e HIV-2, junto com ouro coloidal, uma membrana para retenção de células e hemoglobina e uma membrana absorvente de líquidos, de forma a funcionar perfeitamente dentro dos princípios de imunocromatografia e fluxo lateral, embalado em envelopes individuais de folha laminada contendo dessecantes, solução tampão, bulas, rótulos e embala o produto, bem como realiza a estocagem e Controle de Qualidade.

Fonte: Elaborado pelo autor

Para o estabelecimento da produção em Bio-Manguinhos, há a necessidade de adequar as instalações existentes, assim como faz-se necessário adquirir os equipamentos de produção, de modo que os laboratórios envolvidos com a produção dos *kits*, estejam aptos a incorporar as etapas do cronograma de transferência de tecnologia previsto no contrato.

### **3.4. Instalações Laboratoriais**

Baseado nas condições mínimas definidas pelos técnicos da CHEMBIO, nas condições básicas de BPF já discutidas com diretores e técnicos da ANVISA, além de nossas próprias avaliações por ocasião da visita técnica a CHEMBIO, ocorrida em março de 2004, foi possível estabelecer-se uma alternativa para adequar, no tempo necessário, algumas instalações do Departamento de Reativos, modificando lay out no anexo do Pavilhão Rockefeller, que foi considerada de baixo custo e fácil implementação, a saber:

#### **3.4.1. Para a Primeira Fase - Produto Intermediário 0 – Abril/2004**

Para o processamento da primeira remessa (50000 testes) e segunda remessa (100000 testes), foram utilizadas as seguintes instalações:

- CEAPA (Centro de Armazenamento de Produto Acabado): para armazenamento dos insumos e materiais importados e produto acabado;
- DERED (Depto. De Produção de Reativos): para envase, processamento final/embalagem, controle de qualidade do produto final e reatividade da solução tampão;
- LACOM (Laboratório de Controle Microbiológico): para realização dos testes microbiológicos e envase do *bulk* da solução tampão;
- LAFIQ (Laboratório de Controle Físico-Químico): para realização dos testes de pH e envase do *bulk* da solução tampão.

#### **3.4.2. Para a Segunda Fase - Produto Intermediário 1 – Junho/2004**

Para o processamento da remessa (150000 testes) foram utilizadas as seguintes instalações:

- CEAPA: para armazenamento dos insumos
- SEMEC: para preparo da solução tampão de corrida em forma de *bulk*;
- DERED: para envase, processamento final, embalagem e controle de qualidade do produto final e reatividade da solução tampão;
- LACOM: para realização dos testes microbiológicos e envase do *bulk* de solução tampão;
- LAFIQ: para realização dos testes de pH e envase do *bulk* de solução tampão.

### 3.4.3. Da Terceira Fase em diante – Produto Intermediário 2 – Previsto para Julho/2005

Para as etapas de produção envolvendo o processamento do produto intermediário 2, estarão sendo incorporadas/implantadas nas instalações, já anteriormente modificadas do DERED, outras modificações, a fim de dotar Bio-Manguinhos das condições ideais de processamento e estabelecimento das próximas fases mais críticas do processo. Estas exigirão requisitos especiais no ambiente de trabalho, especialmente, no que se refere ao controle de umidade e de temperatura. Estudos estão sendo realizados visando a possibilidade de adequar-se uma área de tamanho compatível com a necessidade, em torno de 120-150 m<sup>2</sup>, com investimento mínimo, para ampliar a escala de produção e de trabalho por cerca de dois anos até o momento envolvendo a sexta e última etapa. Esta etapa está relacionada à impregnação dos peptídeos, a proteína A e Ouro coloidal, e deverá ser implementada na nova planta de produção de reativos de Bio-Manguinhos, a ser construída no complexo tecnológico, com todas as condições e requisitos de BPF, da legislação vigente e padrão de excelência em nível internacional.

Abaixo, nos Quadros 7 e 8, segue um resumo das áreas de produção com os equipamentos necessários e seus requisitos ambientais indispensáveis à realização das atividades.

**Quadro 7: Áreas de produção e seus requisitos ambientais**

 <b>L A B O R A T Ó R I O S</b>	<b>Impregnação – Reel to Reel</b> Umidade 45 a 60% Temp. 22 a 25°C	<b>Montagem do Suporte</b> Umidade 40 a 50% Temp. 22 a 25°C
	<b>Laminação das Membranas</b> Umidade 30 a 40% Temp. 22 a 25°C	<b>Envelopamento</b> Umidade 40 a 50% Temp. 22 a 25°C
	<b>Corte das Tiras</b> Umidade 30 a 40% Temp. 22 a 25°C	<b>Estocagem</b> Temp. 22 a 25°C

Fonte: Elaborado pelo autor

### 3.4.4. Aquisição de Equipamentos

Há a necessidade de iniciar-se a aquisição dos equipamentos necessários a este projeto de forma imediata a fim de aproveitar os recursos do convênio, que se encontram em fase final de aprovação junto a UNESCO, por intermédio e recomendação do PNDST/Aids. As análises e a escolha dos equipamentos seguiram uma matriz de decisão que acompanhou o mesmo padrão do parque industrial da empresa cedente da tecnologia (CHEMBIO), considerando ainda os custos/benefícios de cada equipamento e nossa capacidade de implantação dos mesmos em Bio-Manguinhos, sendo compatível com as possíveis demandas a serem recebidas por parte dos Programas do Ministério da Saúde (entre 1 e 4 milhões de reações por ano).

**Quadro 8: Equipamentos a serem adquiridos para a implantação da produção dos testes rápidos**

Função do Equipamento	Tipo	Quantidade	Empresa	Custo US\$
Impregnação	Manual	01	Imagene	15,000
	<i>Reel to reel</i>	01	Imagene	70,000
Controle Visual de Impregnação	Automática	01	Imagene	20,000
Corte	Guilhotina	01	Kinetic	13,000
	Rolamento	01	Kinetic	20,000
Laminação	Manual	02	Kinetic	2 X 6,000
Fechamento do suporte com esteira	Semi-automática	01	Similar a CHEMBIO	2 X 4,000
Embalagem	Semi-automática	01	Similar a CHEMBIO	80,000
<b>Total</b>				<b>238,000</b>

Fonte: Elaborado pelo autor

As Fotos seguintes, de 1 a 6, ilustram os principais equipamentos supracitados, obtidas por ocasião da primeira visita técnica de profissionais de Bio-Manguinhos feita à empresa CHEMBIO/USA.

**Fotos 1 e 2: Equipamento para a impregnação de membranas “Reel to Reel”**



**Fotos 3 e 4: Equipamentos para laminação e corte de membranas**



**Fotos 5 e 6: Equipamentos para empacotamento dos suportes de teste**



Fonte: Fotos tiradas pelo Autor quando em visita as instalações da CHEMBIO/USA

### 3.5. Descrição do Produto Alvo

O produto final (Figura 15) a ser obtido e distribuído por Bio-Manguinhos para o Ministério da Saúde (PNDST/Aids) está descrito como: Teste de triagem qualitativa para a detecção de anticorpos para HIV-1 e HIV-2 (*Kit* para 20 reações). O kit denominado “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos” é um teste de triagem de uso único, que emprega um coquetel de antígenos para detectar anticorpos contra HIV-1 e HIV-2 indiferentemente em soro, no plasma e no sangue total, humano. O teste fundamenta-se na metodologia de imunocromatografia com fluxo lateral. Resultados reativos são evidências de exposição ao HIV-1/2 e podem ser usados como suporte ao diagnóstico clínico de HIV-1 e HIV-2. O “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos” é indicado para uso por profissionais da área de saúde de acordo com as instruções fornecidas.

O “Teste Rápido HIV-1/2 - Bio-Manguinhos” emprega uma combinação única de um anticorpo específico ligado a uma proteína conjugada com partículas de ouro coloidal e antígenos de HIV-1 e HIV-2 ligados a uma fase sólida (membrana). A AMOSTRA é aplicada ao respectivo orifício (S), seguida pela adição de uma solução tampão. A solução tampão propicia o fluxo lateral dos componentes liberados, promovendo a ligação dos anticorpos aos antígenos. Os anticorpos presentes (caso existam), ligam-se às proteínas específicas conjugadas que estão associadas ao ouro coloidal. No caso de uma amostra positiva, o complexo “imuno-conjugado” migra na membrana de nitro-celulose, sendo capturado pelos antígenos fixados na área do TESTE (T) e produzindo uma linha roxa/rosa. Na ausência de anticorpos para HIV-1 e HIV-2, a linha roxa/rosa não aparece na área do teste. Em todos os casos, a amostra continua a migrar na membrana produzindo uma linha roxa/rosa na área de CONTROLE (C), o que demonstra o funcionamento adequado dos reagentes. No Quadro 9 estão representados os principais componentes que formam o produto (*Kit*).

**Figura 15: O Kit “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”**



Fonte: Fotos do autor

**Quadro 9: Componentes do Kit “Teste Rápido para HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”**

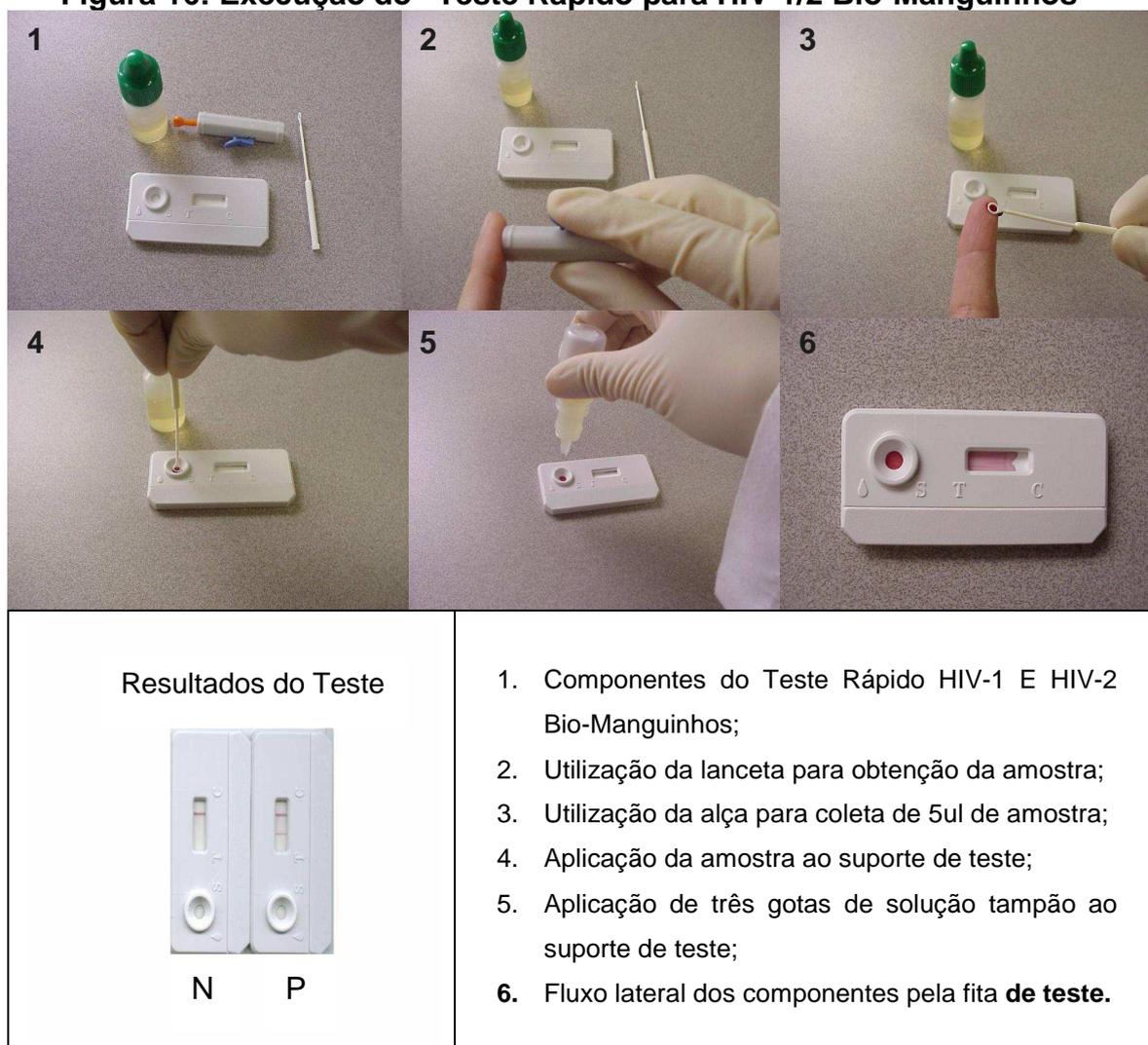
Identificação	Descrição dos Componentes	Quantidade
R-01	Suportes contendo antígenos de HIV-1 e HIV-2 e o conjugado de ouro coloidal adsorvidos em membranas especiais	20
R-02	Solução tampão (frasco conta-gotas)	1 (5mL)
R-03	Alças Coletoras Descartáveis (5µL)	20
R-04	Lancetas descartáveis	20
	Manual de Instruções de Uso	

Fonte: Elaborado pelo autor

### 3.5.1. Finalidade do Teste

O “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos” é um teste de triagem de uso único, que usa um coquetel de antígenos para detectar os anticorpos contra os vírus HIV-1 e HIV-2 no soro, plasma e sangue total, humano. O “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos” é indicado para uso por profissionais da área de saúde e deve ser usado de acordo com as instruções fornecidas. Na Figura 16, está demonstrado o procedimento padrão de uso do *Kit* a partir de punção digital de sangue.

**Figura 16: Execução do “Teste Rápido para HIV-1/2 Bio-Manguinhos”**



Fonte: Elaborado pelo autor

### 3.6. Controle de Qualidade – Fases 1 e 2

Para a produção da solução tampão em Bio-Manguinhos foi recomendado um laboratório qualificado e certificado para esta função. O Setor de Meios de Cultura do Departamento de Qualidade (DEQUA) foi escolhido para esta tarefa. Neste contexto, pode-se dividir as etapas a serem feitas, a saber:

- Após a chegada da solução tampão em forma de *bulk* (1ª fase) e após a produção da solução tampão por Bio-Manguinhos (2ª fase), deverá ser retirado uma alíquota e enviado aos Laboratórios Físico- Químico e Microbiológico para o controle de pH e microbiológico, respectivamente.
- Após o envase da solução tampão, as amostras serão enviadas para o Laboratório Físico Químico, Laboratório de Controle Microbiológico e para o

Setor de Controle de Reativos para testes de pH, microbiológicos e de reatividade frente a painéis estabelecidos pela CHEMBIO, respectivamente.

- Os suportes, contendo o antígeno e o conjugado, deverão ser “amostrados” e enviados para o Setor de Controle de Qualidade de Reativos para testes de sensibilidade, especificidade e estabilidade frente a painéis estabelecidos pela CHEMBIO.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Tendo como linha de orientação os elementos básicos descritos na metodologia, a equipe constituída para a implementação da atividade, avançou de forma segura e acelerada para viabilizar o objetivo maior, qual seja a incorporação da tecnologia de produção de teste rápido no prazo mais curto possível.

A CHEMBIO DIAGNOSTIC SYSTEMS, sediada em Medford, NY/USA, uma companhia de Biotecnologia, dedicada ao desenvolvimento e produção de *kits* para diagnóstico, em especial testes rápidos, que comercializa seus produtos em mais de 30 países do mundo, foi uma das empresas identificadas por Bio-Manguinhos como possível parceira no processo de transferência de tecnologia para a produção de testes rápidos para o diagnóstico do HIV-1 e HIV-2. Sua eventual escolha como parceira oficial de Bio-Manguinhos neste novo empreendimento deu-se pelo fato da CHEMBIO deter conhecimentos e expertise no que se refere à tecnologia de imunocromatografia com fluxo lateral que se aplica como um teste rápido para a detecção da infecção causada pelo vírus HIV-1 e HIV-2 e que pode ser igualmente aplicada a outros testes rápidos voltados para o diagnóstico de diversas patologias. O produto da CHEMBIO (*Stat-Pak*) possui formato absolutamente compatível com todas as necessidades e aplicações a serem adotadas pelo PNDST/Aids, inclusive pelo fato de que podem ser utilizados como amostra, soro, plasma ou sangue total, coletado através de punção digital ou venosa.

#### **4.1. Estudos de Avaliação da Qualidade do *Stat-Pak* no Mundo**

Essencial para o estabelecimento da parceria foi à consolidação dos resultados de estudos que avaliaram o desempenho do *kit* da CHEMBIO – *Stat-Pak* HIV-1/2. Doze estudos foram realizados em âmbito internacional, sumarizados na Tabela 6, obtendo-se para o *Stat-Pak* excelentes resultados de sensibilidade e especificidade.

**Tabela 6: Sumário dos estudos realizados com o *Stat-Pak*, no mundo, onde N/d significa não disponível.**

PAÍS	Nº AMOSTRAS	SENSIBILIDADE	ESPECIFICIDADE
CANADÁ	26	100%	100%
EUA 1	100	100%	N/d
EUA 2	N/d	100%	100%
GHANA 1	98	100%	100%
GHANA 2	100	100%	100%
GUATEMALA	N/d	100%	100%
INDIA 1	300	100%	100%
INDIA 2	100	100%	100%
INDIA 3	90	100%	100%
MALÁSIA 1	100	100%	100%
MALÁSIA 2	100	100%	100%
ÁFRICA DO SUL	150	100%	100%

Fonte: CHEMBIO/USA - 2004

#### 4.2. Estudos de Avaliação da Qualidade do *Stat-Pak* no Brasil

Apesar dos estudos apresentados pela CHEMBIO parecerem bastante consistentes, fez-se necessário sugerir a realização de outros estudos, no Brasil, uma vez que o produto nunca tinha sido usado ou comercializado no país. Após discussão com a CHEMBIO e com o PNDST/Aids, foram desenvolvidos protocolos para três estudos de avaliação do *Stat-Pak* a serem realizados por técnicos de Bio-Manguinhos. Os resultados obtidos nestes estudos foram avaliados utilizando como critério, outros testes diagnósticos, comercialmente disponíveis, tais como: ELISA (EIE); imunofluorescência (IFI); *Western Blot* (WB); e testes moleculares (PCR). O primeiro estudo avaliou o desempenho do *kit* utilizando 150 amostras de soro e plasma sabidamente negativas e sabidamente positivas, provenientes de dois Hemocentros de Pernambuco e do Rio de Janeiro e de diversos CTAs (Centros de Testagem e Aconselhamento em HIV) do Brasil. Para este primeiro estudo, o *kit* apresentou 100% de especificidade na detecção das amostras negativas – nenhum resultado falso positivo – e 100% de sensibilidade na detecção das amostras positivas – nenhum resultado falso negativo (Tabela 7).

**Tabela 7: Resultados do 1º estudo de avaliação do *Stat-Pak* HIV-1/2 obtidos por técnicos de Bio-Manguinhos, no Brasil, onde R=reativo, NR=não reativo, P=positivo e N=negativo**

Instituições (Número de Amostras)	Metodologias											
	EIE		IFI-BIO		W.B.- BIO		PCR-CDC		STAT-PAK		TOTAL	
	R	NR	P	N	P	N	P	N	R	NR	P	N
HEMORIO (17)	17		17		17		17		17		17	
Hemolagos (25)		25		25		25				25		25
CTA (83)	83		83		83				83		83	
HEMOPE (25)		25		25		25				25		25
Total (150)	100	50	100	50	100	50	17		100	50	100	50

Fonte: Relatórios técnicos de Bio-Manguinhos - 2003

O segundo estudo realizado por Bio-Manguinhos testou o desempenho do *Stat-Pak* utilizando amostras provenientes de dois painéis sorológicos de referência internacional, PRA203 e PRB923, fabricados pela Boston Biomedica, Inc. O painel identificado como PRA203, era constituído por 18 amostras de soros e plasmas com reatividade confirmada, em dois ou mais testes de detecção de antígeno (HIV), além de um soro e um plasma negativos, incluídos como controles negativos. O painel identificado como PRB923, compreendia 13 amostras de plasma de um mesmo indivíduo, coletadas em intervalos de tempo diferentes, caracterizado como painel de soroconversão. Deste painel foram avaliadas somente 6 amostras seguindo uma ordem decrescente de data de coleta (foram utilizadas amostras referentes às últimas coletas). A avaliação realizada com o painel PRA203 apresentou uma concordância total entre os resultados do *Stat-Pak* e a chave do painel. Desta forma, na avaliação realizada com o painel PRB923 foi observado que, as amostras conhecidamente positivas (considerando ELISA, IFI e *Western Blot*) apresentaram resultado positivo e as duas amostras negativas apresentaram resultado negativo, com o *Stat-Pak*. Estes resultados demonstraram que o teste diagnóstico *Stat-Pak* HIV 1/2 apresentou 100% de especificidade e sensibilidade.

No terceiro e último estudo realizado em São Paulo/SP, nas instalações do Centro de Referência e Treinamento em DST e AIDS – CRT-SP, diversas amostras de sangue total, positivas e negativas para HIV, foram testadas utilizando o *Stat-Pak*. Estas amostras foram coletadas no mesmo dia, no ambulatório e encaminhadas para o laboratório onde nossos técnicos, acompanhados pelos técnicos do CRT-SP,

realizaram os testes conforme sugestão do PNDST/Aids. O *kit Stat-Pak HIV-1/2* apresentou 100% de especificidade para as amostras negativas testadas, sem que fossem observados resultados falso-positivos e, da mesma forma, o *kit* apresentou 100% de sensibilidade ao serem testadas amostras conhecidamente positivas (ELISA e IFI), sem que fossem observados resultados falso-negativos. Foram também coletadas amostras do plasma dos mesmos indivíduos para a execução de testes sorológicos convencionais em Bio-Manguinhos. Nosso corpo técnico utilizou dois ensaios imunoenzimáticos para triagem, além da IFI/HIV-1 para a confirmação dos positivos e/ou discordantes. Não foram observadas discordâncias na comparação dos resultados obtidos no *Stat-Pak HIV-1/2* (sangue total) e a sorologia convencional (plasma).

Um outro estudo muito importante, denominado Estudo de Curitiba, está em fase final de conclusão e deverá ser divulgado brevemente, oficialmente pelo PNDST/Aids. Trata-se de um estudo coordenado em conjunto pelo PNDST/Aids e o *Center for Diseases Control and Prevention* (CDC/USA), que objetiva a definição de um algoritmo, utilizando exclusivamente testes rápidos para o diagnóstico de HIV-1 e HIV-2. Foram analisadas cerca de 2.000 amostras, comparando-se 7 diferentes produtos, sendo os 5 principais produtos comercializados no Brasil e ainda, os de Bio-Manguinhos e o da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Na primeira fase do estudo, o *Kit* “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”, apresentou os índices de sensibilidade e especificidade, superiores aos critérios estabelecidos pela ANVISA (sensibilidade de 100% e especificidade de 99,5%). Os níveis de operacionalidade e aplicabilidade para a rede pública foram plenamente satisfatórios.

Mais recentemente, o PNDST/Aids, promoveu um treinamento para 35 Unidades de Saúde da Região Amazônica, utilizando exclusivamente testes rápidos para HIV-1 e HIV-2, com o objetivo de ampliar as ações de diagnóstico do HIV-1 e HIV-2 em locais que não dispõem de infra-estrutura laboratorial. Neste treinamento, que envolveu 4 produtos, foi possível obter-se diversos depoimentos no sentido de ressaltar as qualidades, especialmente a facilidade do uso do *Kit* “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”.

### 4.3. A Transferência de Tecnologia

Uma vez constatado o desempenho adequado em termos de sensibilidade, especificidade, rapidez e simplicidade de operação do diagnóstico desejável do *kit Stat-Pak HIV-1/2* no Brasil, um Memorando de Entendimento foi firmado entre a companhia americana detentora da tecnologia, a CHEMBIO DIAGNOSTIC SYSTEMS, e Bio-Manguinhos/FIOCRUZ. Este memorando constituiu o primeiro passo na construção de um instrumento formal de parceria; o contrato legal detalhando e selando o processo de transferência de tecnologia. Através do referido memorando, ficou acordado entre as partes que a CHEMBIO transferiria a tecnologia e o conhecimento técnico para Bio-Manguinhos/FIOCRUZ a fim de que, em três anos, Bio-Manguinhos fosse capaz de produzir, de forma autônoma, um *kit* de teste rápido para o diagnóstico do HIV-1 e HIV-2 semelhante ao *Stat-Pak*.

O atual contrato de transferência de tecnologia assinado entre a CHEMBIO DIAGNOSTIC SYSTEMS, BIO-MANGUINHOS/FIOCRUZ e o PNDST/AIDS-MS, prevê a transferência das tecnologias (fluxo lateral e imunocromatografia) e o conhecimento técnico-operacional necessário à produção dos testes rápidos para diagnóstico do HIV-1 e HIV-2. A transferência deverá ser concluída de forma gradual e cumulativa, num prazo máximo de três anos. Cada etapa de transferência cumprida resultará no aumento quantitativo da produção local brasileira relacionada aos produtos intermediários, denominados: Produto Intermediário 0, Produto Intermediário 1 e Produto Intermediário 2. Ao término de cada ano ou fase, um mínimo de 300000 testes (150000/semestre) deverão ser adquiridos da CHEMBIO e processados por Bio-Manguinhos sendo fornecidos, em seguida, ao PNDST/Aids.

Durante o período de transferência, a CHEMBIO cederá à Bio-Manguinhos toda a informação técnica necessária referente à produção, ao controle de qualidade, bem como o treinamento dos técnicos de Bio-Manguinhos na execução de todas as atividades envolvidas na confecção do produto final. As informações sigilosas detidas pela CHEMBIO e o treinamento adequado dos técnicos brasileiros serão realizados na medida que Bio-Manguinhos avançar no cumprimento das fases de transferência.

No período da assinatura do contrato, o PNDST/Aids utilizava em torno de 300000 testes por ano, sendo os mesmos importados a um custo anual total de, aproximadamente, um milhão de dólares. Estima-se que, ao término da transferência, a produção nacional dos *kits* de testes rápidos para HIV-1 e HIV-2 por

Bio-Manguinhos acarretará numa economia para o PNDST/Aids de, pelo menos, US\$ 500,000 por ano (PNDST/Aids, MS, 2004).

A princípio, os testes rápidos para HIV-1 e HIV-2 estarão especialmente voltados à triagem sorológica de gestantes junto à rede pública de saúde vinculada ao PNDST/Aids. Uma vez que a transmissão perinatal corresponde, atualmente, a um significativo percentual dos casos de infecção por HIV em crianças menores de 13 anos no Brasil, esta iniciativa visa, sobretudo, à prevenção da transmissão vertical do HIV/Aids em recém-nascidos. Num futuro próximo, contudo, está prevista a ampliação do uso dos “Testes Rápidos HIV-1/2 – Bio-Manguinhos” para a população sem acesso, das regiões norte-nordeste do país e, eventualmente, sua distribuição por toda a rede de atenção básica do SUS.

#### **4.3.1. Treinamentos Relacionados à Transferência de Tecnologia**

Efetivamente, iniciou-se a transferência de tecnologia por intermédio da visita técnica de quatro técnicos de Bio-Manguinhos às instalações da empresa CHEMBIO/USA, em Medford/NY, no período de 01-11/03/2004, representando as áreas de Diretoria, Produção, Controle de Qualidade e Garantia de Qualidade.

Inicialmente os objetivos da visita técnica foram absorver, tanto quanto possível, as informações sobre a tecnologia, os processos de produção, controle e garantia de qualidade, equipamentos e instalações necessárias. Além disso, foi fornecida toda a documentação técnica necessária ao pedido de registro. De fato, além de documentação robusta e consistente, foi possível ampliar e aprofundar informações específicas sobre o produto e o processo de produção, permitindo que Bio-Manguinhos pudesse estabelecer as estratégias para iniciar, imediatamente, a transferência de tecnologia e, ainda, prever as ações necessárias para cada uma das futuras etapas.

Após a visita e o trabalho desenvolvido junto à equipe da CHEMBIO, foi consensual, entre nosso grupo, que Bio-Manguinhos possuía plenas condições de cumprir sua parte no processo de transferência de tecnologia, desde que continuassem integradas as equipes de Produção, Controle e Garantia da Qualidade, apoiadas pela Diretoria de Bio-Manguinhos. Anteriormente, havia a percepção de que se tratava de tecnologia de ponta, mas de baixa complexidade científica e tecnológica. No entanto, após a conscientização do trabalho a ser feito, constatamos que os processos envolvidos na tecnologia em tela são extremamente

complexos e com riqueza de detalhes técnicos. Constatou-se “segredos tecnológicos”, que Bio-Manguinhos deverá absorver a partir de um efetivo e dedicado trabalho, que não será superficial e exigirá pessoal tecnicamente qualificado.

Por fim, foi possível verificar que a CHEMBIO é uma empresa de médio porte e altamente focada no que produz – teste rápido, o que lhe concede altíssima especialização e excelência nesta plataforma tecnológica, já que todo o seu arsenal de desenvolvimento tecnológico está direcionado ao aperfeiçoamento da sua linha atual de produção e para o lançamento de novos produtos na linha de teste rápido.

Num segundo momento, no período de 31/05/2004 a 04/06/2004, recebemos a visita técnica do Dr. Javan Esfandiari, da CHEMBIO/USA, responsável científico pela transferência de tecnologia, com o objetivo de transferir os conhecimentos relacionados as etapas de produção, envase e controle de qualidade da solução tampão de corrida do teste. Esta solução tampão, apesar de não envolver complexidade tecnológica para sua preparação, constitui um dos “segredos tecnológicos” relacionados à plataforma de imunocromatografia com fluxo lateral, fundamental para o funcionamento ideal do teste. Se dependesse da CHEMBIO, este “segredo tecnológico” seria a última informação a ser repassada para Bio-Manguinhos no processo de transferência de tecnologia em curso. Além disso, foi possível validar, em conjunto, as instalações de Bio-Manguinhos destinadas à produção da solução tampão, o controle de qualidade e o processamento final do *Kit*, dando-se como concluída a primeira fase do processo de transferência de tecnologia.

#### **4.4. Análise Prévia, Certificação de BPF e Registro do *Kit* “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”**

Antes que fosse possível viabilizar a comercialização dos *kits* de teste rápido para o diagnóstico do HIV-1 e HIV-2, foi necessário o cumprimento de pré-requisitos técnico-burocráticos que incluíram a análise prévia do *kit* produzido por Bio-Manguinhos, (Figura 17), realizada pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde Pública (INCQS), bem como a certificação de Boas Práticas de Fabricação (BPF), (Figura 18), e a obtenção de registro do *kit* “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos” (Figura 19), junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

**Figura 17: Laudo de análise prévia do “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”**

**MINISTÉRIO DA SAÚDE**  
**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**  
**INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE**  
 AV. BRASIL, 4365 - MANGUINHOS - CEP 21045-000 - RIO DE JANEIRO - RJ - BRASIL  
 TEL.: (21) 2573-1072 FAX: (21) 2290-0915

Data: 01/08/2004  
 Hora: 15:39:18  
 Via : 1

**Laudo de Análise 2338.00/2004**

Número do Protocolo : 002973  
 Modalidade de Análise: PRÉVIA  
 Programa : KITS E REAGENTES DE DIAGNÓSTICO  
 Nome do Produto: TESTE RÁPIDO  
 Marca: BIO-MANGUINHOS  
 Data de Fabricação: 01/06/2004  
 Data de Validade: 31/08/2005  
 Número do Lote: 046TR002  
 Registro: NÃO CONSTA  
 Fabricante: BIO-MANGUINHOS - INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM IMUNOBIOLOGICOS  
 Logradouro: AV. BRASIL, 4365 - MANGUINHOS - CEP:21045-900 - RIO DE JANEIRO/RJ  
 País: BRASIL  
 Distribuidor: BIO-MANGUINHOS - INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM IMUNOBIOLOGICOS  
 Logradouro: AV. BRASIL, 4365 - MANGUINHOS - CEP:21045-900 - RIO DE JANEIRO/RJ  
 País: BRASIL  
 Local de Coleta: BIO-MANGUINHOS  
 Requerente: BIO-MANGUINHOS - INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM IMUNOBIOLOGICOS  
 Pessoa de Contato: AKIRA HOMMA  
 Documento: MEMO 190/CEAPA/04  
 Data de Entrada: 19/07/2004  
 Descrição da Amostra: 50 CAIXAS CONTENDO, CADA UMA, 204 TESTES DO PRODUTO: TESTE RÁPIDO HIV-1/2 - BIO-MANGUINHOS. PROCESSO ANVISA Nº 25351.056672/2004-52

Data: 01/08/2004  
 Hora: 15:39:18  
 Via : 1

**Laudo de Análise 2338.00/2004**

Unidade Analítica: DEPARTAMENTO DE IMUNOLOGIA

**Nome do Ensaio:** ANÁLISE DE DOCUMENTAÇÃO  
**Referência:** PORTARIA Nº 8/96 - SVS/MS  
**Valor de Referência:** Satisfatória, de acordo com os critérios estabelecidos na legislação supracitada.  
**Resultado:** Satisfatória  
 A documentação apresentada consta de: avaliação do produto executado por diferentes laboratórios, resultados de controle de qualidade protocolos 001/04, 002/04 e 003/04, ensaio de estabilidade, SOP nº 205 - estabilidade do produto, protocolos de produção de cada componente do produto.  
**Conclusão:** SATISFATÓRIO

---

**Nome do Ensaio:** ANÁLISE DE ROTULAGEM  
**Referência:** PORTARIA Nº 8/96 - SVS/MS  
**Valor de Referência:** Satisfatória, de acordo com os critérios estabelecidos na legislação supracitada.  
**Resultado:** Não se Aplica  
 Produto em fase de registro na Unidade de Produtos para Diagnóstico In Vitro da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Adequar rigorosamente a rotulagem e a instrução de uso aos critérios estabelecidos na legislação vigente.  
**Conclusão:** NÃO SE APLICA

---

**Nome do Ensaio:** SENSIBILIDADE  
**Referência:** AGÊNCIA FRANCESA DE MEDICAMENTOS  
**Valor de Referência:** Igual a 100%  
**Resultado:** Igual a 100%  
 Em 200 amostras verdadeiramente positivas, não foi encontrado nenhum resultado falso negativa.  
**Conclusão:** SATISFATÓRIO

---

**Nome do Ensaio:** ESPECIFICIDADE  
**Referência:** AGÊNCIA FRANCESA DE MEDICAMENTOS  
**Valor de Referência:** Igual ou maior que 99,5%  
**Resultado:** Igual a 100%  
 Em 71 amostras verdadeiramente negativas, não foi encontrado nenhum resultado falso positivo.  
**Conclusão:** SATISFATÓRIO

Data: 01/08/2004  
 Hora: 15:39:18  
 Via : 1

**Laudo de Análise 2338.00/2004**

**Observações:** Avaliamos os parâmetros de sensibilidade e especificidade do produto em questão frente a soro e plasma humanos, painel comercial nacional e painel comercial anti-HIV-1/2 Combinado, Título Mist e anti-HIV-2, seguindo rigorosamente a instrução de uso que acompanha o produto.  
 Na sensibilização da fase sólida do reagente foram utilizados antígenos do HIV-1/2.  
 Satisfatória em relação aos ensaios realizados.  
 Este laudo não pode ser utilizado em publicidade, propaganda ou para fins comerciais. Os resultados do mesmo referem-se única e exclusivamente a amostra encaminhada pelo solicitante, para fins de registro.

**Conclusão:** SATISFATÓRIA

Em, 01/08/2004

Marisa C. Adati  
 ID/INCQS/FIOCRUZ  
 M. 4627912

ARMI W. NOBREGA  
 VICE-DIRETOR F-2  
 INCQS / FIOCRUZ

MISSÃO

"Contribuir para a promoção e recuperação da saúde e prevenção de doenças, atuando como referência nacional para as questões científicas e tecnológicas relativas ao controle da qualidade de produtos, ambientes e serviços vinculados à Vigilância Sanitária."

**Fonte: Documentação Técnica de Bio-Manguinhos arquivada junto ao Departamento de Garantia de Qualidade**

## Figura 18: Certificado de BPF



Ministério da Saúde  
Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
Gerência-Geral de Tecnologia de Produtos para a Saúde

Certificado de Boas Práticas de Fabricação e Controle de Produtos para Saúde

Certificado nº: 000178 /Ano: 2004

Considerando o disposto na Lei n.º 9.782, de 26 de janeiro de 1999, o Decreto n.º 3.029, de 16 de abril de 1999 e a publicação no Diário Oficial da União de 09/11/2004 certifico que os estabelecimentos da empresa, a seguir descrita, cumprem com a legislação sanitária vigente, quanto às Boas Práticas de Fabricação e Controle exigidas pela autoridade sanitária brasileira, e estão em consonância com a Resolução Mercosul GMC n.º 04/95 para produtos médicos, ou Resolução GMC n.º 65/96 sobre produtos para diagnóstico de uso in vitro, estando seus estabelecimentos sujeitos a inspeções periódicas.

Empresa: FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - INST. TEC. IMUNOBIOLOGICOS C.N.P.J.: 33.781.055/0001-35

Endereço: AVENIDA BRASIL, 4365 Município: RIO DE JANEIRO

CEP: 21.045-900 UF: RJ Autorização de Funcionamento n.º: 801.421-7

Valido Até: 09/11/2005

Brasília - DF, quarta-feira, 17 de novembro de 2004

Relação de Produtos em Anexo

Paulino Shiguer Araki

Gerência-Geral de Tecnologia de Produtos para a Saúde  
GGTPS

SEPN 515, Bloco B, Edifício Ômega / Brasília (DF) - CEP 70.770-502 - http://www.anvisa.gov.br



Ministério da Saúde  
Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
Gerência-Geral de Tecnologia de Produtos para a Saúde

Anexo

Certificado de Boas Práticas de Fabricação e Controle de Produtos para Saúde

Certificado nº: 000178 /Ano: 2004

Certificado de Boas Práticas de Fabricação para os Produtos:  
Teste Rápido HIV 1/2 Biomanguinhos

Fim da Listagem

Razão Social: FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - INST. TEC. IMUNOBIOLOGICOS

C.N.P.J.: 33.781.055/0001-35

Certificado nº: 000178 /Ano: 2004

Brasília - DF, quarta-feira, 17 de novembro de 2004

Página 1 de 1

Paulino Shiguer Araki

Gerência-Geral de Tecnologia de Produtos para a Saúde  
GGTPS

SEPN 515, Bloco B, Edifício Ômega / Brasília (DF) - CEP 70.770-502 - http://www.anvisa.gov.br

Fonte: Documentação Técnica de Bio-Manguinhos arquivada  
junto ao Departamento de Garantia de Qualidade

## Figura 19: Publicação do registro do *Kit* “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ 8.01421-7  
Deteccao/Qualif.Antig.Antic.Imunodef.Humana 25351.056672/2004-  
52  
TESTE RAPIDO HIV-1/2 BIO MAGUINHOS  
FABRICANTE : FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - BRASIL  
Embalagem contendo 20 testes  
CLASSE : D 80142170019  
8003 - Registro de Produtos para Diagnósticos de Uso In Vitro,  
NACIONAL

-----  
Fonte: Documentação Técnica de Bio-Manguinhos arquivada  
junto ao Departamento de Garantia de Qualidade

### 4.5. Produção dos *Kits* “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”:

#### Nacionalização da Produção

A partir das importações do “Produto Intermediário 0”, foram desenvolvidos os manuais de instrução de uso (*Kit* e lancetas), bem como, rótulos e embalagens de insumos e produto final (Ver Apêndice, Anexo 2), de acordo com as Normas e requisitos técnicos da legislação brasileira. Em seguida, foram selecionados os técnicos que, em serviço, estabeleceram os procedimentos relacionados ao processamento final dos *Kits*. Nesta etapa, foram realizados o envase da solução tampão, (Foto 7), embalagem e rotulagem de todos os insumos e empacotamento final do produto no formato de *Kit* (Fotos 8 e 9). A tarefa de Bio-Manguinhos ainda envolveu diversas análises e testes de controle de qualidade da solução tampão (*bulk* e envasado), dos suportes contendo o antígeno e o conjugado, e ainda, de cada lote do produto final (*Kit*).

Os três primeiros lotes foram considerados lotes-piloto, onde foram verificados aspectos relacionados à reprodutibilidade, consistência e capacidade de processamento, considerando o número de técnicos e o tempo utilizado para a execução das atividades. O lote 046TR002 foi escolhido aleatoriamente para ser submetido à análise prévia junto ao INCQS, tendo sido aprovado com 100% de acerto em todos os requisitos.

A partir das novas importações de “Produto Intermediário 0”, outros quatro lotes foram processados e produzidos, totalizando 150 mil testes.

## Fotos 7, 8 e 9: Produção do *Kit* “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”

Envase da solução tampão



Empacotamento dos *Kits*

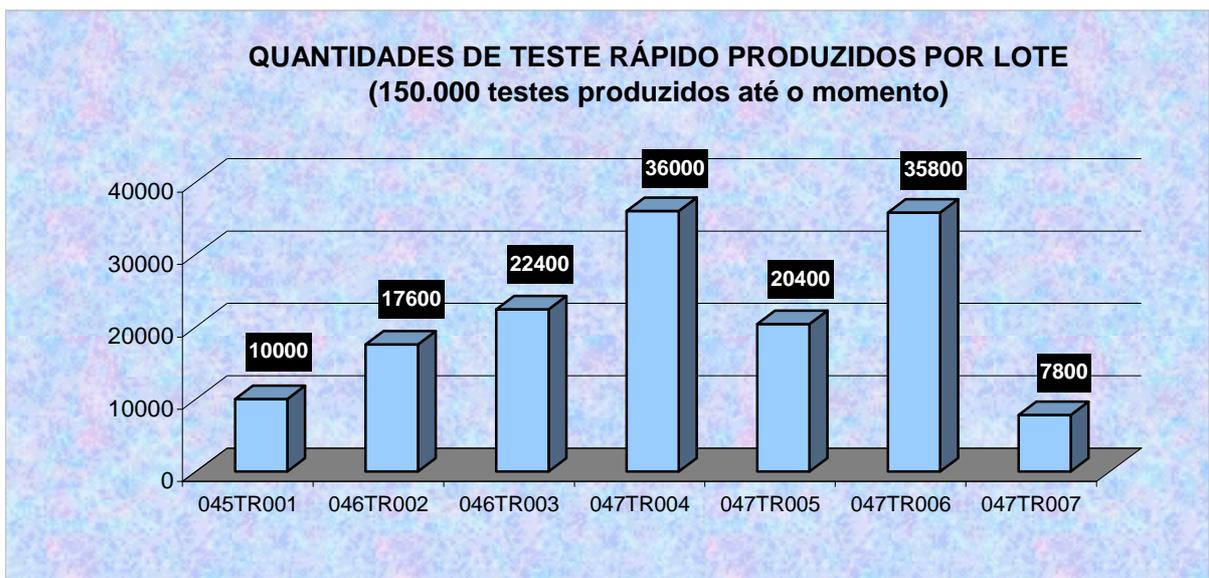


*Kits* completos e demonstração dos componentes



Fonte: Fotos do Autor obtidas durante a produção dos *Kits* em Bio-Manguinhos

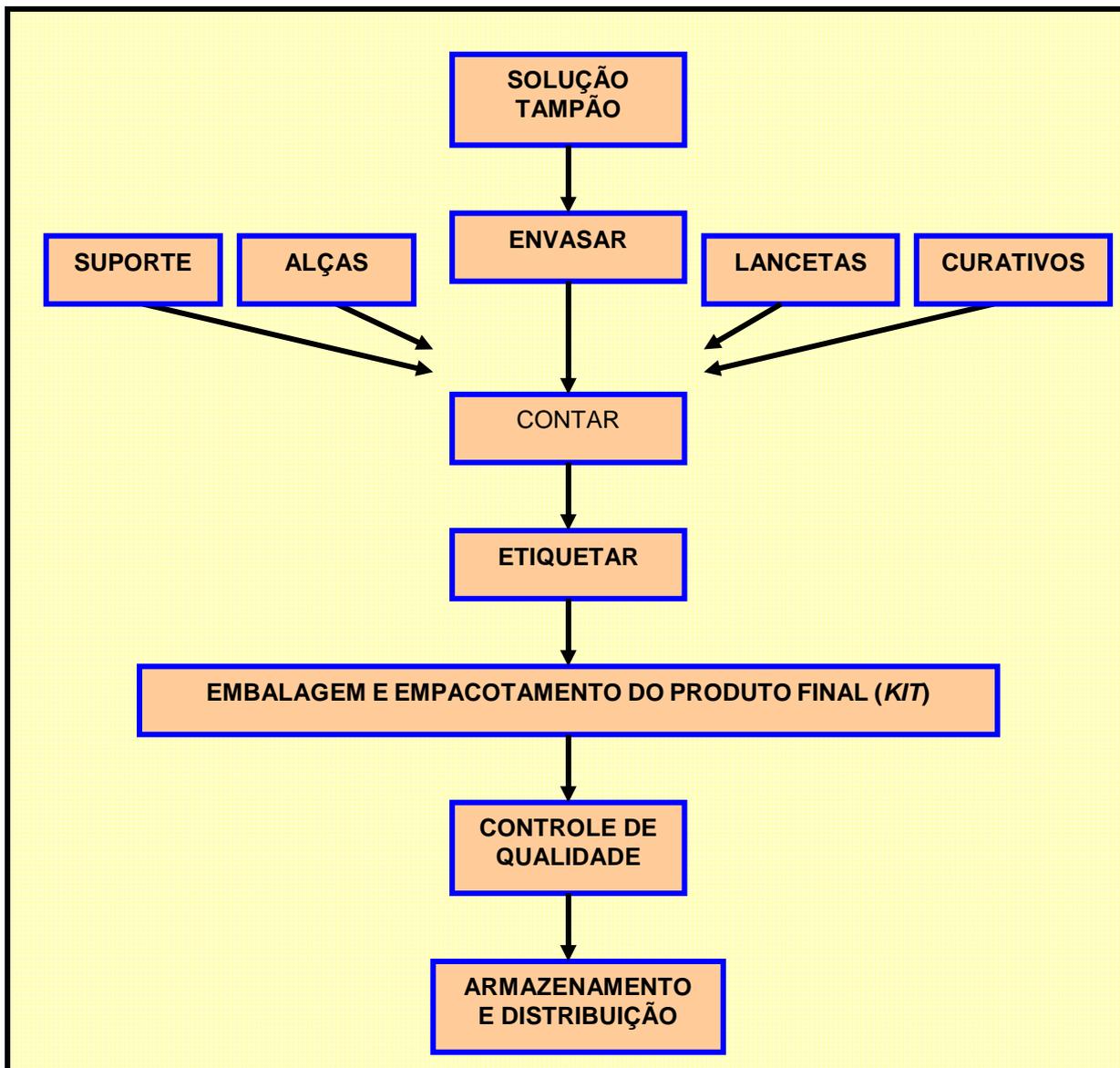
Gráfico 3: Distribuição de testes processados por lote de *Kit*



Fonte: Elaborado pelo autor

Na Figura 20, observa-se um fluxograma básico para o processamento final do *Kit* “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”, a partir de “Produto intermediário 0”, realçando-se os principais insumos envolvidos.

**Figura 20: Fluxograma básico de produção do *Kit***



Fonte: Elaborado pelo autor

#### **4.6. Ensaio de Controle de Qualidade e Estudos de Estabilidade do *Kit* “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”**

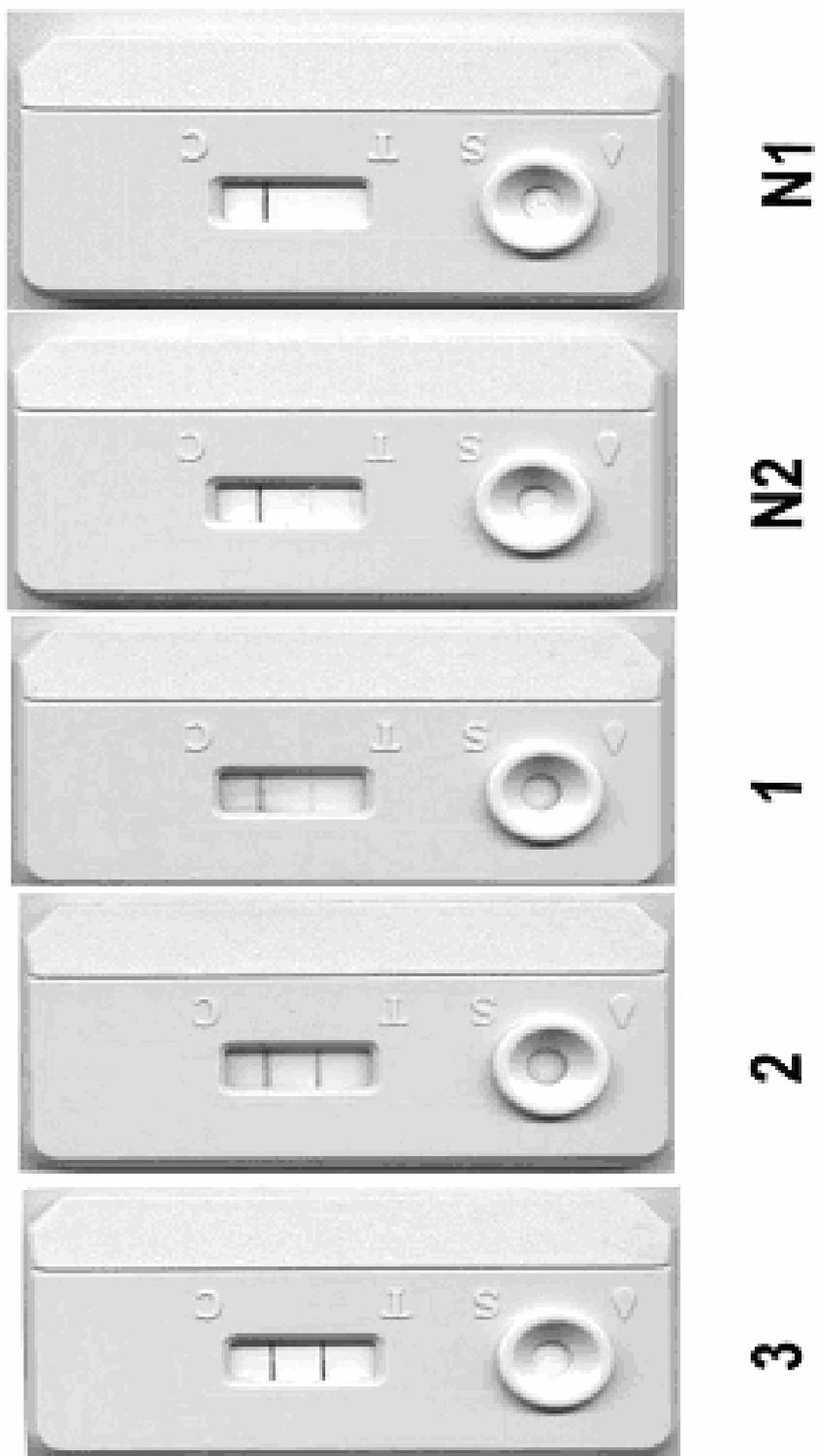
A partir do Produto Final (*Kit*) foram iniciados os ensaios de controle de qualidade, lote a lote, de acordo com os protocolos, recomendações e critérios estabelecidos pela empresa cedente da tecnologia, para a verificação dos

parâmetros de especificidade, sensibilidade e reprodutibilidade, visando sua aprovação para uso.

Nestes ensaios, para estudos de especificidade foram utilizadas 05 (cinco) amostras de soro e 05 (cinco) amostras de sangue, negativas. Para o teste de sensibilidade analítica (HIV-1) foi utilizada uma amostra padrão (CQ082300) diluída de forma seriada entre 1:64 v/v até 1:1024 v/v (sendo esperado resultado reagente até 1:128 v/v). Também, para HIV-2 foi utilizada uma outra amostra padrão (CQ022201) diluída de forma seriada entre 1:4 v/v e 1:64 v/v (sendo esperado resultado reagente até 1:8 v/v). Para a avaliação da sensibilidade convencional, vários painéis comerciais foram utilizados, totalizando 70 amostras (Painéis BBI para HIV-1: PRZ204, WWRB303 e PRB204 e Painel TERAGENIX para HIV-2 contendo as amostras 24204, 24206, 24207, 24210, 24212, 24215, 24217, 24218, 24219, 24221, 24222, 24224, 24225, 24226 e 24228). Para o estudo de reprodutibilidade foram utilizadas as amostras-padrão (CQ082300 e CQ022201) nas diluições de 1:128 v/v e 1:8 v/v, respectivamente, tanto em soro como em sangue.

Em todas as análises de controle de qualidade de produto final (*Kit*), obtivemos plena aprovação. Na Figura 21 apresentamos o critério básico de positividade (positivo 1+, 2+ e 3+) e negatividade (normal 1 e 2) considerado pela empresa cedente da tecnologia para avaliações de controle de qualidade.

**Figura 21: Escala de avaliação de reatividade para ensaios de controle de qualidade, onde 1, 2, 3 referem-se a padrões de amostras positivas e N1, N2 são relacionados a padrões de amostras negativas**



Fonte: Documentação técnica da CHEMBIO/USA.

Após a obtenção destes resultados, Bio-Manguinhos iniciou os estudos de estabilidade em tempo real e realizou estudo de estabilidade em tempo acelerado para o *Kit* “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”, visando determinar o desempenho do *kit* no Brasil. Tanto para os testes em tempo real quanto para os testes em tempo acelerado foram utilizadas quatro amostras: uma fortemente positiva, outra fracamente positiva e duas negativas (estas, do mesmo painel). O estudo foi realizado utilizando suportes de teste (cassetes) provenientes de três lotes distintos (300 suportes contendo antígeno e conjugado, de cada lote). Todos os testes foram realizados conforme descrito na bula do produto. Foram também realizados testes de controle físico-químico e microbiológico para a solução tampão do *kit* (270 frascos de solução tampão/lote). Os testes em tempo acelerado foram corridos entre julho e outubro de 2004, sendo realizados 10 ensaios de 7 em 7 dias durante as quatro primeiras semanas e de 14 em 14 dias nas seis semanas seguintes. O tempo total para a realização dos testes foi de 105 dias. Os resultados de sensibilidade e especificidade bem como os resultados dos testes (de leitura) de pH e de controle microbiológico (realizados para a solução tampão do *kit*), demonstraram ser consistentes e reprodutivos, encaixando-se nas especificações recomendadas para o produto final. Foi possível concluir também que os três lotes utilizados, mantiveram-se estáveis durante os 105 dias do estudo de estabilidade acelerada, realizado a temperaturas entre 37 e 45°C. No que diz respeito aos testes de estabilidade em tempo real, até o momento foram realizados dois ensaios, com os resultados de sensibilidade e especificidade, pH e controle microbiológico consistentes e dentro das requeridas especificações.

Na Tabela 8 é possível observar o quantitativo de Kits “Teste Rápido HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”, distribuídos de acordo com a planilha estabelecida pelo PNDST/Aids, abrangendo todos os estados do país. A distribuição dos Kits produzidos por Bio-manguinhos permitiu suprir as necessidades de serviços de saúde, relacionados às duas principais finalidades dos testes rápidos para HIV-1 e HIV-2, ou seja: Para gestantes em trabalho de parto que não tenham realizado testes de diagnóstico para HIV-1 e HIV-2 durante a gestação e para populações de pequenas cidades que não dispõem de instalações laboratoriais para diagnóstico. Esta ação de distribuição tornou, de fato, concreto todo esforço das Instituições e pessoal envolvidos no desafio de nacionalizar a produção deste Kit e disponibilizá-lo para toda população brasileira.

**Tabela 8: Quantitativo de Kits “Testes Rápidos HIV-1/2 – Bio-Manguinhos”  
fornecidos no Brasil, por estado, em janeiro de 2005**

Localidades	Distribuição Janeiro/2005	No. de Kits
ACRE	1120	56
ALAGOAS	3800	190
AMAZONAS	3000	150
AMAPÁ	1800	90
BAHIA	14400	720
CEARÁ	6640	332
DISTRITO FEDERAL	1820	91
ESPIRITO SANTO	1980	99
GOIÁS	2800	140
MARANHÃO	7000	350
MINAS GERAIS	11720	586
MATO GROSSO	940	47
MATO GROSSO DO SUL	1340	67
PARÁ	4580	229
PARAÍBA	6200	310
PERNAMBUCO	5860	293
PIAUI	1900	95
PARANÁ	1640	82
RIO DE JANEIRO	10260	513
RIO GRANDE DO NORTE	5000	250
RONDÔNIA	600	30
RORAIMA	0	0
RIO GRANDE DO SUL	5000	250
SANTA CATARINA	2000	100
SERGIPE	2600	130
SÃO PAULO	14000	700
TOCANTINS	2200	110
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>120200</b>	<b>6010</b>
ALMOXARIFADO MS BRASÍLIA	24880	1.244
<b>TOTAL</b>	<b>145080</b>	<b>7254</b>

Fonte: Documento técnico Bio-Manguinhos.

#### **4.7. Articulação Estratégica para a Transferência de Tecnologia, Incorporação das Novas Tecnologias e Ampliação do Potencial Tecnológico de Bio-Manguinhos**

Como dito anteriormente, Bio-Manguinhos é uma Instituição pública e nacional, voltada para desenvolvimento e a produção de imunobiológicos. Seu papel vem tornando-se cada vez mais estratégico para as ações de saúde pública do Brasil, à medida que amplia seu portfólio de produtos e sua participação para que possamos atingir a auto-suficiência em Vacinas, Reativos para Diagnóstico e Biofármacos.

Para que possamos atingir estes objetivos Bio-Manguinhos vem investindo fortemente na modernização, adequação e ampliação de seu parque industrial, mas especialmente no apoio a projetos estratégicos de pesquisa e desenvolvimento (P&D) que são realizados internamente em suas instalações por nosso pessoal técnico especializado, como também, através de parcerias e estabelecimento de redes junto a grupos de excelência do País. Estes projetos, certamente deverão gerar em médio prazo, novos produtos.

Desta forma, a princípio, poderíamos concluir que Bio-Manguinhos vem cumprindo seu papel na sociedade de forma plena, cumprindo suas obrigações e devolvendo para a sociedade resultados expressivos. No entanto, diante de um mundo globalizado que vive uma revolução científica e tecnológica, além de inúmeros desafios a serem enfrentados no campo da saúde pública brasileira e mundial, temos que procurar fazer ainda mais. Precisamos encurtar os tempos e os prazos para responder de forma cada vez mais efetiva aos anseios e necessidades da sociedade.

Por outro lado, não podemos deixar de citar que a realidade brasileira atual é baseada na carência de recursos para investimentos em pesquisa e desenvolvimento tecnológico, resultando isto num impacto negativo para o alcance de metas e objetivos institucionais de Bio-Manguinhos.

Resta-nos, portanto, de forma criativa e determinada, rever conceitos e criar novos modelos que venham viabilizar a obtenção de resultados concretos, sem dispêndios desnecessários. Acreditamos que o modelo apresentado nesta dissertação, utilizado por Bio-Manguinhos para absorver uma nova tecnologia de produção de reativos para diagnóstico, de alta complexidade (imunocromatografia e fluxo lateral) poderá tornar-se um importante instrumento a ser amplamente aplicado, inclusive, por outras Instituições Públicas.

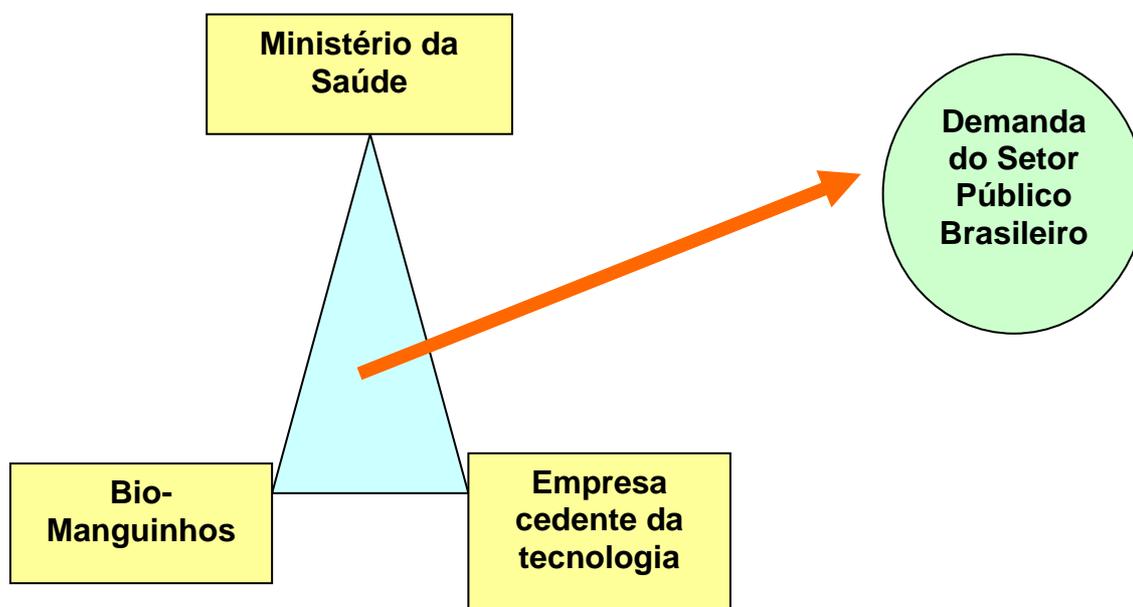
A incorporação das tecnologias de fluxo lateral e imunocromatografia que viabilizam a nacionalização da produção de teste rápido para HIV-1 e HIV-2 é absolutamente estratégico por diversos motivos. Primeiramente, porque permitirá a produção de um *Kit* de diagnóstico de alto impacto social, com baixo custo, indispensável para ampliar as ações de saúde pública em DST/Aids e capaz de democratizar o diagnóstico da infecção pelo HIV no Brasil. Segundo, devido a seu baixo custo, resultará numa economia de divisas para o país com a interrupção de grandes compras de *Kits* importados. Finalmente porque surge a possibilidade de aplicação futura desta nova tecnologia no desenvolvimento e produção de *Kits* para o diagnóstico de outras importantes enfermidades que acometem a população brasileira. Todos estes são argumentos fortes e significativos para a implementação deste projeto baseado em transferência de tecnologia. Dentre os novos Testes Rápidos a serem desenvolvidos com a incorporação deste novo *know how* técnico, podemos salientar: Leishmaniose Canina; Dengue IgM e IgG; Leptospirose (detecção de antígeno e anticorpo); Hepatites Virais, entre outras, dentro das prioridades sanitárias definidas pelo Ministério da Saúde. Além do mais, pode-se investir também em médio prazo, no desenvolvimento de multi-testes a serem aplicados para o diagnóstico diferencial de doenças, tais como: Doenças Exantemáticas (Sarampo, rubéola, caxumba, varicela, eritema infeccioso - B19, exantema súbito - Herpes 6, Mononucleose infecciosa - Vírus Epstein Bar, escarlatina e outras) e as Síndromes Febris Agudas (Dengue, Febre Amarela, Hepatite A, Leptospirose, Febre Maculosa e outras), entre outras.

Um leitor mais crítico e atento poderia estar perguntando a si mesmo: “Como é possível conseguir uma tecnologia de ponta, de alto valor comercial, se Bio-Manguinhos não possui recursos para este tipo de investimento?” A resposta a esta pergunta está diretamente relacionada à demanda do setor público brasileiro (Ministério da Saúde) pelo produto em questão. Se Bio-Manguinhos é uma Instituição Pública, ligada diretamente ao Ministério da Saúde, o qual consome grandes quantidades do referido produto anualmente, por que não promover uma articulação capaz de direcionar esta demanda para Bio-Manguinhos que, associado a alguma empresa que detenha a tecnologia e *expertise* necessária, possa dar conta de atender à referida demanda com preços iguais ou inferiores aos praticados no mercado internacional? Se fosse o caso, em troca, a empresa cedente da tecnologia seria remunerada, através da aquisição de insumos (produtos intermediários) e o pagamento de *royalties*, por um período definido e compatível com o valor estimado

para os conhecimentos a serem transferidos. No modelo, esquematizado a frente (Figura 22), todas as Instituições envolvidas incorporam ganhos significativos a curto ou médio prazo.

O modelo (Figura 22) permite ainda, a oferta de um produto com a qualidade assegurada e a preços competitivos, garantindo a viabilidade econômica do projeto e a aquisição de insumos e equipamentos necessários ao escalonamento da produção. Em perspectiva mais ampla, vale ressaltar ainda que, desde o início do processo de transferência de tecnologia, estarão sendo gerados postos de trabalho com “densidade tecnológica”, haverá economia de divisas e redução dos gastos públicos e, no médio prazo, o produto poderá estar sendo também exportado.

**Figura 22: Esquema da articulação estratégica das três instituições envolvidas diante da demanda do setor público brasileiro**



Fonte: Elaborado pelo autor

#### **4.8. Aumento da Escala de Produção e Busca de Outras Demandas Públicas**

O processo de transferência de tecnologia de teste rápido para HIV-1 e HIV-2 permitirá a Bio-Manguinhos, de forma gradual e progressiva:

- Dominar as técnicas para a produção da solução tampão a ser utilizado no teste;
- Incorporar os procedimentos referentes à produção e à montagem do suporte plástico do teste;

- Incorporar os procedimentos referentes ao corte e a produção das fitas de teste;
- Dominar as tecnologias envolvidas na confecção das diferentes membranas a serem impressas nas fitas de teste;
- Dominar as técnicas de sensibilização e laminação das fitas de teste;
- Obter capacitação na operação dos equipamentos a serem utilizados nas diferentes etapas de transferência;
- Absorver e implementar os procedimentos de controle da qualidade para cada etapa da produção;
- Absorver e implementar os procedimentos de controle e garantia da qualidade do produto final.

A partir deste ponto, ou seja, ao final do processo de transferência de tecnologia, prevemos que os custos de produção serão pelo menos 30-50% menores, devido à nacionalização total da produção dos testes rápidos para HIV-1 e HIV-2 e a ampliação da escala de produção.

O contrato de transferência de tecnologia entre Bio-Manguinhos e a CHEMBIO considerou apenas um consumo de 300000 testes por ano. Esta demanda, subestimada até para as ações centralizadas coordenadas pelo PNDST/Aids, poderá ser ampliada para cerca de 1 milhão de testes por ano, com pequenas articulações e estratégias de Bio-Manguinhos, junto a setores do Ministério da Saúde. Em paralelo, pode-se buscar também as demandas de Coordenações Estaduais e Municipais de Aids, descentralizadas em todo o País e que, segundo estimativas do PNDST/Aids, oscilam atualmente entre 1 e 2 milhões de testes por ano.

O produto de Bio-Manguinhos, ofertado com preços inferiores aos praticados no mercado mundial, terá plenas condições de explorar possibilidades de exportação para os países do Mercosul e organismos internacionais tipo OPAS e OMS, além de países do continente africano.

#### **4.9. Situação Atual e Futuro da Produção de Testes Rápidos com Possibilidades de Automação dos Processos**

A produção de teste rápido para o diagnóstico de HIV-1 e HIV-2, em forma de fita, encontra-se amplamente disseminada atualmente. O Mercado para estes produtos continua a expandir-se em ritmo acelerado. Porém, quando fabricantes de

testes rápidos que empregam a metodologia de fluxo lateral percebem que possuem mais clientes do que jamais imaginaram, descobrem também que o processo de escalonamento, necessário ao preenchimento das demandas com sucesso, pode tornar-se um empreendimento de enormes proporções. O desafio maior para uma empresa que opta pelo escalonamento da produção de seus testes é a dificuldade em traçar o cenário geral. Frequentemente, os produtos são desenvolvidos e o seu processo produtivo estabelecido e validado sem que se leve em consideração o crescimento do mesmo e como este será produzido em grande escala. Uma vez iniciado este processo, pode ser bastante difícil e dispendioso alterar os processos validados a fim de acomodar as demandas da automação. Geralmente, a raiz do problema encontra-se nos próprios técnicos responsáveis pelo desenvolvimento dos ensaios onde sua preocupação é com a otimização das taxas de fluxo de impregnação da membrana, com a determinação da posição das linhas de captura e de controle e com a combinação de reagentes, anticorpos e conjugados. Uma vez que estão criando fitas de teste em pequenas quantidades, a última coisa que se têm em mente é a otimização de seu processo produtivo (CARLBERG, 1999).

Ao utilizar módulos portáteis, disponíveis no mercado para a impregnação, a laminação e o corte das fitas de teste, os técnicos otimizam, inclusive, o *design* da fita de teste, documentando e validando o processo. Então, se a demanda excede as projeções de produção, o pânico se instaura. A questão passa a ser: "Adicionar equipamentos de montagem e duplicar os processos atuais ou automatizar?"

A adição de equipamentos para montagem é uma "faca de dois gumes". Pelo lado positivo, pode-se dizer que permite um processamento mais rápido, oferecendo uma flexibilidade considerável ao fabricante, isto é, na medida em que a demanda pelo produto varia, o pessoal empregado na linha de montagem varia proporcionalmente. Pelo lado negativo, pode-se dizer que a adição de mais equipamentos de montagem significa treinar mais pessoal em sua utilização, abrindo espaço para disputas entre os técnicos envolvidos no processo, colocando ainda "pressão" no setor designado para a montagem e requerendo, em alguns casos, ampliações das instalações, além de contribuir para os aumentos de custo sem que isso necessariamente traduza-se num aumento de qualidade, contribuindo mesmo, geralmente, para reduções na qualidade do produto final [CARLBERG, 1999].

A automação pode amenizar muitas preocupações, mas as empresas que optam pela automação devem ter o cuidado de abrir diálogos e negociações com os fabricantes dos equipamentos e de iniciar o planejamento de seus orçamentos e

cronogramas. Somente, baseados nestes orçamentos e cronogramas é que as empresas afins estarão em condições de determinar o grau necessário e suficiente de automação e quais seriam os processos que melhor se adequariam à automatização.

A maior vantagem oferecida pela utilização de sistemas automatizados, são os ganhos em termos do tempo necessário para o processamento. Ao empregar operações automatizadas para a impregnação de reagentes, por exemplo, um rolo de 100m de membrana pode ser processado através de impregnação e secagem em 20 minutos. Em contraste, um processo de impregnação baseado em cartões levaria bem mais que uma hora para produzir um comprimento equivalente de material, o que não inclui o tempo de secagem ou o tempo adicional necessário para o manuseio dos cartões individuais para dentro e para fora do forno de secagem. A laminação também pode ser realizada de forma muito mais eficiente através de automação. Uma fita de teste típica, formada por quatro componentes individuais, (isto é, a proteção, a membrana de nitrocelulose, o conjugado e as membranas absorventes) requereria, aproximadamente, 30 segundos para ser montada utilizando um módulo de bancada para laminação. Presumindo-se que se usem cartões de 30cm, o tempo previsto para a laminação de 100 m de material seria de, aproximadamente, 24 horas. Utilizando o laminador acoplado em automação, estes mesmos 100m poderiam ser montados em apenas 15 minutos (CARLBERG, 1999).

Por fim, a crença de que a produção de diversos produtos requer um alto nível de automação nem sempre verifica-se na prática da indústria das fitas de testes diagnósticos. Muitas são as empresas de pequeno ou grande porte que produzem, mundialmente, dezenas ou centenas de milhares de fitas-teste por ano utilizando instrumentos de baixa tecnologia – em sua maioria, módulos de bancada, desenvolvidos para a impregnação de reagentes, laminação e corte dos produtos. Há, em vigor, uma série de equipamentos simples de montagem e de instrumentos utilizados na montagem manual dos testes. O mundo está cheio destes produtos, em sua maioria, bons, que atendem a diversas necessidades, e ainda, novos produtos ou inovações aparecem diariamente. Isto deve-se ao fato de que o mercado já está bastante grande e extremamente segmentado, possuindo vários nichos. No entanto, a medida em que cada companhia luta para absorver uma fatia maior do mercado, seus competidores procuram fazer o mesmo (CARLBERG, 1999). Desta forma, talvez seja, através da automação, que os mais fortes sobreviverão, planejando com antecedência, criatividade e desenvolvendo uma visão otimista e empreendedora.

## **5. CONCLUSÃO**

Como foi demonstrado nos capítulos anteriores, o processo de transferência de tecnologia é complexo, exige atendimento de múltiplos aspectos de caráter político, científico-tecnológico, operacional, orçamentário, financeiro e legal, portanto, uma atividade multidisciplinar. O processo deve culminar em uma situação no qual as partes envolvidas obtenham ganhos financeiros e tecnológicos, passíveis de valoração.

O modelo apresentado de transferência de tecnologia, vem demonstrando ser altamente eficaz no processo de incorporação de novas tecnologias pois ainda na fase I, importantes conhecimentos a respeito da tecnologia já estão sob o domínio de Bio-Manguinhos.

Como já ressaltado anteriormente, a tecnologia de teste rápido para o diagnóstico do HIV-1 e HIV-2, objeto do processo de transferência poderá ser aplicado também para o diagnóstico rápido de outras doenças importantes em Saúde Pública, permitindo o desenvolvimento de uma nova plataforma tecnológica de diagnóstico em Bio-Manguinhos. Esta nova plataforma tecnológica seguramente ampliará a capacitação técnica de nossos profissionais, bem como deverá trazer impactos positivos em muitas outras atividades de produção e controle de qualidade de reativos em Bio-Manguinhos, uma vez que, a incorporação de ações e processos com melhor padrão, especialmente relacionados a BPF, se comparadas as que estão atualmente em funcionamento, certamente, serão aplicadas ou estendidas para outros setores.

Outro aspecto a ser ressaltado refere-se ao fato de que este processo de transferência de tecnologia tem se traduzido num fator de aperfeiçoamento científico e tecnológico para todo corpo técnico de Bio-Manguinhos, em especial àqueles diretamente relacionados ao referido processo.

O processo de transferência de tecnologia deve ocorrer, como já mencionado, num período de três anos, o qual pode ser reduzido caso a aquisição pelo PNDST/Aids dos 900000 testes rápidos previstos em contrato venha a ocorrer em menor tempo. Há expectativas de que o preço do produto possa ser reduzido em aproximadamente 50%, a partir da completa nacionalização da produção.

Bio-Manguinhos tem aproveitado uma considerável promoção e projeção institucional, por intermédio de reportagens, entrevistas e notícias que vêm circulando em veículos de comunicação de massa (televisão, jornais e rádio), enfocando o processo de transferência de tecnologia, o estabelecimento da produção dos Testes Rápidos no Brasil e, sobretudo pelo início da distribuição dos

*Kits* para a rede pública de saúde do país. Recentemente, foi possível divulgar este trabalho cientificamente, no Congresso Brasileiro de Prevenção em DST/Aids, ocorrido em Recife, em agosto de 2004, onde um dos dois pôsteres apresentados por Bio-Manguinhos sobre este tema, foi agraciado com uma premiação, sendo considerado um dos cinco melhores trabalhos dentre os mais de 1000 apresentados no evento.

A atuação de Bio-Manguinhos envolvendo a área de Reativos para Diagnóstico vem, há alguns anos, incorporando pequenos aumentos no que tange a arrecadação de recursos. No entanto, a incorporação da produção e distribuição dos *Kits* de teste rápido para HIV-1 e HIV-2, possibilitarão, no mínimo, dobrar a receita da área de Reativos para Diagnóstico. Apesar do aumento significativo da receita obtida com a distribuição dos testes rápidos, este fato não se traduz em margens para re-investimentos em pesquisa e desenvolvimento tecnológico em nossa Unidade. Contudo, este quadro certamente será revertido após o período de transferência da tecnologia mencionada, onde seguramente deveremos obter os resultados positivos deste trabalho. Nunca é tarde lembrar-se que só há desenvolvimento com pesquisa, e só pesquisa com mão-de-obra especializada e laboratórios com infra-estrutura adequada.

Por fim, o modelo apresentado está em processo de implementação e segue de forma criteriosa o cronograma traçado. Porém, nunca é tardio lembrar-se que só há desenvolvimento com pesquisa, e só há pesquisa com mão de obra especializada e laboratórios dotados com infra-estrutura adequada. Certamente, o sucesso deste modelo para incorporação de novas tecnologias está diretamente relacionado à determinação da equipe envolvida, motivada pelo idealismo de ofertar ações eficazes de saúde, neste caso testes de diagnóstico rápido para HIV-1/2, para a população brasileira.

## **6. APÉNDICE**

**ANEXO I: Cronograma da transferência de tecnologia do *Stat-Pak* HIV-1/2 da CHEMBIO Diagnostic System, Inc. para Bio-Manguinhos/FIOCRUZ**

Itens	Responsabilidade	Atividade	Início	Duração	Ano 1		Ano 2		Ano 3		Ano 4	
					S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2
01	CHEMBIO	Envio de documentação para registro na ANVISA	Após assinatura contrato	15 dias	X							
02	BIO-MANGUINHOS	Visita de Técnicos de BIO-MANGUINHOS à CHEMBIO para conhecer a tecnologia, instalações e equipamentos, além de absorver a tecnologia para preparo do solução tampão.	Mês 1	7 dias	X							
03	BIO-MANGUINHOS	Montar processo de registro e encaminhar a ANVISA	Após Item 02	30 dias	X							
04	CHEMBIO	Envio de <i>Kits</i> para Análise Prévia	Após Item 02	30 dias	X							
05	BIO-MANGUINHOS/ CHEMBIO	Treinamento de Técnicos de BIO-MANGUINHOS na CHEMBIO para cumprir itens 1 a 13 Project Schedule (1º ano)	Mês 2	15 dias	X							

06	BIO-MANGUINHOS	Adequar instalações para recebimento dos <i>Kits</i> , preparo do solução tampão, processamento final, controle de qualidade e armazenamento	Mês 2	30 dias	X										
07	BIO-MANGUINHOS/ CHEMBIO	Importação da 1ª remessa de <i>Kits</i> (150000 testes)	Mês 3	30 dias	X										
08	BIO-MANGUINHOS	Aquisição de insumos para preparo do solução tampão e material de embalagem	Mês 3	30 dias	X										
09	BIO-MANGUINHOS	Preparo de Solução tampão, processamento final, controle de qualidade e armazenamento	Após Item 07	30 dias	X										
10	BIO-MANGUINHOS	Distribuição dos <i>Kits</i> para a PNDST/Aids	Mês 4-9	180 dias	X	X									
11	CHEMBIO	Auditoria da CHEMBIO em BIO-MANGUINHOS e Assinatura do aceite da 1ª fase da Transferência /Tecnologia	Mês 4-5	3 dias	X										
12	BIO-MANGUINHOS/ CHEMBIO	Treinamento de Técnicos de BIO-MANGUINHOS na CHEMBIO para produção dos cassetes	Mês 7	15 dias		X									
13	BIO-MANGUINHOS	Adequação de instalações e aquisição de equipamentos para produção dos cassetes	Após Item 12	180 dias		X									

14	BIO-MANGUINHOS/CH	Importação da 2ª remessa de <i>Kits</i> (150000 testes)	Mês 8	30 dias		X								
15	BIO-MANGUINHOS	Aquisição de insumos para preparo do solução tampão e material de embalagem	Mês 8	30 dias		X								
16	BIO-MANGUINHOS	Preparo de Solução tampão, processamento final, controle de qualidade e armazenamento	Após Item 12	30 dias		X								
17	BIO-MANGUINHOS	Distribuição dos <i>Kits</i> de Teste Rápido para a PNDST/Aids	Mês 9-14	180 dias		X	X							
18	CHEMBIO	Auditoria da CHEMBIO em BIO-MANGUINHOS e Assinatura do aceite da 2ª fase da Transferência de Tecnologia	Mês 9/10	3 dias		X								
19	BIO-MANGUINHOS/CHEMBIO	Treinamento de Técnicos de BIO-MANGUINHOS na CHEMBIO para produção dos suportes de teste imunocromatográfico incluindo o preparo de Proteína A-Ouro coloidal	Mês 13	21 dias			X							
20	BIO-MANGUINHOS	Adequação de instalações e aquisição de equipamentos para produção dos suportes de teste imunocromatográfico incluindo o preparo de Proteína A-Ouro coloidal	Após Item 19	180 dias			X							

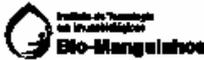
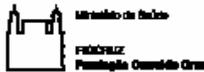
21	BIO-MANGUINHOS/ CHEMBIO	Importação da 3ª remessa – suportes de teste imunocromatográfico sensibilizados e outros insumos para 150000 testes	Mês 14	30 dias			X						
22	BIO-MANGUINHOS	Preparo de Solução tampão, produção dos cassetes, processamento final, controle de qualidade e armazenamento	Após Item 21	30 dias			X						
23	BIO-MANGUINHOS	Distribuição dos <i>Kits</i> para a CNDST/Aids	Mês 15-20	180 dias			X	X					
24	CHEMBIO	Auditoria da CHEMBIO em BIO-MANGUINHOS e Assinatura do aceite da 3ª fase da Transferência de Tecnologia	Mês 16-17	3 dias			X						
25	BIO-MANGUINHOS/ CHEMBIO	Treinamento de Técnicos de BIO-MANGUINHOS na CHEMBIO para sensibilização das membranas com peptídeos sintéticos e revisão geral de todas as etapas do processo de produção	Mês 19	15 dias				X					
26	BIO-MANGUINHOS	Adequação de instalações e aquisição de equipamentos para sensibilização das membranas com peptídeos sintéticos	Após Item 25	180 dias				X					
27	BIO-MANGUINHOS/ CHEMBIO	Importação da 4ª remessa – suportes de teste imunocromatográfico sensibilizados e outros insumos para 150000 testes	Mês 20	30 dias				X					

28	BIO-MANGUINHOS	Preparo de solução tampão, montagem dos suportes de teste, produção dos cassetes, processamento final, controle de qualidade e armazenamento	Após Item 27	30 dias				X				
29	BIO-MANGUINHOS	Distribuição dos <i>Kits</i> para a PNDST/Aids	Mês 21-26	180 dias				X	X			
30	CHEMBIO	Auditoria da CHEMBIO em BIO-MANGUINHOS e assinatura do aceite da 4ª fase da Transferência de Tecnologia	Mês 22-23	3 dias				X				
31	BIO-MANGUINHOS/ CHEMBIO	Importação da 5ª remessa – peptídeos sintéticos e outros insumos para 150000 testes	Mês 25	30 dias					X			
32	BIO-MANGUINHOS	Preparo de solução tampão e todas as outras etapas de produção, processamento final, controle de qualidade, armazenamento	Após Item 31	60 dias					X			
33	CHEMBIO	Auditoria da CHEMBIO em BIO-MANGUINHOS e Assinatura do aceite da 5ª fase da Transferência/Tecnologia	Após Item 32	3 dias					X			
34	BIO-MANGUINHOS	Distribuição dos <i>Kits</i> para a PNDST/Aids	Mês 27-32	180 dias					X	X		
35	BIO-MANGUINHOS/ CHEMBIO	Importação da 6ª remessa – peptídeos sintéticos e outros insumos para 150000 testes	Mês 31	30 dias						X		

36	BIO-MANGUINHOS	Preparo de solução tampão e todas as outras etapas de produção, processamento final, controle de qualidade e armazenamento	Após Item 35	60 dias							X		
37	BIO-MANGUINHOS	Distribuição dos <i>Kits</i> para a CNDST/Aids	Mês 33-38	180 dias							X	X	
38	CHEMBIO	Auditoria da CHEMBIO em BIO-MANGUINHOS e Assinatura do aceite da 6ª fase da Transferência de Tecnologia	Após Item 36	3 dias							X		
39	BIO-MANGUINHOS	Importação de insumos e peptídeos, produção total em BIO-MANGUINHOS e pagamento de <i>royalties</i>										X	X

Fonte: Extraída do Contrato de Transferência de Tecnologia do Teste Rápido para HIV-1 e HIV-2 firmado entre Bio-Manguinhos e CHEMBIO/USA

## ANEXO II: Manual de instruções de uso do *Kit*



Tel.: (21) 3882.9393  
FAX: (21) 2561.0277  
SAC: 0800.210.310  
www.bio.fiocruz.br



### Teste Rápido - HIV-1/2 Bio-Manguinhos

TESTE RÁPIDO DE TRIAGEM QUALITATIVA PARA  
DETECÇÃO DE ANTICORPOS PARA HIV-1/2

#### Teste Rápido - HIV-1/2 - Bio-Manguinhos TESTE RÁPIDO DE TRIAGEM QUALITATIVA PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS PARA HIV-1/2 (material fornecido para 20 determinações)

##### INDICAÇÃO DE USO:

O Teste Rápido HIV-1/2 - Bio-Manguinhos é um teste de triagem de uso único, que usa um coquetel de antígenos para detectar anticorpos para HIV-1/2 em soro, plasma e sangue total, humanos. O teste se baseia nas tecnologias de imunocromatografia e fluxo lateral. Resultados reativos são evidências de exposição ao HIV-1/2 e podem ser usados como suporte ao diagnóstico clínico. O Teste Rápido HIV-1/2 - Bio-Manguinhos é indicado para uso por profissionais de saúde de acordo com as instruções fornecidas.

##### RESUMO E EXPLICAÇÃO:

O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) é um retrovírus, identificado em 1983 como agente etiológico da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS) [1]. A AIDS é caracterizada por mudanças na população de linfócitos T, que tem um papel chave no sistema imunológico. No indivíduo infectado o vírus causa uma redução da sub-população das células T, chamadas células T "helper", que deixam estes pacientes suscetíveis a infecções oportunistas e certas malignidades. As principais vias de transmissão são: relação sexual desprotegida, contaminação por sangue ou hemoderivados e a transmissão de mãe para filho durante o parto [2-4].

Médicos especialistas que trabalham nas Nações Unidas (ONU) relatam a ocorrência diária de aproximadamente 16.000 novas infecções. As Nações Unidas relatam ainda que cerca de

Teste Rápido - HIV-1/2 - Bio-Manguinhos

11

##### ASSISTÊNCIA AOS USUÁRIOS:

Orientações técnicas adicionais a respeito deste produto poderão ser obtidas junto a:  
Fundação Oswaldo Cruz / Bio-Manguinhos  
CNPJ 33.781.055/0015-30  
Av. Brasil, 4365 - CEP: 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ  
Tel: (21) 3882.9393 - FAX: (21) 2561.0277  
SAC: 0800.210.310  
www.bio.fiocruz.br

Edição: abril de 2004  
BM\_015\_02Bk

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Essex, M. (1999) Human immunodeficiency viruses in the developing world. *Adv Virus Res* 53:71-88.
2. Kanki, P.J.; Hopper, J.R. and Essex, M. (1978) The origins of HIV-1 and HTLV-4/HIV-2. *Ann N Y Acad Sci* 511: 370-375.
3. Nicoll, A.; Gill, O.N. (1999) The global impact of HIV infection and disease. *Commun Dis. Publ Health* 2: 85-95.
4. Valdiseri, R.O.; Holtgrave, D.R.; West, G.R. (1999) Promoting early diagnosis and entry into care. *AIDS* 13: 2317-2330.
5. AIDSCAP/Family Health International, Harvard School of Public Health, UNAIDS. The status and trends of the Global HIV/AIDS Pandemic Symposium final report, July 5-6, 1996, Vancouver, Canada.
6. Essex, M.; Kanki, P.J.; Marlink, R., et al. (1990) Antigenic characterization of the human immunodeficiency viruses. *J Am Acad Dermatol* 22:1206-1210.
7. Essex, M.; McLane, M.F.; Lee, T.H. et al. (1983) Antibodies to cell membrane antigens associated with human T-cell leukemia virus in patients with AIDS. *Science* 220:859-862.
8. Gallo, R.C.; Salahuddin, S.Z.; Popovic, M.; et al. (1984) Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* 224:500-503.
9. Kenealy, W.; Reed, D.; Cybulsky, R.; et al. (1987) Analysis of human serum antibodies to human immunodeficiency virus (HIV) using recombinant ENV and GAG antigens. *AIDS Res Human Retrovir* 3:95-105.
10. Kovacs, A.; Xu, J.; Rasheed, S.; et al. (1995) Comparison of a rapid non-isotopic polymerase chain reaction assay with four commonly used methods for the early diagnosis of human immunodeficiency virus type 1 infection in neonates and children. *Pediatr Infect Dis J* 14:948-954.

11,7 milhões de pessoas morreram de AIDS em todas as faixas etárias nas décadas de 70 e 80, em todo o mundo [3,4]. Em julho de 1996 estimou-se um total global de 22 milhões de pessoas soropositivas; a epidemia de HIV vem aumentando rapidamente [5].

O HIV é constituído por uma molécula de RNA, protegida por um capsídeo e um envelope. O envelope do HIV é o principal alvo da resposta imune. A presença do vírus faz com que o sistema imune dos pacientes produza anticorpos anti-HIV. A detecção destes anticorpos pode ser usada como uma ferramenta de diagnóstico.

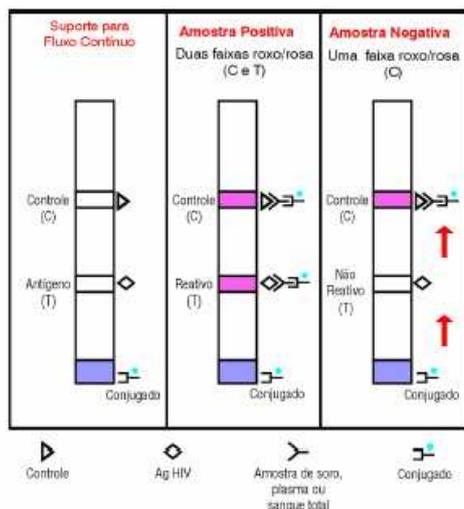
O sistema do teste Rápido HIV-1/2 - Bio-Manguinhos utiliza antígenos fixados para a detecção de anticorpos para o HIV-1/2 em soro, plasma ou sangue total, humanos. O Teste Rápido HIV-1/2 - Bio-Manguinhos é um teste imunocromatográfico rápido de simples execução. Ensaios de ELISA, Imunofluorescência, Western Blot, técnicas de PCR e diversos outros testes também estão disponíveis para a detecção do HIV-1/2 [6-10].

## PRINCÍPIO DO TESTE:

O Teste Rápido HIV-1/2 - Bio-Manguinhos emprega uma combinação de uma proteína conjugada com partículas de ouro coloidal e antígenos de HIV-1/2 ligados a uma fase sólida (membrana). A AMOSTRA é aplicada ao respectivo poço (S), seguida pela adição de um tampão de corrida. O tampão propicia o fluxo lateral dos componentes liberados, promovendo a ligação dos anticorpos aos antígenos. Os anticorpos presentes (caso existam), se ligam às proteínas específicas conjugadas ao ouro coloidal. No caso de uma amostra ser positiva o complexo "imuno-conjugado" migra na membrana de nitrocelulose, sendo capturado pelos antígenos fixados na área do TESTE (T) e produzindo uma linha roxo/rosa. Na ausência de anticorpos

para HIV-1/2, a linha roxo/rosa não aparece na área do teste. Em todos os casos, a amostra continua a migrar na membrana produzindo uma linha roxo/rosa na área de CONTROLE (C), o que demonstra o funcionamento adequado dos reagentes.

## ESQUEMA DO TESTE:



## Inconclusivo

Uma linha roxo/rosa deve sempre aparecer na área de CONTROLE (C), não importando se a LINHA TESTE aparece ou não. Caso uma linha roxo/rosa não seja visível na área de CONTROLE (C), o teste deve ser considerado inconclusivo. Recomenda-se que o teste seja repetido.

## CONFIRMAÇÃO DE DESEMPENHO DO TESTE:

Ao término do teste, uma linha roxo/rosa aparecerá na área de CONTROLE (C), tanto nas amostras negativas quanto nas positivas. Esta linha serve de controle interno, confirmando o desempenho adequado do teste.

## LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO:

O procedimento do TESTE RÁPIDO HIV-1/2 - BIO-MANGUINHOS e a interpretação dos resultados devem ser criteriosamente seguidos. Este é um teste de triagem designado para detectar anticorpos contra HIV-1/2 em soro, plasma ou sangue total, humanos. Outros fluidos corporais ou pool de soro ou plasma combinados não devem ser usados.

Para resultados reativos, a avaliação clínica da situação do paciente deve ser realizada antes de um diagnóstico final ser feito. O teste rápido não deve ser usado como único diagnóstico para a infecção do HIV. Um resultado não reativo não exclui totalmente a possibilidade da infecção pelo HIV-1/2.

7. Ler os resultados do teste 10 minutos após a adição de tampão. Alguns resultados reativos podem aparecer em menos de 10 minutos, mas são necessários 10 minutos para detectar um resultado não reativo. Ler os resultados em ambiente bem iluminado.

Obs: descartar a alça coletora, o suporte do teste e as luvas em um recipiente para descarte de materiais de risco biológico.

#### LEITURA E INTERPRETAÇÃO:

##### Não Reativo

Um resultado não reativo é indicado por uma linha roxo/rosa na área de CONTROLE (C), e nenhuma linha colorida na área de TESTE (T). Um resultado não reativo indica que não há anticorpos HIV-1/2 detectáveis na amostra do indivíduo, mas este resultado não exclui totalmente a infecção por HIV.



##### Reativo

Duas linhas roxo/rosa, uma na área de TESTE (T) e uma na área de CONTROLE (C), indicam um resultado reativo. A linha na área de TESTE (T) pode ter aparência diferente da linha na área de CONTROLE (C). A intensidade da linha na área de TESTE (T) varia de claro a muito escuro conforme a concentração de anticorpos específicos.



Nota: mesmo uma linha muito clara na área de TESTE (T) deve ser considerada um resultado reativo. Um resultado reativo deve ser confirmado por Western Blot, Immunoblot ou IFI conforme recomendações do MS (Ministério da Saúde).

#### MATERIAL FORNECIDO:

Identificação	Componentes	Apresentação
R-01	Suportes contendo antígenos de HIV-1/2 e o conjugado de ouro coloidal adsorvidos em membranas espectais	20 suportes
R-02	Tampão de Corrida	1 Fr. 5 mL
R-03	Alças coletoras descartáveis (5 µL)	20 alças
R-04	Lancetas estéreis descartáveis	20 lancetas
R-05	Curativo Adesivo Estéril	20 adesivos
	Manual de Instrução de Uso	

#### MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO:

- Cronômetro

OBS: em caso de coleta de sangue do dedo, também é necessário:

- algodão;
- álcool 70%.

#### CONSERVAÇÃO E ESTOCAGEM DO MATERIAL:

Manter à temperatura ambiente (até 30°C).

Obs: em locais em que a temperatura ambiente ultrapasse os 30°C, recomendamos conservar o kit em geladeira (2-8°C) desde o recebimento do produto.

**ATENÇÃO:** nunca congelar os kits.

#### CUIDADOS E PRECAUÇÕES:

Somente para uso "IN VITRO".

Este conjunto diagnóstico contém produtos biológicos e químicos, podendo representar uma fonte de risco. Portanto, ao manusear esse conjunto, observe as precauções de biossegurança necessárias.

A qualidade dos resultados obtidos com este conjunto diagnóstico depende do cumprimento às boas práticas de laboratório, tais como:

- as amostras, assim como outros insumos devem ser estocados e manipulados adequadamente;
- o teste deve ser usado somente para DIAGNÓSTICO *IN VITRO* e USO PROFISSIONAL. O teste deve ser usado de acordo com as instruções fornecidas no kit;
- homogeneizar as amostras antes de usar;
- utilizar equipamento de proteção individual (EPI), tais como: luvas descartáveis e jaleco em todas as etapas do teste;
- desprezar suportes, ponteiros, lancetas, alças coletoras e luvas em solução de hipoclorito de sódio a 2,5% ou água sanitária;
- não usar os testes após sua data de validade;
- nunca misturar componentes de lotes diferentes.

#### COLETA DE AMOSTRA:

O Teste Rápido HIV-1/2-Bio-Manguinhos é realizado com soro, plasma, ou sangue total, humanos.

**Soro:** o soro é obtido do sangue total coletado assepticamente por punção de veia com um tubo limpo sem anticoagulante. Permitir que o sangue coagule a temperatura ambiente. Centrifugar o sangue a 2000 rpm durante 10 minutos à temperatura ambiente. Separar o soro do coágulo para evitar hemólise.

**Plasma:** coletar o sangue total com anticoagulante, centrifugar a 2000 rpm durante 10 minutos e separar o plasma sobrenadante.

**Sangue total:** coletar o sangue nos tubos contendo EDTA, heparina ou citrato de sódio. Para sangue da ponta do dedo, furar o dedo e desprezar a primeira gota. Coletar a segunda gota com a alça coletora descartável. Seguir as instruções de procedimentos do teste.

As amostras apresentam melhor desempenho quando testadas

imediatamente após a coleta. No caso das amostras de soro ou plasma não serem testadas imediatamente, estas devem ser refrigeradas logo após a coleta entre 2-8°C, podendo ser usadas em até 3 dias. Se a realização do teste não for possível dentro deste período, as amostras devem ser congeladas (-20°C ou abaixo).

#### PROCEDIMENTO DO TESTE:

Obs: Se a amostra a ser testada estiver refrigerada ou congelada, permitir que esta alcance a temperatura ambiente antes de ser testada.

1. Retirar o número de componentes dos kits TESTE RÁPIDO HIV-1/2 - BIO-MANGUINHOS necessários e colocá-los sobre uma superfície plana.
2. Identificar o suporte do teste com o nome do indivíduo ou seu número de identificação.
3. Encostar a alça coletora de 5 µL no material a ser testado, permitindo que a mesma se encha com o líquido (soro, plasma ou sangue). Alternativamente, se preferir, pode-se utilizar micropipetas automáticas e ponteiros ajustadas para 5 µL.

Obs.: em caso de coleta de sangue da ponta do dedo, deve-se utilizar a lanceta (inclusa no kit), de acordo com as instruções de uso que as acompanham.

4. Segurando a alça coletora na vertical, encostá-la na área de aplicação da AMOSTRA (S) do suporte para liberar ~ 5 µL de amostra.
5. Virar o frasco de tampão e mantê-lo na vertical (sem inclinar) sobre o poço da AMOSTRA (S). Adicionar o tampão lentamente, gota por gota: 3 gotas (~120 µL) no poço de aplicação da AMOSTRA (S).
6. Deixar 10 minutos à temperatura ambiente. Caso não haja migração após 3 minutos, adicionar mais uma gota de tampão de corrida.

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Bastos FI. A disseminação da epidemia da Aids no Brasil, no período de 1987-1996: uma análise espacial. **Cadernos de Saúde Pública** 2000; 16(1): 7-19.

Bio-Manguinhos. Relatório Anual de Atividades. Rio de Janeiro: Departamento de Relações com o Mercado/ Bio-Manguinhos /FIOCRUZ; 2003.

Branson BM. Rapid Tests for HIV Antibody. **Aids Review** 2000; 2: 76-83.

Brasil. Ministério da Saúde:. Boletim Epidemiológico em DST/Aids – 01 à 52 Semanas Epidemiológicas de janeiro a dezembro de 2003. Programa Nacional de DST/Aids/SVS/MS. Brasília; 2004.

Carlberg D, 1999. [online];. [capturado em setembro de 2004]. Disponível em: <http://www.devicelink.com/ivdt/archive/99/05/001.html>.

Castilho EA & Chequer P. A epidemia de HIV/Aids no Brasil. In: Parker R G, Orgs. Políticas, Instituições e Aids. Rio de Janeiro: ABIA: Jorge Zahar; 1997 p. 17-42

Clinica Reports. *New trends in viral diagnostic*. 2001. [online] [capturado em setembro de 2004]. Disponível em: <http://www.pjbpubs.com/clinrep>.

Diniz SG & Villela W V. Interface entre os Programas DST/Aids e saúde reprodutiva: o caso brasileiro. In: Parker R G; Galvão J & Besser M S. Orgs. Saúde, Desenvolvimento e Política: respostas frente à Aids no Brasil. Rio de Janeiro: ABIA, São Paulo; Editora 34; 1999 p. 123-176.

Fernandez SLC. Polimorfismo do HIV-1: implicações na resistência à terapia anti-retroviral em pacientes infectados por diferentes subtipos virais prevalentes na cidade do Rio de Janeiro. Mestrado em Biologia Celular e Molecular - Instituto Oswaldo Cruz (IOC)/ Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). Rio de Janeiro; 2004.

Gadelha CAG. Estudo de Competitividade por cadeias integradas no Brasil: impacto das zonas de livre comércio - Cadeia: Complexo da Saúde. Campinas, Unicamp. 2002.

Galvão J. A Aids no Brasil. Rio de Janeiro: ABIA, São Paulo; Editora 34; 2000.

Guimarães R. Bases para uma Política Nacional de Ciência e Tecnologia e Inovação em Saúde. **Cadernos de Estudos Avançados** 2003; 1 (2): 21-33.

Homma A., Martins R M., Jessouroum E. & Oliva O. Desenvolvimento Tecnológico: Elo Deficiente na Inovação Tecnológica de Vacinas no Brasil. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos** 2003; 10 (2): 671-96.

IWEALA O. HIV diagnostic tests: an overview. **Contraception** 2004; 70: 141-147.

Kuby J. Immunology. In: Freeman WH,Orgs. New York: 3º edição; 1997.

Medeiros MZ. Reagentes para Diagnóstico: Estratégias para a Produção e Desenvolvimento em Bio-Manguinhos. Mestrado Profissional [Dissertação em Gestão de C&T em Saúde] - Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP) / Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). Rio de Janeiro; 2004.

Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde - Segunda Conferência Nacional de Saúde. Relatório Consolidado Nacional da 2ª CNCTIS. Brasília; 2004.

Ministério da Saúde. Programa Nacional de DST e Aids 2003. [online]. [ Capturado em setembro de 2004]. Disponível em: <http://www.aids.gov.br>.

Ministério da Saúde. Programa Nacional de DST e Aids 2004. [online]. [ Capturado em setembro de 2004]. Disponível em: <http://www.aids.gov.br>.

Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos – Depto. de Ciência e Tecnologia – Agenda Nacional de Prioridades de Pesquisa em Saúde. Brasília; 2004.

Picard FJ & Bergeron MG. “Rapid molecular theranostics infectious diseases”, **Drug Discovery Today** 2002; 7 (21): 1092-1101.

Portaria Ministerial de nº 488/98 da Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. [online] [Capturado em setembro de 2004]. Disponível em: <http://www.agen.com.au/products/>

Rothwell R. Successful industrial innovation: Critical success factors for the 1990`s. In *R&D Management* 1992; 22 (3): 221-239. *Apud* Tidd et al. *Managing Innovation. Integrating Technological, Market and Organization Change*. 2ª ed.- England: John Willey & Sons Ltd, 1997.

Tidd J, Bessant J, Pavitt K. *Managing Innovation. Integrating Technological, Market and Organization Change*. 2ª ed.- England: John Willey & Sons Ltd; 1997.

Turner, BG, Summers MF. Structural Biology of HIV. **Journal of Molecular Biology** 1999; 285:1-32.

[UNAIDS], United Nations Joint Programme on Aids, World Health Organization. HIV simple/rapid assays: operational characteristics (phase 1). Blood safety and Clinical Technology 2002. [online]. [Capturado em 13 de janeiro de 2005] Disponível em: [http://www.unAids.org/wad2004/report\\_pdf.html](http://www.unAids.org/wad2004/report_pdf.html)

[UNAIDS], United Nations Joint Programme on Aids, World Health Organization. Global Summary of the HIV/AIDS epidemic. Geneve; 2004.[online]. [Capturado em 13 de janeiro de 2005] Disponível em: [http://www.unAids.org/wad2004/report\\_pdf.html](http://www.unAids.org/wad2004/report_pdf.html)