

**MANUAL TÉCNICO
PARA O DIAGNÓSTICO
DA INFECÇÃO PELO HIV**

MINISTÉRIO DA SAÚDE

**MANUAL TÉCNICO
PARA O DIAGNÓSTICO
DA INFECÇÃO PELO HIV**

3ª EDIÇÃO

Brasília - DF
2016

MINISTÉRIO DA SAÚDE
Secretaria de Vigilância em Saúde
Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais

MANUAL TÉCNICO PARA O DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO HIV

3ª EDIÇÃO



Brasília - DF
2016

2013 Ministério da Saúde.



Esta obra é disponibilizada nos termos da Licença Creative Commons – Atribuição – Não Comercial – Compartilhamento pela mesma licença 4.0 Internacional. É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte.

A coleção institucional do Ministério da Saúde pode ser acessada, na íntegra, na Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde: <www.saude.gov.br/bvs>.

Tiragem: 3ª edição – 2016 – 1.000 exemplares

Elaboração, distribuição e informações

MINISTÉRIO DA SAÚDE
Secretaria de Vigilância em Saúde
Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais
SAF Sul Trecho 2, Bloco F, Torre 1, Edifício Premium
CEP: 70070-600 – Brasília /DF
Site: www.aids.gov.br
E-mail: aids@ids.gov.br

Projeto gráfico e diagramação

Ana Cristina e Silva Aguiar
Fernanda Dias Almeida Mizael

Autores

Orlando da Costa Ferreira Junior
Miriam Franchini
Maria Luiza Bazzo
Leonardo Rapone da Motta
Nazle Mendonça Collaço Veras
Elaine Sanae Sumikawa Wersom

Organização

Adele Schwartz Benzaken
Fábio Mesquita
Miriam Franchini

Revisão

Ana Flávia Nacif P. Coelho Pires
Ester Cerdeira Sabino
Maria Inês de Moura Pardini
Maria Tereza Magalhães Morais
Mariza Gonçalves Morgado
Roberta Barbosa Lopes Francisco
Rodrigo Ribeiro Rodrigues

Colaboradores

Elvira Lúcia Soares
Mariana Villares
Regina Aparecida Comparini

1ª Revisão - Maio/2014

Revisores

Dennis Armando Bertolini
José Boullosa Alonso Neto
Leonardo Rapone da Motta
Maria Inês de M. C. Pardini
Maria Luiza Bazzo
Maria Tereza Magalhães Morais
Miriam Franchini
Nazle Mendonça Collaço Veras
Orlando da Costa Ferreira Junior
Pamela Cristina Gaspar
Regina Aparecida Comparini
Roberta Barbosa Lopes Francisco
Rodrigo Ribeiro Rodrigues

2ª Revisão - Novembro/2015

Revisores

Ana Flavia Pires
Dennis Armando Bertolini
José Boullosa Alonso Neto
Leonardo Rapone da Motta
Maria Inês de M. C. Pardini
Maria Luiza Bazzo
Maria Tereza Magalhães Morais
Miriam Franchini
Nazle Mendonça Collaço Veras
Orlando da Costa Ferreira Junior
Pamela Cristina Gaspar
Regina Aparecida Comparini
Roberta Barbosa Lopes Francisco

Impresso no Brasil / *Printed in Brazil*

Ficha Catalográfica

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis, Aids e Hepatites Virais.

Manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo HIV / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis, Aids e Hepatites Virais. – 2. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2015.

85 p. : il.

ISBN

1. Síndrome de Imunodeficiência Adquirida. 2. HIV. 3. Vírus da AIDS. I. Título.

CDU 616.988

Catálogo na fonte – Coordenação-Geral de Documentação e Informação – Editora MS – OS 2015/0058

Títulos para indexação

Technical manual for the diagnosis of HIV infection

Lista de Abreviaturas

Ac	anticorpo
AEQ	Avaliação Externa de Qualidade
Ag	antígeno
Aids	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (do inglês, <i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>)
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ARV	antirretroviral
C	controle
CO	ponto de corte (do inglês, <i>cut-off</i>)
CRF	forma recombinante circulante (do inglês, <i>circulating recombinant form</i>)
CTA	Centro de Testagem e Aconselhamento
CV	carga viral
D	detectável
DBS	sangue seco em papel de filtro (do inglês, <i>dried blood spots</i>)
DDAHV	Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais
DNA	ácido desoxirribonucleico (do inglês, <i>deoxyribonucleic acid</i>)
DO	densidade ótica
DPP	plataforma de duplo percurso (do inglês, <i>dual path platform</i>)
EA	eventos adversos
Env	envelope
FO	fluido oral
Gag	antígeno grupo específico (do inglês, <i>group-specific antigen</i>)
Gp	glicoproteína
GPGQ	motivo presente na alça V3 da gp120 do envelope viral, principalmente em subtipos não B do HIV-1 (Q = Glutamina)
GPGR	motivo presente na alça V3 da gp120 do envelope viral (P = Prolina)
GWGR	variante brasileira do motivo GPGR do HIV (W = Triptofano)
HIV	vírus da imunodeficiência humana (do inglês, <i>human immunodeficiency virus</i>)
IB	imunoblot
IBR	imunoblot rápido
IE	imunoensaio

IE3^aG	imunoensaio de terceira geração
IE4^aG	imunoensaio de quarta geração
IFI	imunofluorescência indireta
Ig	imunoglobulina
IgA	imunoglobulina A
IgE	imunoglobulina E
IgG	imunoglobulina G
IgM	imunoglobulina M
IST	infecção sexualmente transmissível
kd	kilodalton
LIA	imunoensaio em linha (do inglês, <i>line immunoassay</i>)
LTR	extremidades em repetições longas (do inglês, <i>long terminal repeat</i>)
MS	Ministério da Saúde
ND	não detectável
Nef	fator regulador negativo (do inglês, <i>negative regulator factor</i>)
nm	nanômetro
Notivisa	Sistema de Notificações em Vigilância Sanitária
NR	não reagente
P	proteína
PCR	reação em cadeia da polimerase (do inglês, <i>polymerase chain reaction</i>)
Pol	polimerase
QT	queixas técnicas
R	reagente
Rev	regulador da expressão de proteínas do vírion (do inglês, <i>regulator of expression of virion proteins</i>)
RF	formas recombinantes (do inglês, <i>recombinant forms</i>)
RNA	ácido ribonucleico (do inglês, <i>ribonucleic acid</i>)
RT	transcriptase reversa (do inglês, <i>reverse transcriptase</i>)
ST	sangue total
SAE	Serviço de Assistência Especializada
SUS	Sistema Único de Saúde
T	teste

TasP	tratamento como prevenção (do inglês, <i>treatment as prevention</i>)
Tat	proteína transativadora (do inglês, <i>trans-activator of transcription</i>)
TM	teste molecular
TR	teste rápido
TR1-FO	teste rápido inicial utilizando fluido oral
URF	forma recombinante única (do inglês, <i>unique recombinant form</i>)
UBS	Unidade Básica de Saúde
Vif	fator de infecciosidade viral (do inglês, <i>virion infectivity factor</i>)
VPP	valor preditivo positivo
Vpr	proteína viral “R” (do inglês, <i>viral protein R</i>)
Vpu	proteína viral “U” (do inglês, <i>viral protein U</i>)
WB	western blot

Sumário

Apresentação da 3ª edição	11
Apresentação da 2ª edição	13
Apresentação	15
1 Introdução	17
2 A estrutura do HIV	19
2.1 Classificação filogenética do HIV.....	22
2.2 Subtipos do HIV-1.....	23
3 Infecção e resposta imune contra o HIV	25
4 Diagnóstico da infecção pelo HIV	27
4.1 Imunoensaio de triagem.....	28
4.1.1 Primeira geração.....	29
4.1.2 Segunda geração	30
4.1.3 Terceira geração	30
4.1.4 Quarta geração.....	31
4.2 Testes rápidos (TR).....	32
4.2.1 Situações e locais nas quais o DDAHV recomenda a utilização de testes rápidos	34
4.3 Testes complementares	36
4.4 Diagnóstico por detecção direta do HIV	38
4.5 Diagnóstico utilizando amostras de sangue seco em papel-filtro	38
5 Sistema de estagiamento laboratorial da infecção recente pelo HIV: Classificação de Fiebig	39
5.1 Estágios da infecção recente.....	39
5.2 Limitações do modelo de Fiebig.....	41
6 Falhas e erros no diagnóstico da infecção pelo HIV	43
6.1 Falhas na execução dos testes rápidos	43
7 Tecnovigilância	47

8 Fluxogramas de testagem para HIV.....	49
8.1 Estratégias para o diagnóstico da infecção pelo HIV empregando testes rápidos	50
9 Estratégias para identificação precoce da infecção pelo HIV em crianças menores de 18 meses	75
10 Situações especiais do diagnóstico da infecção pelo HIV	76
10.1 Recomendações para o diagnóstico de infecção aguda pelo HIV-1.....	76
10.2 Recomendações para o diagnóstico da infecção pelo HIV-2	76
10.3. Recomendações para o diagnóstico da infecção pelo HIV em gestantes.....	78
Referências	79
Glossário.....	83

APRESENTAÇÃO DA 3ª EDIÇÃO

A Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013, que aprova este Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV, estabelece que o manual seja revisto semestralmente e atualizado à luz dos avanços científicos por um comitê composto por profissionais de notório saber.

Nesse sentido, esta 3ª edição do manual:

- Substitui o termo “Doença Sexualmente Transmissível (DST)” por “Infecção Sexualmente Transmissível (IST)”;
- Incorpora o fluxo a ser seguido por todos os serviços quando for necessária a investigação da infecção pelo HIV-2;
- Atualiza as figuras da reação de western blot - WB e da escala de progressão da resposta imune de Fiebig et al.;
- Atualiza os locais e situações para as quais o Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais recomenda a utilização dos testes rápidos;
- Inclui um resumo de cada fluxograma visando facilitar ainda mais a compreensão do usuário;
- Altera as figuras dos Fluxogramas 3 e 4;
- Inclui o item 6.1: “Falhas na execução dos testes rápidos (TR)”;
- Inclui o item 10.3: “Recomendações para o diagnóstico da infecção pelo HIV em gestantes”;
- Finalmente, aprimora a redação do original, com vistas a dar mais clareza ao texto e dirimir as dúvidas que os usuários apontaram ao implementar as ações, facilitando ao leitor a compreensão do texto.

Secretaria de Vigilância em Saúde

Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais

APRESENTAÇÃO DA 2ª EDIÇÃO

A Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013, que aprova este Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV, estabelece que o manual seja revisto semestralmente e atualizado à luz dos avanços científicos por um comitê composto por profissionais de notório saber.

Nesse sentido, a 2ª edição do manual incorpora, a pedido de alguns laboratórios que necessitam de um tempo maior para se adequar aos fluxogramas mais modernos apresentados na primeira edição do manual, o fluxograma número 6. Este já vinha sendo utilizado pela maioria dos laboratórios do Brasil e é composto por um imunoensaio de 4ª geração, como teste de triagem, associado ao western blot/imunoblot/imunoblot rápido, como teste complementar.

Além da inclusão do novo fluxograma, esta revisão procurou melhorar a redação do texto original e completou no glossário a definição de termos que facilitam ao leitor a compreensão do texto.

Secretaria de Vigilância em Saúde

Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais

APRESENTAÇÃO

O Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais do Ministério da Saúde tem trabalhado constantemente na busca de uma resposta sustentável à epidemia de HIV/aids.

Nossas ações e propostas são pautadas em evidências científicas, na evolução tecnológica e no diálogo com todos os atores envolvidos na luta contra a epidemia.

Nesse sentido, novas políticas têm sido adotadas com o objetivo de ampliar o diagnóstico e introduzir novas metodologias e fluxos que permitam o diagnóstico precoce da infecção pelo HIV, impactando a transmissão do vírus e o surgimento de novos casos.

Dentre as inovações propostas, está a política do Tratamento como Prevenção (TasP, da sigla em inglês *Treatment as Prevention*), que oferece a todos os pacientes a possibilidade de iniciar o tratamento logo após a confirmação do diagnóstico. Essa medida melhora a qualidade de vida das pessoas diagnosticadas e reduz a probabilidade de transmissão do vírus.

Com o intuito de ampliar as possibilidades de diagnóstico, além de orientar e subsidiar, especialmente, os(as) profissionais de saúde na realização do diagnóstico da infecção do HIV, foi elaborado este Manual Técnico.

Estão aqui apresentados seis fluxogramas que permitem o diagnóstico seguro da infecção. Essa proposta viabiliza a realização do diagnóstico em diferentes situações e localidades nas quais a infraestrutura laboratorial esteja ou não disponível, em vista da capacidade necessária ao atendimento de todos os cidadãos que buscam esse diagnóstico.

Esperamos que os profissionais e serviços façam as escolhas adequadas à sua realidade local, de modo a viabilizar o acesso de todos os indivíduos ao diagnóstico da infecção pelo HIV. Ao construir essas propostas, consideramos também a agilidade da resposta aos indivíduos, seu encaminhamento para assistência médica e a relação custo-efetividade da testagem.

Desejamos a todos sucesso no seu trabalho e nos colocamos à disposição para esclarecer qualquer dúvida por meio do seguinte endereço de e-mail: clab@aids.gov.br.

1 INTRODUÇÃO

São vários os desafios associados à implementação de novos fluxogramas que visam caracterizar com acurácia e precisão uma **amostra biológica**^G submetida a testes para o diagnóstico da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV; do inglês, *human immunodeficiency virus*). Esses desafios abrangem o planejamento de políticas públicas e incluem desde questões estruturais (políticas, legais, custo-efetividade, etc.) até as operacionais (formação de pessoal, validação dos testes e boas práticas de laboratório).

Alguns desafios permanecem constantes: a evolução tecnológica que introduz, periodicamente, novas metodologias no mercado de testes, sua aprovação pelas agências reguladoras e ainda sua aceitação para uso na rotina diária do diagnóstico em diferentes situações e instalações.

Resultados indeterminados ou inconclusivos, **falso-reagentes**^G ou **falso-não reagentes**^G, podem ser obtidos com a utilização de qualquer teste ou metodologia, independentemente do fluxograma utilizado, seja devido à limitação da própria metodologia e do que ela é capaz de detectar na amostra analisada, seja pela característica singular com que a infecção pode progredir em diferentes indivíduos.

A reatividade cruzada de **anticorpos**^G que podem estar presentes na amostra em virtude de várias doenças autoimunes, ou mesmo na gravidez, dentre outras situações, pode produzir resultados falso-reagentes ou indeterminados em qualquer ensaio imunológico.

Em amostras que apresentam resultados indeterminados em testes como o western blot (WB), imunoblot (IB) ou imunoblot rápido (IBR), os testes moleculares (TM) podem ser muito úteis para confirmar a presença da infecção pelo HIV. Porém, existe um período entre a exposição do indivíduo e a detecção do vírus, no qual nenhum teste atualmente disponível pode definir o resultado da amostra.

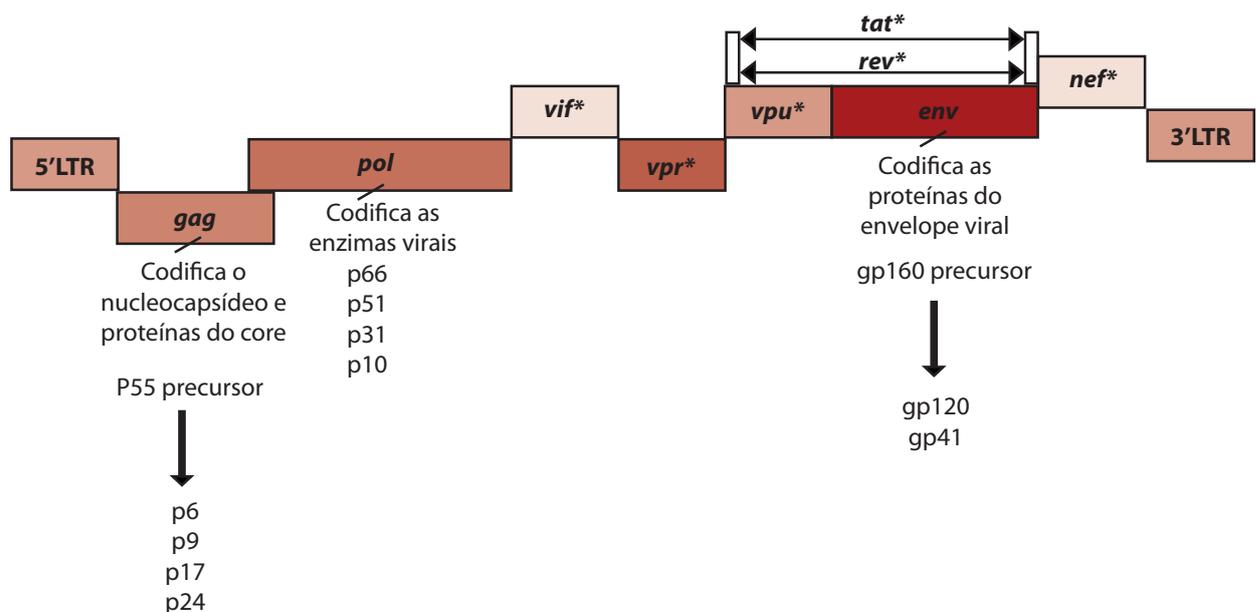
Por fim, é essencial descrever de forma clara e consistente o significado dos resultados obtidos a partir da utilização de um fluxograma, esclarecendo suas vantagens, desvantagens e limitações. Os fluxogramas também indicam quais caminhos devem ser seguidos para solucionar casos excepcionais que requerem testes adicionais, até a correta caracterização da amostra submetida aos testes propostos no fluxograma escolhido em um determinado serviço.

2 A ESTRUTURA DO HIV

O HIV é uma partícula esférica, que mede de 100 a 120 nm de diâmetro, pertencente ao gênero *Lentivirus* e família *Retroviridae*, apresentando em seu núcleo duas cópias de RNA de cadeia simples, encapsuladas por uma camada proteica ou nucleocapsídeo, capsídeo e um envelope externo composto por uma bicamada fosfolipídica.

O genoma do HIV (Figura 1) inclui três principais genes que codificam as proteínas estruturais e enzimas virais: *gag*, *pol* e *env*. A nomenclatura das proteínas virais utiliza a abreviação “gp” para glicoproteína ou “p” para proteína, seguida de um número que indica o peso molecular em kilodaltons (kd). O gene *gag* codifica a p55, a partir da qual quatro proteínas estruturais do capsídeo são formadas: p6, p9, p17 e p24. O capsídeo que circunda o ácido nucleico viral contém p24, p6 e p9, enquanto a p17 se encontra em uma camada entre o núcleo proteico e o invólucro, denominada matriz proteica, a qual reveste a superfície interna da membrana viral.

Figura 1 - Genoma do HIV-1. As localizações relativas dos principais genes no genoma do HIV-1 estão indicadas, assim como as principais proteínas que cada gene codifica



Fonte: adaptado de Miller, 2010.

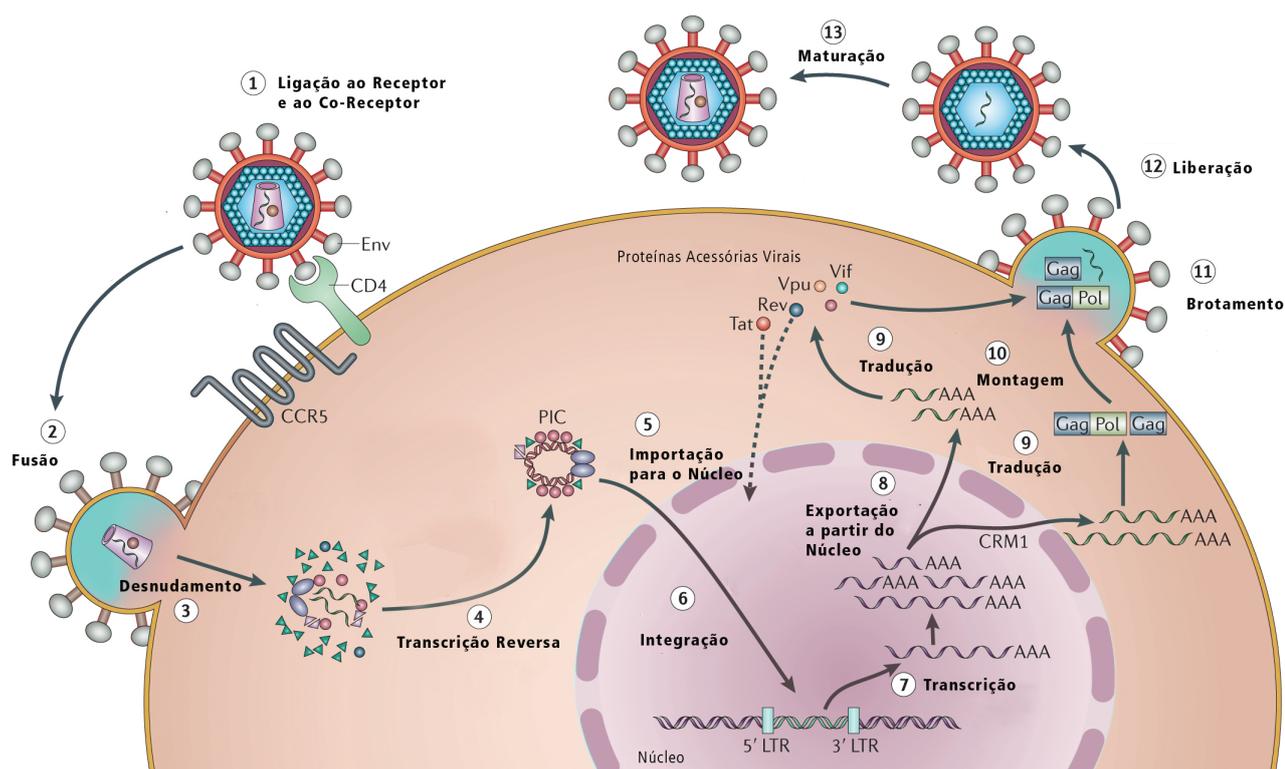
*Genes acessórios

O gene estrutural, *pol*, codifica as enzimas p66 e p51, que são subunidades que compõem a enzima transcriptase reversa (RT), necessária à replicação do HIV. Outras enzimas codificadas pelo gene *pol*; incluem a integrase (p31), que tem como função principal promover a integração do ácido desoxirribonucleico (DNA) do HIV ao genoma do hospedeiro, e a protease (p10) que realiza a clivagem de precursores proteicos em unidades ativas menores após a liberação da partícula viral da célula do hospedeiro.

O gene *env* codifica as glicoproteínas gp160, gp120 e gp41, que são encontradas no envelope viral. A gp160 é uma proteína precursora, clivada para formar a gp120 e gp41. A gp120 se projeta na superfície viral na forma trimérica, enquanto a gp41 é uma glicoproteína transmembrana e se associa à gp120. Ambas gp120 e gp41 estão envolvidas na ligação aos receptores de HIV nas células do hospedeiro e fusão do envelope viral com a membrana celular.

Vários outros genes no genoma do HIV codificam produtos com função reguladora ou assessória. Embora esses produtos não sejam parte integrante da estrutura viral, eles atuam no controle da replicação viral e infectividade. O gene *tat* (proteína transativadora) codifica a p14, uma proteína reguladora que ativa a transcrição de genes provirais do HIV. O gene *rev* (regulador da expressão de proteínas do **vírião**⁶) codifica a p19, uma proteína que transporta o RNA viral para a tradução no citoplasma. O gene *nef* (fator negativo) codifica a p27, a qual apresenta múltiplas funções, incluindo a modificação da célula hospedeira para aumentar a replicação viral e torná-la menos suscetível de ser destruída pelo sistema imune do hospedeiro. O gene *vpu* (proteína viral “U”) codifica a p16, uma proteína com múltiplos papéis, incluindo a montagem eficiente dos vírions, brotamento destes para fora da célula hospedeira e promoção da morte celular. O gene *vpr* (proteína viral “R”) codifica a p15, que auxilia na integração do DNA do HIV no núcleo da célula hospedeira. O gene *vif* (fator de infecciosidade viral) codifica a p23, que atua como um fator de infecciosidade viral, estabilizando o recém-sintetizado DNA do HIV e facilitando o seu transporte para o núcleo. A Figura 2 ilustra o ciclo replicativo do HIV-1.

Figura 2 – Ciclo replicativo do HIV-1



Fonte: Adaptado de Engelman & Cherepanov, 2012.

O HIV-2 também apresenta os genes *gag*, *pol* e *env* e genes regulatórios e assessórios com funções semelhantes às observadas no HIV-1. A similaridade entre os genomas dos dois vírus é de aproximadamente 50%. As regiões *gag* e *pol* do genoma viral apresentam maior similaridade entre o HIV-1 e HIV-2, ao contrário da região *env*. As proteínas do HIV-2 têm funções equivalentes às do HIV-1; entretanto, apresentam diferenças na composição de aminoácidos e no peso molecular, conforme a Tabela 1:

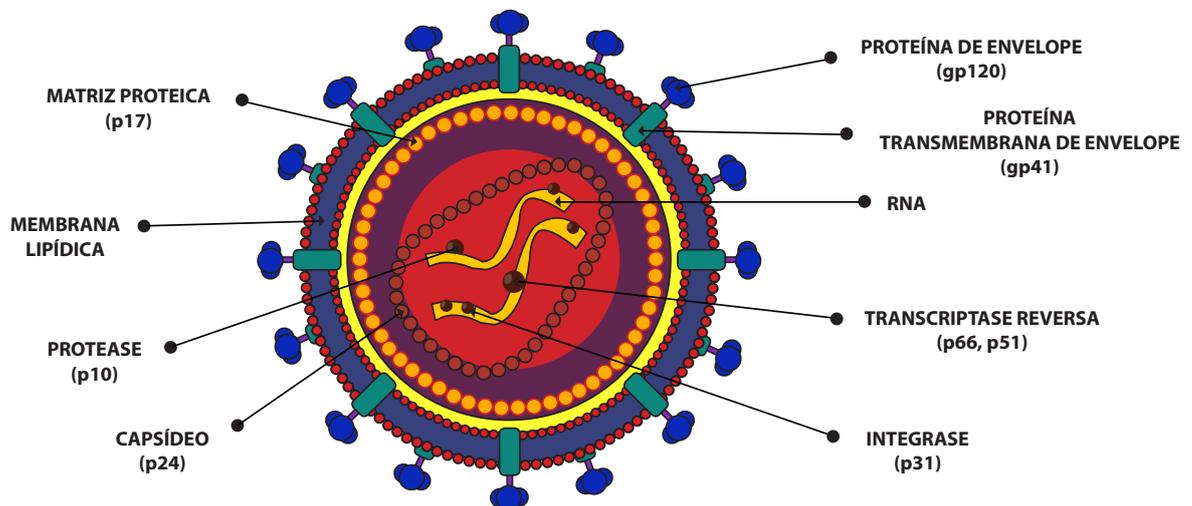
Tabela 1 – Principais proteínas do HIV com importância diagnóstica

Genes do HIV	Produtos do HIV	Peso molecular das proteínas e glicoproteínas virais	
		HIV-1	HIV-2
<i>Env</i>	Precursor	gp160	gp140
	Glicoproteína externa	gp120	gp105/125
	Glicoproteína transmembranar	gp41	gp36
<i>Pol</i>	Transcriptase reversa	p66	p68
	Transcriptase reversa	p51	p53
	Integrase	p31	p31/34
	Protease	p10	p10
<i>Gag</i>	Precursor	p55	p56
	Capsídeo	p24	p26
	Matriz	p17	p16

Fonte: Adaptado de CLSI, 2011.

Os principais componentes virais com utilidade diagnóstica incluem as proteínas do envelope viral (gp160, gp120 e gp41), as proteínas codificadas pelo gene *gag* (p55, p24 e p17) e as proteínas codificadas pelo gene *pol* (p66, p51, p31). A Figura 3 apresenta a localização das principais proteínas na partícula viral de HIV-1.

Figura 3 – Representação esquemática da estrutura do HIV-1



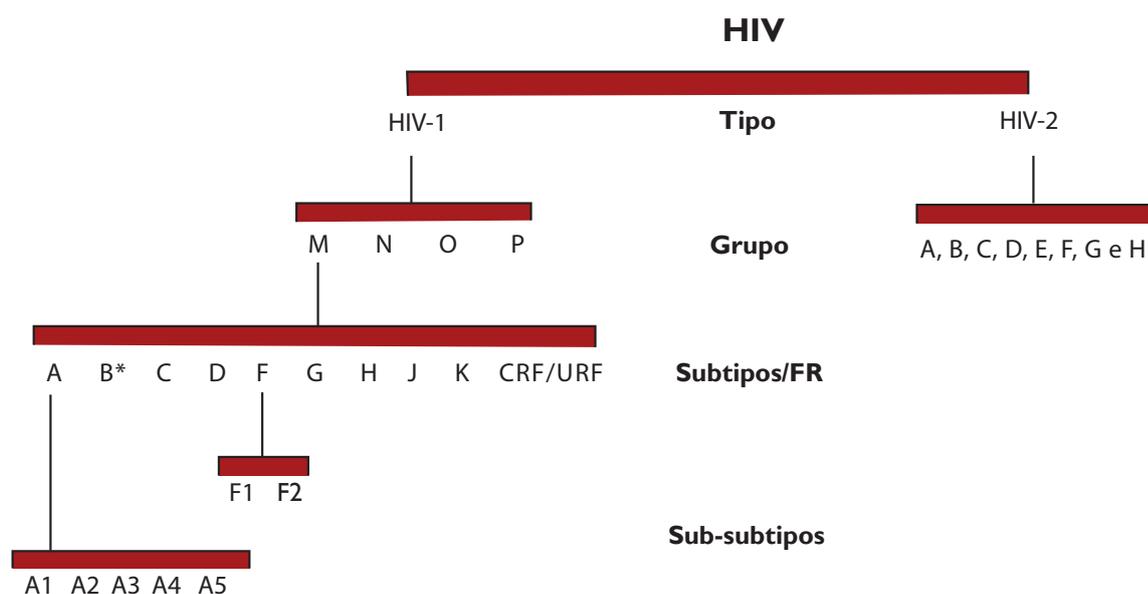
Fonte: DDAHV/SVS/MS.

2.1 Classificação filogenética do HIV

A classificação do HIV é feita por meio da análise filogenética de sequências nucleotídicas dos vírus. A classificação atual é hierárquica e consiste em tipos, grupos, subtipos, sub-subtipos e formas recombinantes (Figura 4). O HIV-1 e o HIV-2 são tipos distintos do vírus, mais distantes filogeneticamente.

O HIV-1 é subdividido em quatro grupos: **grupo M^G**, **grupo N^G**, **grupo O^G** (o mais divergente dentre os grupos); e ainda o **grupo P^G**. A maioria das infecções ocorre com HIV-1 do grupo M, o qual é diferenciado em subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J e K). Os subtipos A e F, por sua vez, são subdivididos em A1, A2, A3, A4 e A5, e em F1 e F2, respectivamente. Quando uma pessoa é portadora de uma infecção mista, composta por dois ou mais vírus de linhagens (subtipos) diferentes, pode ocorrer a transferência de material genético entre eles, dando origem às formas recombinantes (RF, do inglês *recombinant forms*). Caso a transmissão de uma RF tenha sido documentada em mais de três indivíduos não relacionados epidemiologicamente, passa a ser denominada como CRF (forma recombinante circulante, do inglês, *circulating recombinant form*). Formas recombinantes que foram identificadas, mas cujas transmissões são desconhecidas ou não relatadas, são definidas como URF (forma recombinante única; do inglês, *unique recombinant form*). A variação genética do HIV tem implicações na biologia e transmissão do vírus, na evolução clínica, na reatividade e nas reações cruzadas em testes diagnósticos que detectem a presença de anticorpos específicos para os **antígenos^G** virais.

Figura 4 – Representação esquemática da classificação do HIV



Fonte: DDAHV/SVS/MS.

* Inclui B (GPGR), B' (GPGQ) e B'' (GWGR).

2.2 Subtipos do HIV-1

A epidemia de HIV/aids no Brasil é complexa quanto à distribuição e **prevalência**⁶ dos diferentes subtipos de HIV-1, se comparada aos outros países da América do Sul (Figura 5). O subtipo B do HIV-1 tem sido descrito como o mais prevalente no Brasil, seguido pelo F1 e URF B/F1 nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste; enquanto na região Sul observa-se uma alta prevalência do subtipo C, com valores que variam de um estado a outro e do CRF31_BC. Além desses, já foram relatados alguns casos de infecções pelos subtipos A, D, CRF02_AG e genomas mosaicos em potencial, envolvendo recombinação ou infecção dupla entre B/F1, B/C e F1/D e pelo menos cinco CRF_BF1 (28, 29, 39, 40 e 46) e o CRF31_BC. Em adição à diversidade inter-subtipo, diferenças genéticas e antigênicas também foram descritas entre linhagens do subtipo B circulantes no Brasil, com a identificação de uma variante denominada B⁺. Esta difere do subtipo B clássico pela presença do motivo GWGR no topo da alça V3 da gp120 do envelope, no lugar de GPGR. Em algumas áreas do Brasil, a variante B⁺ mostrou-se altamente prevalente, correspondendo a 57% dos subtipos B detectados em Ribeirão Preto (SP) e 37% dos detectados no Rio de Janeiro (RJ).

Ao longo do tempo, tem-se verificado um aumento na complexidade da composição de subtipos virais e formas recombinantes nas diferentes regiões brasileiras.

3 INFEÇÃO E RESPOSTA IMUNE CONTRA O HIV

A maioria das infecções pelo HIV-1 ocorre através das mucosas do trato genital ou retal durante a relação sexual. Nas primeiras horas após a infecção pela via sexual, o HIV e células infectadas atravessam a barreira da mucosa, permitindo que o vírus se estabeleça no local de entrada e continue infectando linfócitos T CD4+ além de macrófagos e células dendríticas.

Após a transmissão do vírus, há um período de aproximadamente dez dias, denominado de **fase eclipse**^G, antes que o RNA viral seja detectável no plasma. Estudos que utilizaram técnicas avançadas de sequenciamento genético das primeiras partículas virais detectadas no plasma permitiram demonstrar que aproximadamente 80% das infecções sexuais pelo HIV-1 dos subtipos B e C são iniciadas por um único vírus. A homogeneidade do vírus, dito fundador, indica que o estabelecimento da infecção é resultado de um único foco de linfócitos T CD4+ infectados da mucosa. A **resposta imunológica inata**^G que se estabelece no foco da infecção atrai uma quantidade adicional de células T, o que, por sua vez, aumenta a replicação viral.

A partir dessa pequena população de células infectadas, o vírus é disseminado inicialmente para os linfonodos locais e depois sistemicamente e em número suficiente para estabelecer e manter a produção de vírus nos tecidos linfoides, além de estabelecer um reservatório viral latente, principalmente em linfócitos T CD4+ de memória. A replicação viral ativa e a livre circulação do vírus na corrente sanguínea causam a formação de um pico de viremia por volta de 21 a 28 dias após a exposição ao HIV. Essa viremia está associada a um declínio acentuado no número de linfócitos T CD4+.

Na fase de expansão e disseminação sistêmica, há a indução da resposta imunológica, mas esta é tardia e insuficiente em magnitude para erradicar a infecção. A ativação imune, por outro lado, produz uma quantidade adicional de linfócitos T CD4+ ativados que servem de alvo para novas infecções. Ao mesmo tempo, o número crescente de linfócitos T CD8+ exerce um controle parcial da infecção, mas não suficiente para impedir, em ausência de terapia, a lenta e progressiva depleção de linfócitos T CD4+ e a eventual progressão para a **síndrome da imunodeficiência adquirida**^G (aids).

A ativação de linfócitos T citotóxicos CD8+ específicos contra o HIV ocorre normalmente antes da soroconversão. O aparecimento de uma **resposta imune celular**^G HIV-específica e a subsequente síntese de anticorpos anti-HIV levam a uma queda da **carga viral**^G plasmática (viremia) – até um nível (*set point*) que é específico de cada indivíduo – e à cronicidade da infecção pelo HIV. A resposta imune mediada por células é mais importante do que a **resposta imune humoral**^G no controle da replicação viral durante a **infecção aguda pelo HIV**^G, mas os anticorpos têm um papel relevante na redução da disseminação do HIV na fase crônica da infecção.

A resposta imunológica humoral contra vários antígenos virais é vigorosa. A maioria das proteínas do HIV é imunogênica, mas uma resposta de anticorpos precoce e preferencial é induzida contra glicoproteínas do envelope, gp120 e gp41, e contra a proteína do capsídeo viral, a p24.

Como em qualquer outra infecção viral, a primeira classe de anticorpo produzida durante uma **resposta imune primária**^G é a imunoglobulina M (IgM). Devido à persistência do HIV, nosso organismo é continuamente exposto aos mesmos antígenos e a produção inicial de IgM é substituída pela produção de imunoglobulina G (IgG). Entretanto, ao contrário de outras doenças infecciosas, a presença da IgM não permite diferenciar uma **infecção recente**^G de uma **infecção crônica**^G, tendo em vista que a IgM pode reaparecer em outros momentos durante o curso da infecção. A IgG anti-HIV atinge níveis séricos elevados e persiste por anos, enquanto os níveis séricos de IgM tendem a desaparecer com o tempo ou apresentar padrão de intermitência.

É observado um aumento da afinidade do anticorpo pelo antígeno, ou seja, os anticorpos de baixa afinidade que são produzidos no início da resposta humoral são pouco a pouco substituídos por anticorpos de alta afinidade. Esse é um fenômeno devido à ocorrência de mutações somáticas em determinadas regiões (*hot spots*) dos genes que codificam a imunoglobulina (Ig). Essas mutações ocorrem ao acaso e o aparecimento de clones de linfócitos B com maior especificidade antigênica é o resultado de um processo de seleção positiva decorrente

dessas mutações. Essa característica de aumento de afinidade (ou avidéz), juntamente com o aumento da concentração sérica de anticorpos específicos anti-HIV durante a fase inicial da resposta imune humoral, é a base racional para o desenvolvimento de testes laboratoriais que classificam a infecção em recente ou crônica.

4 DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO HIV

As estratégias de testagem em laboratório têm o objetivo de melhorar a qualidade do diagnóstico da infecção recente pelo HIV e, ao mesmo tempo, de fornecer uma base racional para assegurar que o diagnóstico seja seguro e concluído rapidamente.

Para construir a base lógica desses fluxogramas, empregamos como referência a classificação de Fiebig et al. (2003), ou seja, um sistema de estagiamento laboratorial da infecção recente pelo HIV. Os ensaios de terceira geração permitiram a detecção de imunoglobulina M (IgM) e imunoglobulina G (IgG) e representaram um avanço no diagnóstico da infecção recente pelo HIV. Porém, novas tecnologias foram desenvolvidas, como, por exemplo, os testes de quarta geração, que possibilitam a detecção combinada de antígeno e anticorpo, permitindo diminuir ainda mais o período de **janela diagnóstica**^G do HIV.

Os **testes complementares**^G convencionais (western blot - WB, imunoblot - IB ou imunoblot rápido - IBR) são menos sensíveis que os testes de triagem de 3ª e 4ª gerações; por isso, são inadequados para a detecção de infecções recentes, e elevam o custo do diagnóstico.

Atualmente, os testes moleculares são os mais eficazes para a confirmação diagnóstica, por permitirem o diagnóstico de infecções agudas e/ou recentes e apresentarem melhor custo-efetividade.

A Figura 5 mostra a presença dos marcadores do HIV ao longo do tempo.

Por outro lado, existem indivíduos, chamados de **controladores de elite**^G, que mantêm a viremia em um nível que pode ser indetectável em testes moleculares. Nesses casos, o diagnóstico só pode ser realizado mediante a utilização dos testes complementares convencionais (WB, IB e IBR) citados.

A estimativa do número de indivíduos considerados controladores de elite depende de dois parâmetros: o valor da carga viral (CV) e o tempo em que o indivíduo permanece com a CV indetectável. Estudos recentes em pessoas infectadas e em doadores de sangue sugerem que a ocorrência de controladores de elite não é superior a 1% dos indivíduos diagnosticados.

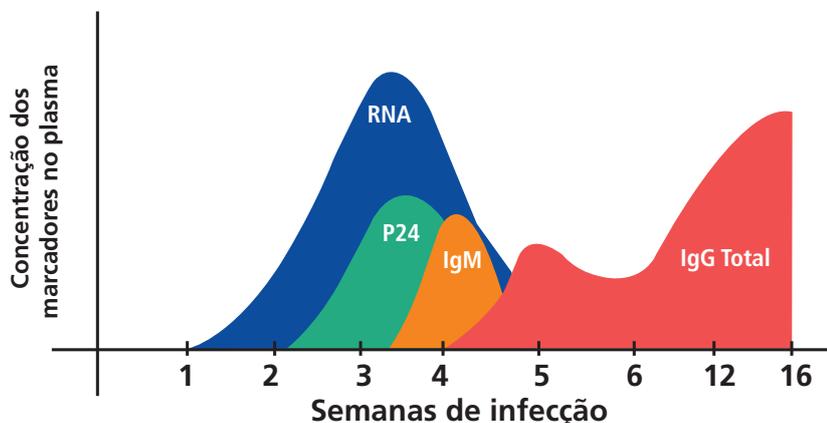
É importante observar que, em fluxogramas que utilizam testes moleculares para confirmação, indivíduos controladores de elite e indivíduos não infectados, porém com resultado falso-reagente no **teste de triagem**^G, terão resultado igualmente não reagente no **teste molecular**^G (TM). A distinção entre essas duas situações se dará por meio da realização de testes como o WB, IB ou IBR.

Diante dessa diversidade de cenários, não é possível a utilização de apenas um fluxograma para cobrir todas as situações que se apresentam para o diagnóstico da infecção pelo HIV. Assim, casos de infecção recente são melhor identificados com a utilização de um teste de 4ª geração como teste de triagem e um teste molecular como teste complementar.

Os controladores de elite, por sua vez, podem ser identificados com **imunoensaios**^G (IE) de 3ª ou 4ª geração, seguido da realização de um WB como teste complementar.

Pessoas na fase crônica da infecção são identificadas com sucesso por meio de qualquer combinação de testes de triagem (3ª ou 4ª gerações), seguido por um teste complementar (WB, IB, IBR ou TM). Em nosso país, a maioria dos indivíduos é diagnosticada na fase crônica da infecção (>95%).

Figura 5 – Marcadores da infecção pelo HIV na corrente sanguínea de acordo com o período em que surgem após a infecção, seu desaparecimento ou manutenção ao longo do tempo



Fonte: Buttò et al., 2010 (Adaptado de HIV - Estratégias para Diagnóstico no Brasil - Telelab/MS).

A estimativa dos casos de infecção recente ou aguda que se apresentam para o diagnóstico depende da incidência da infecção. Por exemplo, em populações em que a incidência é baixa, o número de casos com infecção recente ou aguda é muito pequeno. O inverso ocorre em populações de risco acrescido, em que a incidência é alta e a probabilidade de casos com infecção recente ou aguda é significativa. Portanto, a escolha do fluxograma deve levar em consideração a população-alvo da testagem, a fim de maximizar as chances de diagnosticar infecções recentes e/ou agudas.

Os testes para detecção da infecção pelo HIV são principalmente empregados em três situações: para triagem sorológica do sangue doado e garantia da segurança transfusional, hemoderivados e órgãos para transplante; para os estudos de vigilância epidemiológica; e para realizar o diagnóstico da infecção pelo HIV.

A seguir, estão descritos os testes utilizados mais comumente no diagnóstico da infecção pelo HIV.

4.1 Imunoensaio de triagem

Logo após a descoberta do HIV, foram desenvolvidos imunoensaios (IE) para o diagnóstico da infecção. Nas últimas décadas, quatro gerações de IE foram desenvolvidas. Essas gerações foram definidas de acordo com a evolução das metodologias empregadas, a partir do primeiro ensaio disponível comercialmente, no ano de 1985. As principais características das quatro gerações de IE estão descritas a seguir.

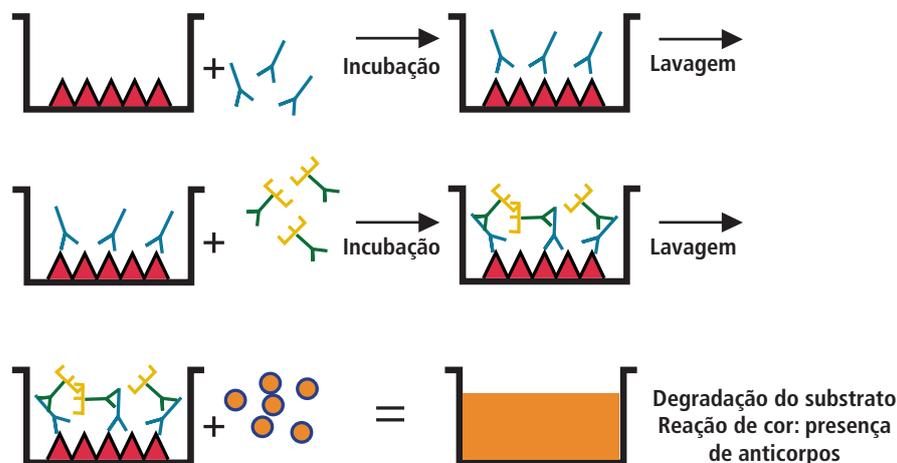
4.1.1 Primeira geração

O ensaio de primeira geração tem o formato indireto (Figura 6), ou seja, a presença de anticorpos específicos é detectada por um conjugado constituído por um anticorpo anti-IgG humana. Na fase sólida, os antígenos são originados de um lisado viral de HIV.

Os antígenos do lisado viral são obtidos a partir de cultura do HIV em linhagens celulares humanas. O vírus é obtido do sobrenadante da cultura, concentrado por centrifugação e lisado para expor as proteínas virais. Essas proteínas são posteriormente purificadas; entretanto, as diferentes proteínas virais não são obtidas com a mesma eficiência e algumas sofrem degradação, alterando as proporções estequiométricas das proteínas presentes no vírion. Além disso, proteínas de origem celular e outras impurezas, provenientes do meio de cultura, também podem estar presentes na preparação antigênica final. Dessa forma, o “caldo” constituído por proteínas virais (em proporções distintas daquelas encontradas no vírion), proteínas de células humanas e do meio de cultura, são utilizadas como antígenos na fase sólida do ensaio de primeira geração.

Essas características tornam o ensaio pouco específico e, pelo fato de detectarem apenas IgG, também são menos sensíveis do que os ensaios de gerações posteriores. Em média, a **janela de soroconversão**^G dos ensaios de primeira geração é de seis a oito semanas. Atualmente, esses ensaios deixaram de ser utilizados na rotina diagnóstica dos laboratórios.

Figura 6 – Ensaio imunoenzimático indireto do tipo ELISA (do inglês, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)



Legenda

	Fase sólida Poço de uma placa de 96 poços		Antígeno de HIV (Ag) Ligado à fase sólida - poço da placa
	Anticorpo (Ac) IgG Anti-HIV Presente na amostra do indivíduo		Substrato (S) Cromógeno + H ₂ O ₂
	Conjugado (Conj) Ac anti-IgG Humana + Enzima		

4.1.2 Segunda geração

O ensaio de segunda geração também tem formato indireto; porém, utiliza antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos derivados de proteínas do HIV. A utilização de antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos no diagnóstico da infecção pelo HIV decorre do conhecimento de que existem regiões antigênicas em determinadas proteínas do HIV – epítomos imunodominantes – que são alvos preferenciais da resposta imune humoral. Quanto maior a quantidade de epítomos imunodominantes no ensaio, mais sensível esse ensaio se torna.

Proteínas fracamente imunodominantes, ou aquelas em que o aparecimento do anticorpo se dá mais tardiamente, não contribuem para melhorar o desempenho do ensaio e ainda podem ser fonte de reatividade inespecífica.

Em comparação com os ensaios de primeira geração, os de segunda geração são mais sensíveis e específicos, por conterem uma maior concentração de proteínas (epítomos imunodominantes) relevantes. Em média, a janela de soroconversão dos ensaios de segunda geração é de 28 a 30 dias.

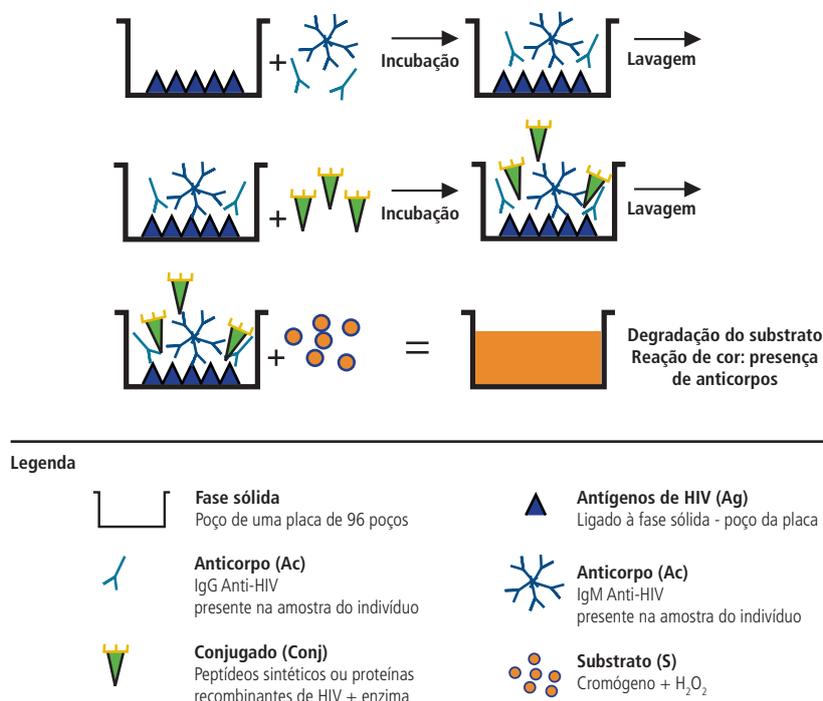
4.1.3 Terceira geração

O ensaio de terceira geração tem o formato “sanduíche” (ou imunométrico). A característica desse ensaio é utilizar antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos tanto na fase sólida quanto sob a forma de conjugado. Esse formato permite a detecção simultânea de anticorpos anti-HIV IgM e IgG.

Como a IgG é bivalente, ou seja, possui dois sítios de ligação ao antígeno (chamados de região Fab da imunoglobulina) e a IgM é pentavalente, um desses sítios liga-se ao antígeno adsorvido à fase sólida e o(s) outro(s) Fab fica(m) livre(s) para posteriormente ligar(em)-se aos mesmos antígenos solúveis, sob a forma de conjugado. Dessa forma, o anticorpo fica “entre” dois antígenos e, por essa característica, qualquer classe de imunoglobulina anti-HIV (IgG, IgM, IgA ou IgE) será detectada por esse tipo de metodologia.

A possibilidade de detectar anticorpos da classe IgM torna esse ensaio mais sensível do que os de gerações anteriores. Ao mesmo tempo, há aumento da especificidade, pois o conjugado (antígenos) liga-se apenas à valência livre do anticorpo que está no complexo imune (antígenos na fase sólida do ensaio e anticorpos da amostra). Em média, a janela de soroconversão dos ensaios de terceira geração é de 22 a 25 dias. A Figura 7 mostra uma representação esquemática de um ensaio de terceira geração.

Figura 7 – Ensaio imunoenzimático “sanduíche” ou imunométrico de terceira geração do tipo ELISA (do inglês, *enzyme-linked immunosorbent assay*)

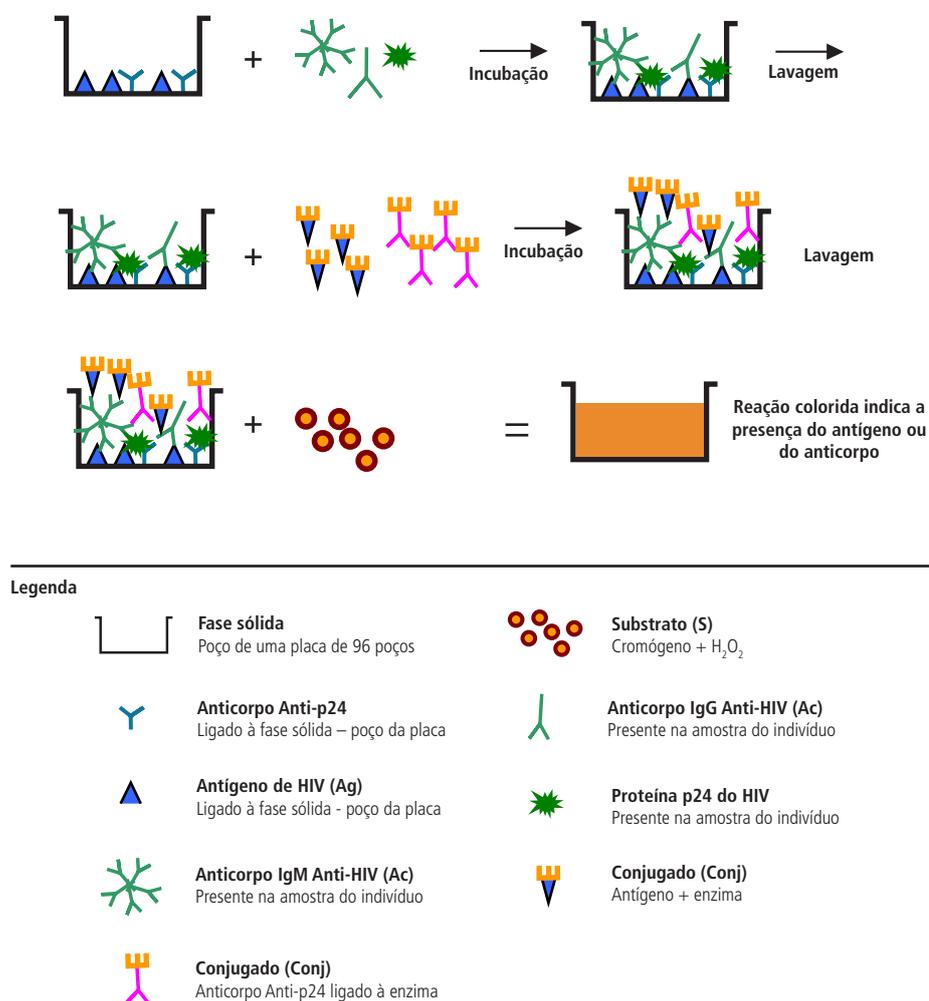


Fonte: Adaptado de HIV - Estratégias para Diagnóstico no Brasil - Telelab/MS.

4.1.4 Quarta geração

O ensaio de quarta geração detecta simultaneamente o antígeno p24 e anticorpos específicos anti-HIV. O componente de detecção de anticorpo tem o formato de “sanduíche”; portanto, detecta todas as classes de imunoglobulinas contra proteínas recombinantes ou peptídeos sintéticos derivados das glicoproteínas gp41 e gp120/160. O componente de detecção de antígeno p24 é constituído por um anticorpo monoclonal na fase sólida (para capturar o antígeno p24 presente no soro) e de um conjugado constituído por um antissoro (anticorpo) poliespecífico contra a proteína p24, ou mesmo um outro anticorpo monoclonal contra um segundo epítipo da proteína p24. Em média, a janela diagnóstica dos ensaios de quarta geração é de aproximadamente 15 dias, dependendo do ensaio utilizado. A Figura 8 mostra uma representação esquemática de um teste de quarta geração.

Figura 8 – Ensaio imunoenzimático “sanduíche” ou imunométrico de quarta geração do tipo ELISA (do inglês, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)



Fonte: Autoria própria.

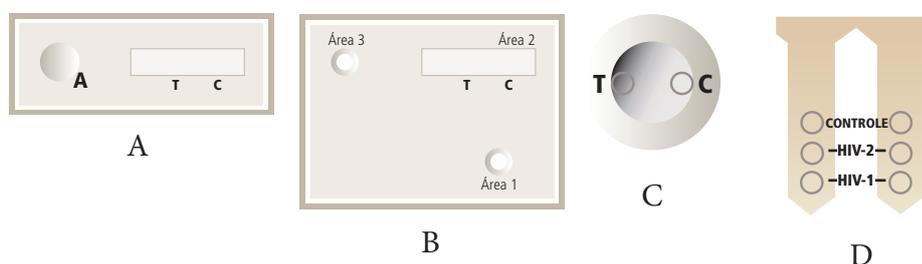
Neste manual, as gerações de imunoenaios estão representadas como **testes imunoenzimáticos** do tipo ELISA (do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) porque os primeiros testes que surgiram no mercado, de primeira geração, usavam essa metodologia.

Atualmente, outras metodologias estão disponíveis. Para conhecê-las ou revisá-las, recomendamos os cursos do sistema de ensino a distância Telelab do Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais, disponíveis em www.telelab.aids.gov.br

4.2 Testes rápidos (TR)

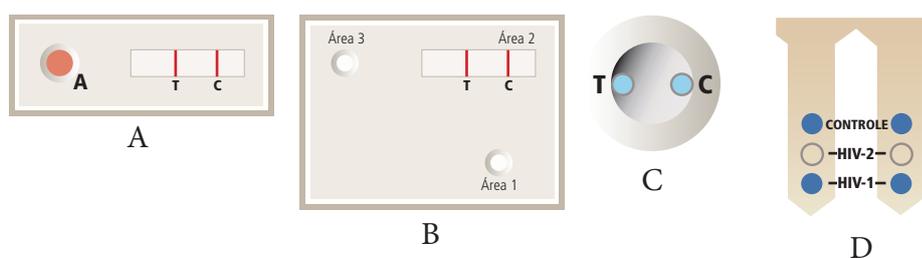
Os **testes rápidos**^G (TR) são imunoenaios (IE) simples, que podem ser realizados em até 30 minutos. Por essas características, serão tratados neste manual pela denominação de testes rápidos. Como consequência do desenvolvimento e da disponibilidade de TR, o diagnóstico do HIV atualmente pode ser realizado em ambientes laboratoriais e não laboratoriais, permitindo ampliar o acesso ao diagnóstico. Existem vários formatos de TR, e os mais frequentemente utilizados são: dispositivos (ou tiras) de imunocromatografia de fluxo lateral, imunocromatografia de duplo percurso (DPP), dispositivos de imunocaptação e fase sólida (Figuras 9, 10 e 11).

Figura 9 – Exemplos de testes rápidos (TR) para HIV, (A) imunocromatografia de fluxo lateral, (B) imunocromatografia de duplo percurso – DPP, (C) imunoconcentração, (D) fase sólida



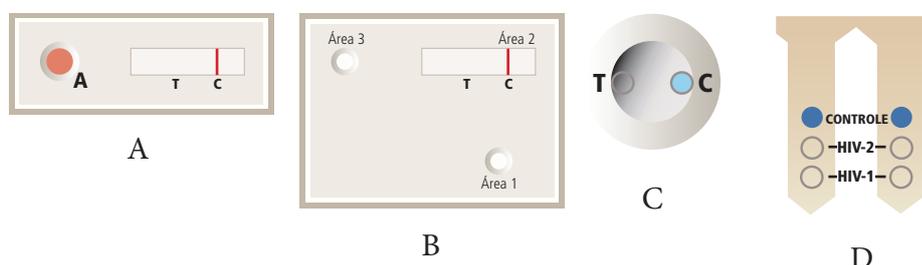
Fonte: Adaptado de HIV - Estratégias para Diagnóstico no Brasil - Telelab/MS.

Figura 10 – Exemplos de testes rápidos (TR) reagentes para HIV. Observa-se presença de linha ou ponto na área T (Teste) e na área C (Controle), (A) imunocromatografia de fluxo lateral, (B) imunocromatografia de duplo percurso – DPP, (C) imunoconcentração, (D) fase sólida



Fonte: Adaptado de HIV - Estratégias para Diagnóstico no Brasil - Telelab/MS.

Figura 11 – Exemplos de testes rápidos (TR) não reagentes para HIV. Observa-se presença de linha ou ponto apenas na área C (Controle), (A) imunocromatografia de fluxo lateral, (B) imunocromatografia de duplo percurso – DPP, (C) imunoconcentração, (D) fase sólida



Fonte: Adaptado de HIV - Estratégias para Diagnóstico no Brasil - Telelab/MS.

Tendo em vista que os TR são desenvolvidos para detectar anticorpos anti-HIV em até 30 minutos, em comparação com os IE utilizados em laboratórios, cujo resultado pode levar até quatro horas, os dispositivos são otimizados para acelerar a interação antígeno/anticorpo. Isso requer a utilização de uma maior concentração de antígeno e da detecção de complexo antígeno/anticorpo com reagentes sensíveis à cor, como, por exemplo, o ouro coloidal. Os TR são ideais para fornecer resultados no mesmo dia em uma variedade de situações e locais descritos no item 4.2.1.

4.2.1 Situações e locais em que o Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais recomenda a utilização de testes rápidos

Com o intuito de ampliar as possibilidades de diagnóstico, de acordo com a política pública de acesso ao diagnóstico para toda a população, informamos que os testes rápidos podem ser realizados em ambientes laboratoriais e não laboratoriais, dessa forma ampliando o acesso ao diagnóstico. Abaixo estão exemplificadas algumas situações e locais em que o Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais recomenda a utilização de testes rápidos.

- a) Serviços de saúde sem infraestrutura laboratorial ou localizados em regiões de difícil acesso;
- b) Instituições da Atenção Primária à Saúde (ex: UBS) e Instituições pertencentes a Programas do Ministério da Saúde, tais como Rede Cegonha, Programa de Saúde da Família, Consultório na Rua, Quero Fazer, dentre outros programas;
- c) Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) e Unidade de Testagem Móvel (UTM);
- d) Centro de Atenção Psicossocial (CAPS);
- e) Segmentos populacionais flutuantes;
- f) Serviços de atendimento de emergência, pronto-socorro, hospitais e maternidades;
- g) **Populações vulneráveis**^G;
- h) Parcerias de pessoas vivendo com HIV/aids;
- i) Acidentes biológicos ocupacionais;
- j) Gestantes que não tenham sido testadas durante o pré-natal ou cuja idade gestacional não assegure o recebimento do resultado do teste antes do parto;
- k) Parturientes e puérperas que não tenham sido testadas no pré-natal ou quando não se conhece o resultado do teste no momento do parto;
- l) Abortamento espontâneo, independentemente da idade gestacional;
- m) Laboratórios que realizam pequenas rotinas (rotinas com até cinco amostras diárias para diagnóstico da infecção pelo HIV);
- n) Pessoas em situação de violência sexual, para fins de profilaxia da infecção pelo HIV;
- o) Pacientes com diagnóstico de tuberculose;
- p) Pacientes com diagnóstico de hepatites virais;
- q) Outras situações especiais definidas pelo DDAHV para ações de vigilância, prevenção e controle das infecções sexualmente transmissíveis (IST) e aids.

Testes rápidos são primariamente recomendados para testagens presenciais. Podem ser realizados com **fluido crevicular gengival**^G – mais conhecido como **fluido oral**^G (FO) – soro, plasma ou sangue total (ST) (o que permite o uso de amostras obtidas por punção digital).

Os TR são simples de executar e podem ser utilizados fora do ambiente de laboratório, por pessoal capacitado presencialmente ou à distância.

Diversos TR estão disponíveis comercialmente; porém, nem todos possuem as características de desempenho, sensibilidade e especificidade estabelecidas pelo DDAHV e que podem ser observadas na Tabela 2. Para evitar o emprego de TR com desempenho sub-ótimos, o DDAHV tem um programa para avaliação da qualidade dos TR (Tabelas 2 e 3). Os resultados dessas avaliações são publicados periodicamente no site <www.aids.gov.br>.

O Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais (DDAHV) fornece capacitação à distância gratuitamente por meio do Telelab (<www.telelab.aids.gov.br>), onde estão disponíveis vídeos com os procedimentos para a realização dos testes rápidos.

Tabela 2 – Características de desempenho, sensibilidade e especificidade dos testes rápidos para HIV estabelecidas pelo DDAHV a partir de 2013

Parâmetro	Critério
Especificidade Clínica ^G	≥ 99,0%
Sensibilidade Clínica ^G	≥ 99,5%
Desempenho Operacional do Ensaio (DOE)	Desempenho “satisfatório” (no mínimo 4 pontos de 5 possíveis, listados na tabela 3)

Fonte: DDAHV/SVS/MS.

Tabela 3 – Parâmetros de desempenho e critérios de pontuação dos testes rápidos para HIV estabelecidos pelo DDAHV

Parâmetro do DOE	Desempenho desejado Pontuação = 1	Desempenho não desejado Pontuação = 0
Nº de reagentes necessários	Apenas um reagente	Mais de um reagente
Temperatura de armazenamento dos reagentes	Temperatura ambiente	2°C a 8°C requeridos
Total de etapas	Máximo de quatro	Mais do que quatro
Tempo total de realização	Máximo de 30 minutos	Mais de 30 minutos
Habilidades técnicas requeridas	Experiência laboratorial não requerida	Experiência laboratorial requerida

Fonte: DDAHV/SVS/MS.

Outros TR foram desenvolvidos utilizando o fluido oral (FO), coletado por meio de um dispositivo específico. O FO contém menor quantidade de anticorpos do que amostras de sangue total, soro ou plasma, mas ainda em quantidade suficiente para permitir o diagnóstico seguro da infecção pelo HIV, excetuando-se os casos de exposição recente. É importante ressaltar que a janela de soroconversão dos TR que utilizam FO pode chegar até a três (3) meses. Verifique qual o período indicado para a realização do teste nas informações técnicas contidas na instrução de uso do conjunto diagnóstico em uso. Os anticorpos presentes são transferidos passivamente do sangue circulante para o FO. Por essa razão, os anticorpos da classe IgG presentes no FO possuem toda gama de especificidade dos anticorpos presentes no soro. No entanto, as vantagens do emprego do teste de FO superam sua limitação de sensibilidade. A coleta do FO simplifica a testagem do HIV, pois não é invasiva, reduz o risco biológico e, sobretudo, amplia o acesso ao diagnóstico da infecção pelo HIV nas populações vulneráveis e populações-chave^G.

4.3 Testes complementares^G

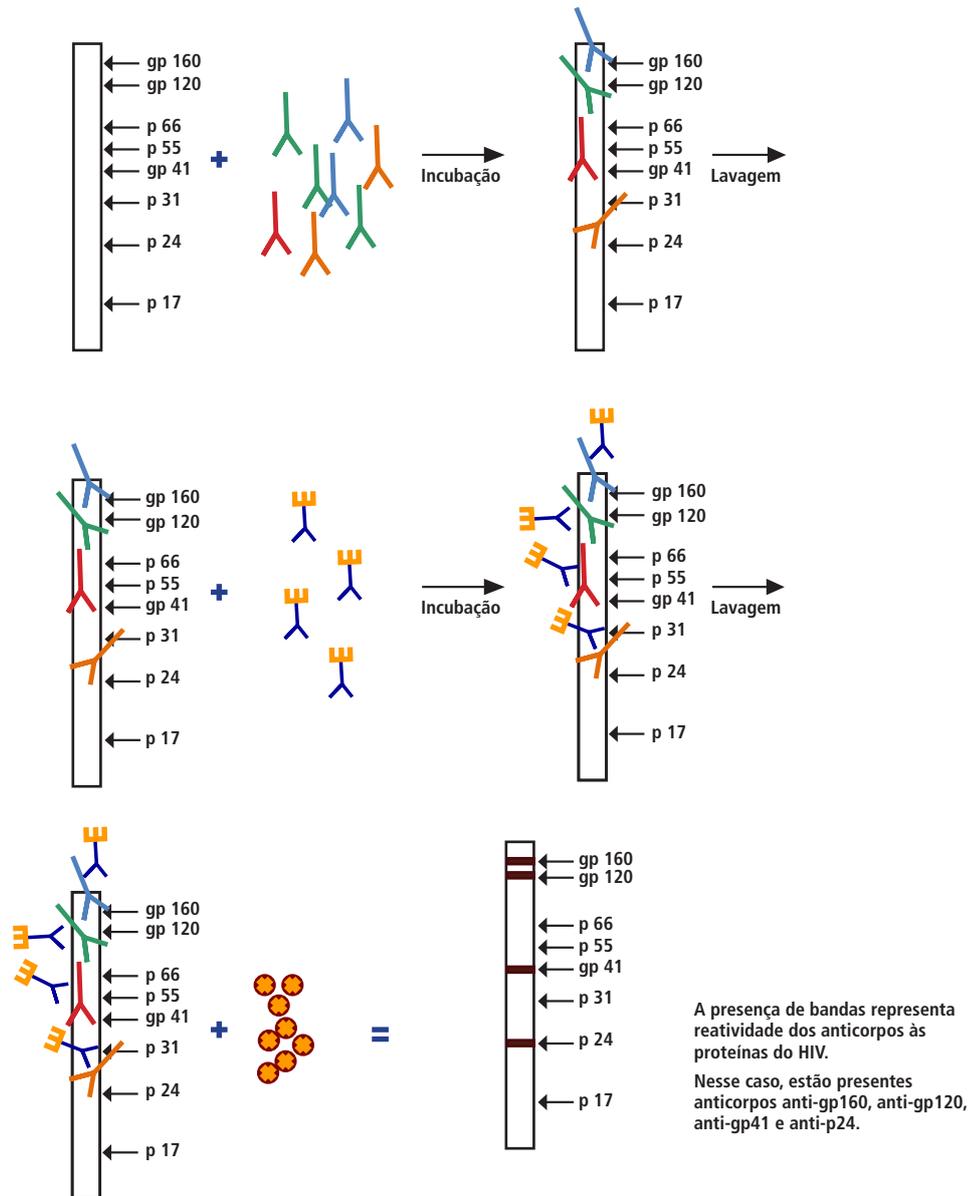
Os testes complementares utilizam diferentes formatos e princípios. Estão incluídos nessa categoria: western blot (WB), imunoblot (IB) ou imunoenaios em linha (LIA, do inglês *line immunoassay*), incluindo o imunoblot rápido (IBR) e imunofluorescência indireta (IFI). Mais recentemente, os testes moleculares (TM) também foram incluídos como testes complementares, uma vez que auxiliam no esclarecimento dos resultados da infecção aguda pelo HIV, como nos casos de reatividade no teste de 4ª geração por detecção do antígeno (p24) e ausência anticorpos circulantes.

A IFI foi muito utilizada como teste complementar durante a primeira década da epidemia de HIV, mas atualmente foi substituída pelo WB e IB. O WB e o IB empregam proteínas nativas do HIV separadas por eletroforese (WB) e transferidas para uma membrana ou proteínas recombinantes ou peptídeos sintéticos impregnados diretamente em membranas (IB). Estas são incubadas com amostras de soro ou plasma. Os anticorpos presentes na amostra se ligam especificamente às proteínas imobilizadas nas membranas de WB ou IB e esses anticorpos anti-HIV específicos ligados às proteínas são detectados por anticorpos secundários, conjugados com uma enzima, seguido por um substrato que gera um produto colorido que precipita onde o complexo imune está localizado. A Figura 12 ilustra a reação de WB. O WB e o IB têm custo elevado e requerem interpretação subjetiva para estabelecer o diagnóstico com base em um padrão de reatividade definido pelo fabricante do conjunto diagnóstico. As proteínas relevantes na interpretação do WB e IB para o diagnóstico da infecção pelo HIV-1 podem, portanto, ser diferentes, dependendo do fabricante.

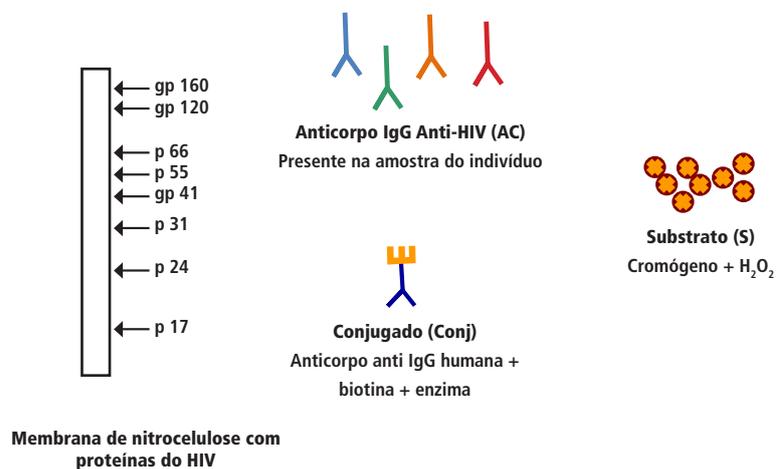
O IBR é semelhante ao IB, porém utiliza a metodologia DPP (plataforma de duplo percurso). Na fase sólida, estão presentes os antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos do HIV-1, incluindo o grupo O, e também a proteína do HIV-2 imobilizados sobre uma membrana. Ao contrário do WB e IB, o IBR permite a detecção de anticorpos em menos de 30 minutos.

A maioria desses ensaios detectam apenas IgG e por isso não são recomendados para confirmar a presença de anticorpos IgM HIV específicos (ensaios de terceira ou quarta geração) ou a presença do antígeno p24 (ensaios de quarta geração). Nesse caso, recomenda-se utilizar um TM para complementar o diagnóstico do HIV.

Figura 12 – Reação de western blot



Legenda



4.4 Diagnóstico por detecção direta do HIV

A infecção pelo HIV pode ser diagnosticada por meio da detecção direta de componentes do vírus, como o antígeno p24 ou com testes moleculares (TM) que detectam RNA ou DNA pró-viral. A detecção do antígeno p24 do HIV-1, de RNA ou DNA desempenha um papel importante quando a detecção de anticorpos não é possível. São especialmente úteis para o diagnóstico em crianças com idade inferior a 18 meses e na infecção aguda em adultos.

É importante ressaltar que a maioria das pessoas com infecção aguda apresenta carga viral elevada e, conseqüentemente, maior risco de transmitir a infecção aos seus parceiros.

Outra aplicação importante para os TM é o diagnóstico precoce da infecção pelo HIV em crianças com exposição perinatal. Crianças nascidas de mães soropositivas adquirem anticorpos anti-HIV passivamente e, dessa forma, ensaios baseados em anticorpos não podem ser utilizados para confirmar ou descartar a infecção pelo HIV em crianças com idade inferior a 18 meses de idade (ver item 9).

4.5 Diagnóstico utilizando amostras de sangue seco em papel-filtro

As amostras de sangue seco em papel-filtro (DBS; do inglês, *dried blood spots*) oferecem mais uma alternativa para a obtenção e transporte de amostras para o diagnóstico da infecção pelo HIV em locais onde a coleta por punção digital, venosa ou a cadeia de frio para conservação e transporte de amostras não estiver disponível. Para a realização do diagnóstico da infecção pelo HIV utilizando amostras de sangue seco em papel-filtro, é importante ressaltar que:

- A coleta de amostras de sangue total para o diagnóstico da infecção pelo HIV deve ser realizada em cartão de papel-filtro desenvolvido para essa finalidade e que apresente um registro válido na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa).
- As amostras de sangue total coletadas em papel-filtro devem ser testadas apenas com conjuntos diagnósticos desenvolvidos ou validados pelo fabricante para esse tipo de amostra e com registro válido na Anvisa.
- O processamento, armazenamento e transporte das amostras devem ser realizados conforme as instruções técnicas do(s) fabricante(s) contidas no(s) conjunto(s) diagnóstico(s).

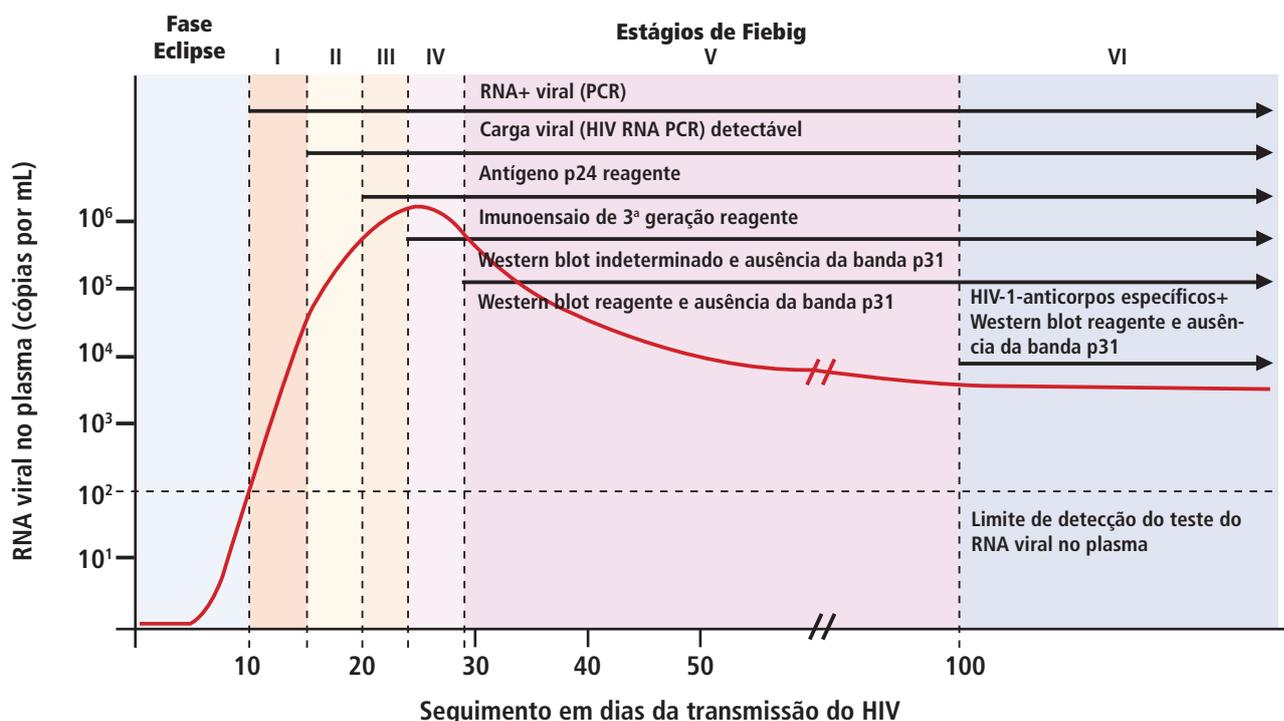
Independentemente de a amostra ter sido colhida em DBS, o diagnóstico da infecção pelo HIV somente será realizado por meio da completa execução de um dos fluxogramas definidos neste manual para testagem em laboratório.

5 SISTEMA DE ESTAGIAMENTO LABORATORIAL DA INFECÇÃO RECENTE PELO HIV – CLASSIFICAÇÃO DE FIEBIG

5.1 Estágios da infecção recente

Uma compreensão detalhada do tempo de curso da viremia e da soroconversão durante a infecção primária pelo HIV é pré-requisito importante para entender e aperfeiçoar fluxogramas diagnósticos. Nesse sentido, Fiebig et al. (2003) propuseram um sistema de estagiamento laboratorial da infecção recente pelo HIV-1 que inclui também projeções da duração de cada estágio, com base no padrão de reatividade de diferentes ensaios – RNA viral, antígeno p24, imunoensaio (IE) de terceira geração e western blot (WB) (Figura 13).

Figura 13 – Estágios da infecção recente pelo HIV-1 definidos com base no padrão de reatividade de diferentes ensaios laboratoriais



Fonte: Modificado de McMichael et al., 2010.

Uma primeira observação importante é a de que a reatividade dos diferentes tipos de ensaios para a detecção da infecção pelo HIV progride sequencialmente e permite que a cada aparecimento de um marcador na circulação seja atribuído um estágio à infecção. Assim, cada um dos seis estágios é definido por um padrão único de reatividade a um ou mais ensaios.

Esse sistema classifica em detalhes as fases iniciais da infecção e facilita o entendimento de qual teste ou fluxograma é mais indicado para fazer o diagnóstico da infecção pelo HIV em diferentes situações. Segue a descrição de cada um desses estágios (Tabela 4):

Tabela 4 – Classificação de Fiebig para estagiamento laboratorial da infecção recente pelo HIV

Estágio	Marcador				IC 95%	
	RNA	p24 Ag	IE (3 ^o G)	WB	Individual (dias)	Cumulativo (dias)
0	-	-	-	-	10 (7-21)	10
I	+	-	-	-	7 (5-10)	17
II	+	+	-	-	5 (4-8)	22
III	+	+	+	-	3 (2-5)	25
IV	+	+/-	+	Ind	6 (4-8)	31
V	+	+/-	+	+(-p31)	70 (40-122)	101
VI	+	+/-	+	+(+p31)	Sem limite de duração	Sem limite de duração

Fonte: Adaptado de Fiebig et al., 2003; Cohen et al., 2010.

- Estágio 0 (ou período de eclipse): é caracterizado pela ausência de marcadores virais em amostras de sangue. Esse período tem uma duração média de dez dias, a partir da infecção até a primeira detecção de RNA viral;
- Estágio I: o RNA viral é consistentemente detectável em amostras de sangue e nenhum outro ensaio laboratorial é reagente. A duração média desse estágio é de sete dias;
- Estágio II: os testes para RNA viral e antígeno p24 são reagentes, mas os anticorpos estão ausentes (resultado não reagente) no IE. A duração média desse estágio é de cinco dias;
- Estágio III: RNA, antígeno p24 e IE de terceira geração (sensíveis à detecção de IgM anti-HIV) são reagentes, mas o WB não mostra bandas específicas do HIV-1. Esse estágio é o mais curto e tem duração média de 3 dias;
- Estágio IV: apresenta perfil de reatividade idêntico ao do estágio III, mas com padrão indeterminado no WB, ou seja, observa-se a presença de bandas específicas de HIV-1, mas que não preenchem os critérios de interpretação de WB reagente, que é definido pela presença de duas das três bandas seguintes: p24, gp41 ou gp120/160. A duração média é de seis dias;
- Estágio V: apresenta perfil de reatividade idêntico ao do estágio IV, mas com padrão reagente de WB, exceto pela ausência de reatividade da proteína p31 (*pol*). Esse estágio é mais longo e o tempo médio até o aparecimento da p31 é de 70 dias;
- Estágio VI: apresenta perfil de reatividade idêntico ao do estágio V, mas com o padrão de reatividade do WB completo, incluindo a banda p31. A duração desse estágio não é definida; no entanto, ele pode ser subdividido em dois períodos de infecção: recente e crônica. Essa subdivisão é baseada em testes laboratoriais que exploram certas características dos anticorpos anti-HIV, como quantidade (concentração), avidéz e proporção. Dependendo do teste utilizado, a infecção recente tem duração de 120 a 180 dias após a infecção.

Os testes de quarta geração e os testes rápidos (TR) não foram incluídos na classificação de Fiebig et al. (2003), mas estudos posteriores demonstraram que os testes de quarta geração podem detectar amostras do estágio II ou III, dependendo do fabricante do teste. Da mesma forma, os TR de terceira geração podem detectar amostras no estágio III ou IV, dependendo do fabricante do TR.

Para os TR que utilizam fluido oral, não é possível determinar em que estágio da classificação de Fiebig et al. (2003) eles se encaixam, pois não existem dados suficientes para definir o estagiamento da infecção com esse tipo de amostra.

5.2 Limitações do modelo de Fiebig

Esse modelo fornece estimativas para períodos de janelas diagnósticas tendo como referência testes habitualmente utilizados no diagnóstico do HIV-1. Esse sistema de estagiamento tem aplicação direta para fins de diagnóstico, especialmente na construção de fluxogramas para o diagnóstico da infecção pelo HIV nas fases aguda, recente e crônica; porém, apresenta limitações.

A primeira limitação, inerente à proposta de estagiamento laboratorial da infecção pelo HIV, é a dependência da atribuição de um determinado estágio à sensibilidade do ensaio. Como a sensibilidade de qualquer categoria de ensaio depende do fabricante, é possível que os resultados de determinados ensaios classifiquem a infecção em estágios diferentes. A segunda limitação é a curta duração dos estágios I a IV, o que restringe o uso dos testes, tendo em vista que os pacientes geralmente se apresentam para o diagnóstico após a soroconversão. A terceira é que, embora raras, existem pessoas nas quais a soroconversão tem curso prolongado, que pode durar entre três e seis meses. A quarta limitação é que os dados desse modelo foram derivados de doadores de plasma que continuaram a se apresentar para a doação, e conseqüentemente podem representar um grupo de indivíduos infectados sem sintomas agudos ou com sintomas mais brandos. Portanto, pacientes que apresentam sintomatologia mais pronunciada da síndrome retroviral podem ter níveis mais elevados de viremia e diferente ritmo de progressão da soroconversão, em comparação com os doadores de plasma.

Finalmente, uma limitação dessa classificação deve-se à utilização, no estudo, de ensaios sorológicos desenvolvidos unicamente com proteínas do subtipo B do HIV-1. Devido às variações de sequências entre os diferentes subtipos do HIV-1, é possível que o reconhecimento de proteínas do subtipo B por anticorpos de indivíduos infectados por outro subtipo resulte em um estagiamento diferente.

Com essas ressalvas, o sistema de estagiamento laboratorial proposto fornece um quadro de referência para saber quanto tempo esperar até que os marcadores virais tornem-se reagentes durante a infecção recente pelo HIV.

6 FALHAS E ERROS NO DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO HIV

O diagnóstico da infecção pelo HIV é suscetível a falhas e erros. Além do período de janela diagnóstica, anteriormente discutido neste manual, existem outras causas de falhas que podem excepcionalmente ocorrer quando se realiza o diagnóstico da infecção pelo HIV. A primeira é a ocorrência de infecções causadas por cepas virais com variações genéticas que não são detectadas pelos conjuntos diagnósticos utilizados. Citam-se, como exemplo, as modificações feitas ao longo dos anos em testes sorológicos para incluir antígenos do HIV-2 e do HIV-1 pertencentes ao grupo O (HIV-1 grupo “O”), que anteriormente não eram detectados pelos testes disponíveis no mercado. O pronto reconhecimento dessas cepas pela comunidade científica e a rápida resposta dos fabricantes no desenvolvimento de novos testes mais sensíveis e específicos são decisivos nesses momentos.

A segunda causa é a existência de indivíduos “**imunossilenciosos**”^G (do inglês, *immunosilents*) que possuem níveis baixos ou mesmo ausência de anticorpos específicos e, dessa forma, não são detectados nos testes sorológicos. Excetuando-se indivíduos com outras causas de imunodeficiência, a ocorrência desses casos é muito rara, tornando esse tipo de falha desprezível no contexto de saúde coletiva. Outra exceção são os indivíduos que cursam a infecção sem viremia, ou com viremia muito baixa, denominados de controladores de elite (do inglês, *elite controllers*) e, devido a isso, podem não ser detectados pelos testes moleculares. Estes, no entanto, possuem resposta imune humoral intacta e não oferecem risco de não serem detectados quando submetidos a testes sorológicos.

Já as causas dos erros que ocorrem durante o processo de execução dos testes laboratoriais são de origem humana ou operacional. Estima-se que aproximadamente 60%-70% dos erros laboratoriais ocorram na fase pré-analítica. Assim sendo, a adoção de boas práticas laboratoriais contribui para minimizar tais erros, melhorando a qualidade da amostra a ser testada. Entre os erros, podemos incluir a falta de calibração ou de manutenção dos equipamentos, a troca de amostras e a utilização de volumes (de amostra ou de reagentes) distintos do preconizados pelo fabricante do conjunto diagnóstico. No ato da coleta, a utilização de etiquetas com código de barras para a identificação das amostras, o uso dos tubos primários na testagem, a automação dos testes, a adoção de um programa de qualidade e/ou de boas práticas de laboratório, assim como a participação sistemática em programas de Avaliação Externa da Qualidade (AEQ), são fatores importantes na redução do erro no processo de testagem.

6.1 Falhas na execução dos testes rápidos (TR)

Em alguns casos, devido às limitações de cada ensaio, e assim como todos os testes para diagnóstico, os TR podem apresentar resultados “falso-reagentes”. Por isso, é importante o paciente se submeter a um segundo teste complementar. Especialistas de laboratório identificaram alguns fatores que interferem no resultado do TR. São eles:

- Vacina recente contra influenza A-H1N1;
- Artrite reumatoide;
- Colangite esclerosante primária;
- Terapia com interferon em pacientes hemodialisados;
- Síndrome de Stevens-Johnson;
- Anticorpo antimicrosomal;
- Anticorpos HLA (classe I e II);
- Infecção viral aguda;

- Aquisição passiva de anticorpos anti-HIV (de mãe para filho);
- Tumores malignos;
- Outras retrovirose;
- Múltiplas transfusões de sangue;
- Anticorpo anti-antimúsculo liso.

(Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pagina/fatores-que-causam-resultados-falso-positivos>>).

Por outro lado, os TR podem apresentar resultados “falso-não reagentes” em algumas situações, como, por exemplo, durante uso de terapia antirretroviral, não sendo, portanto, indicado o uso de TR em pessoas em uso de TARV.

Outras causas de falhas podem estar relacionadas diretamente ao profissional que executa o teste ou mesmo ao local em que o teste é executado. As principais causas de falhas na execução dos TR incluem:

- Erro de transcrição da identificação do paciente ou resultados;
- Troca de amostras;
- Erro na execução do procedimento do teste;
- Utilização do volume incorreto de tampão ou amostra;
- Leitura do resultado do teste no momento incorreto;
- Interpretação incorreta do resultado;
- Erro de interpretação do resultado quando aparecem bandas fracamente reagentes;
- Erro no uso e interpretação do fluxograma de testagem;
- Uso de dispositivos de TR danificados ou fora do prazo de validade;
- Uso do tampão/reagente de outro conjunto diagnóstico de testagem rápida;
- Conservação inadequada dos dispositivos de testes.

Portanto, para a obtenção de um resultado confiável, é imprescindível que as instruções do fabricante sejam rigorosamente seguidas. Adicionalmente, recomenda-se:

1. Abrir a embalagem do dispositivo de teste somente no momento da execução do teste;
2. Não realizar vários TR de diferentes indivíduos ao mesmo tempo;
3. Cronometrar o tempo de corrida e de leitura do teste e não ultrapassar o tempo de leitura estipulado pelo fabricante;
4. Usar o capilar ou pipeta específica para cada um dos testes. Essas pipetas ou capilares recolhem volumes diferentes de amostra e não devem ser misturadas. Realizar o teste com o capilar ou a pipeta incorreta pode gerar resultados falso-reagentes ou falso-não reagentes.
5. Não bater o capilar ou pipeta de coleta na membrana do dispositivo de teste, o que pode causar danos na membrana e provocar um falso resultado. Dispensar apenas o volume determinado pelo fabricante, conforme consta na instrução do produto;
6. Dispensar o volume de amostra e tampão especificados pelo fabricante nas instruções de uso;
7. Em caso de resultado reagente no teste rápido inicial (TR1), há necessidade de executar um segundo teste rápido (TR2) antes da liberação do laudo, conforme Fluxograma 1 ou 2.

8. Os responsáveis pela padronização do manuseio, armazenamento e realização dos TR são os fabricantes de cada conjunto diagnóstico e as instruções de uso de cada teste rápido devem sempre ser rigorosamente seguidas. O Telelab fornece, gratuitamente, cursos sobre todos os TR fornecidos pelo DDAHV (<<http://www.telelab.aids.gov.br/>>);

7 TECNOVIGILÂNCIA

A Tecnovigilância, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), do Ministério da Saúde (MS), tem por objetivo monitorar a segurança sanitária e o desempenho de produtos para saúde pós-comercialização (equipamentos, materiais, artigos médico-hospitalares, implantes e produtos para diagnóstico de uso *in vitro*). Consiste em um sistema de vigilância de eventos adversos (EA) e queixas técnicas (QT) de produtos para a saúde na fase de pós-comercialização, e recomenda a adoção de medidas que garantam a proteção e a promoção da saúde da população. Considera-se EA aquele evento que causou dano à saúde de um usuário. Se, até o momento da notificação, o problema observado no produto ainda não tiver causado nenhum dano à saúde, este deverá ser notificado como QT.

O objetivo principal da Tecnovigilância é identificar eventos e desvios da qualidade que produzem ou potencialmente podem produzir resultados inesperados ou indesejáveis, que afetam a segurança do paciente. Outro objetivo importante é a coordenação nacional dessas atividades. As diversas competências dessa área da Anvisa/MS estão descritas pela Portaria nº 593, de 25 de agosto de 2000, atualizada pela Portaria nº 406, de 14 de outubro de 2005.

Os EA e as QT de produtos para a saúde, na fase de pós-comercialização, podem ser notificados à Tecnovigilância/Anvisa/MS pelo Sistema de Notificações em Vigilância Sanitária (Notivisa). Trata-se de um sistema informatizado na plataforma web, previsto pela Portaria nº 1.660, de 22 de julho de 2009, do Ministério da Saúde.

Podem utilizar o Notivisa os profissionais de serviços de saúde, Anvisa, Vigilâncias Sanitárias Estaduais e Municipais, Secretarias Estaduais e Municipais de Saúde, Laboratórios de Saúde Pública, Universidades/Centros de Pesquisa, além dos profissionais que atuam em drogarias e farmácias e em empresas detentoras de registro de produtos sob vigilância sanitária (fabricantes, importadores e distribuidores) e os profissionais de saúde liberais. Para acessar o sistema, é preciso se cadastrar de acordo com a categoria do notificante. Por exemplo, o profissional liberal deve se cadastrar como profissional de saúde, mas se for um profissional vinculado a alguma instituição/empresa, deve ser providenciado o cadastro institucional. Os cidadãos poderão notificar EA e QT por meio dos formulários próprios de notificação.

O sistema tecnovigilância da Anvisa está disponível em:

<<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Pos+-+Comercializacao+-+Pos+-+Uso/Tecnovigilancia>> e a notificação avulsa em: <<http://www.anvisa.gov.br/hotsite/notivisa/index.htm>>.

8 FLUXOGRAMAS DE TESTAGEM PARA HIV

Desde o início da epidemia do HIV, o diagnóstico sorológico da infecção é realizado com pelo menos dois testes, um para triagem e um segundo, mais específico, para confirmar o resultado da triagem. A combinação mais utilizada, habitualmente denominada de **padrão-ouro**⁶, era realizada por meio de um imunoenensaio (IE) de triagem seguido pelo western blot (WB), como teste complementar.

Dois ou mais testes combinados, formando um fluxograma, têm o objetivo de aumentar o **valor preditivo positivo (VPP)**⁶ de um resultado reagente no **teste inicial**⁶. Na maioria das situações, o fluxograma mais comumente utilizado inclui o emprego de testes em série ou sequenciais (fluxograma em série).

O resultado não reagente é liberado com base em um único teste. Entretanto, caso persista a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta da primeira amostra.

O resultado reagente sempre é confirmado com um segundo teste diferente do primeiro. Com base na especificidade dos testes de triagem, dois resultados reagentes são utilizados para o diagnóstico da infecção. É importante ressaltar que **todos os indivíduos recém-diagnosticados devem realizar o exame de carga viral** que, na realidade, compõe um terceiro teste e cujo resultado ratifica a presença da infecção.

O fluxograma em série é lógico e custo-efetivo. O primeiro teste deve ser sempre o mais sensível, seguido por um segundo teste mais específico, a fim de eliminar resultados falso-reagentes. Caso os resultados entre os dois testes sejam discordantes, o fluxograma deve ser repetido e, permanecendo a discordância, a pessoa deve ser testada em uma data posterior - para confirmar ou descartar a soroconversão. Finalmente, é importante selecionar a correta combinação de testes para garantir o diagnóstico preciso.

O constante aperfeiçoamento dos ensaios de laboratório e a consequente elevação da sensibilidade dos testes de triagem fez com que os testes complementares que detectam anticorpos (WB, IB, IBR) não sejam mais adequados para confirmar a infecção em um indivíduo com infecção recente pelo HIV. Ainda cabe destacar o surgimento de ensaios que permitem a utilização de outros fluidos corporais, como, por exemplo, o fluido oral, e que oferecem importante alternativa para a ampliação do diagnóstico da infecção pelo HIV.

Por outro lado, ao definirmos o fluxograma como “um método para resolver um problema utilizando um número definido de etapas”, fica claro que mais de um fluxograma será necessário para cobrir todas as necessidades de triagem e confirmação da infecção pelo HIV nas diferentes configurações de testes e perfis de pacientes que esse diagnóstico requer. Apresentamos a seguir seis fluxogramas de testagem para HIV, considerando diversas situações nas quais se faz necessária a realização do diagnóstico da infecção, e fornecemos explicações para fundamentá-los.

Os Fluxogramas 1, 2 e 3 são os preferenciais por combinarem os testes que permitem agilizar o diagnóstico da infecção, sendo também os que apresentam resolutividade e, por esses motivos, o DDAHV os indica como sendo os de primeira escolha nas situações para as quais estão recomendadas sua aplicação.

8.1 Estratégias para o diagnóstico da infecção pelo HIV empregando testes rápidos

Em termos gerais, o teste rápido (TR) refere-se ao teste de HIV realizado em local que permite fornecer o resultado durante o período da visita do indivíduo (consulta médica, atendimento em Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA), atendimento em domicílio, atendimento em Unidade de Testagem Móvel (UTM), organização não governamental, etc.); uma vez diagnosticado como portador da infecção pelo HIV, este deve ser encaminhado prontamente para atendimento em uma Unidade Básica de Saúde (UBS) do Sistema Único de Saúde (SUS) ou para um Serviço de Assistência Especializada (SAE).

É importante ressaltar que a sensibilidade de um determinado fluxograma para o diagnóstico da infecção pelo HIV é igual à sensibilidade do primeiro ensaio utilizado, ou seja, o primeiro teste a ser executado deve obrigatoriamente ter a sensibilidade mínima de 99,5%, conforme apresentado na Tabela 2. O emprego de fluxogramas com TR amplia o acesso ao diagnóstico e permite a antecipação do início do tratamento, preservando, dessa forma, o sistema imunológico do indivíduo infectado e reduzindo a transmissão, em concordância com a estratégia de tratamento como prevenção (TasP, do inglês, *treatment as prevention*), adotada como política nacional para o enfrentamento da epidemia pelo Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais (DDAHV).

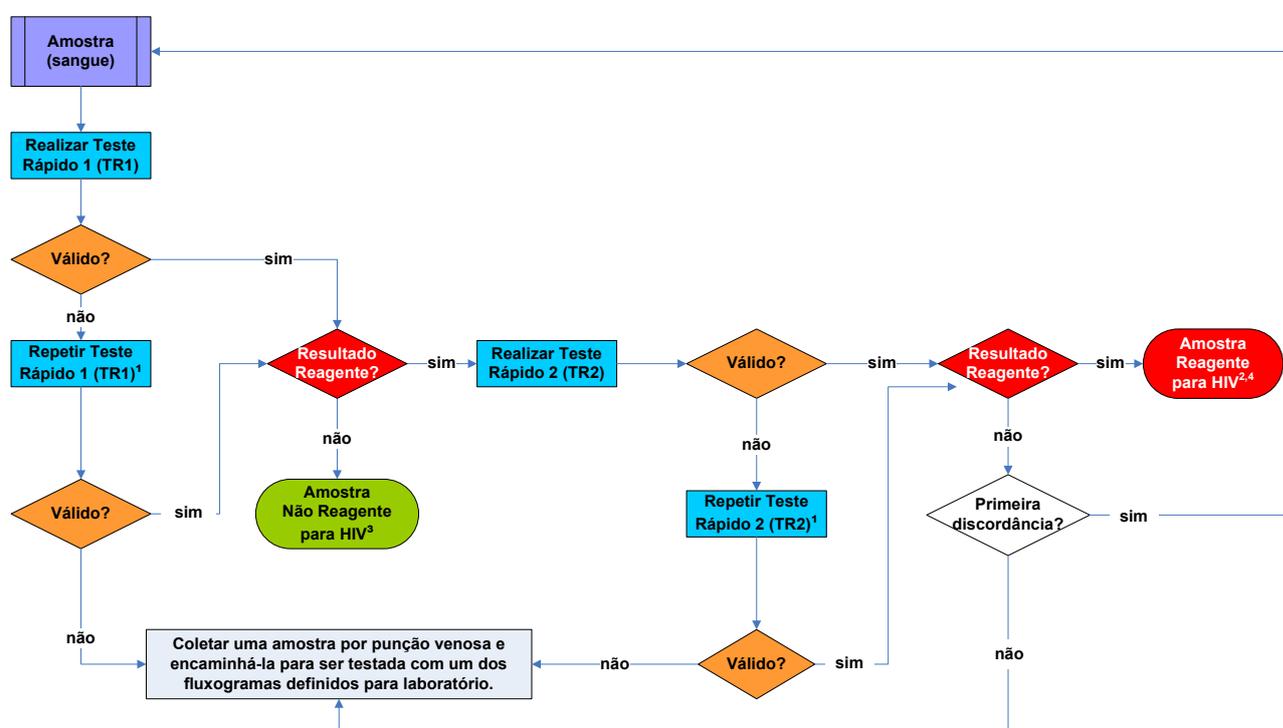
Os dois fluxogramas a seguir deverão utilizar testes capazes de detectar anticorpos anti-HIV-1, incluindo o grupo O, e anticorpos anti-HIV-2.

Fluxograma 1

Dois testes rápidos (TR1 e TR2) realizados em sequência com amostras de sangue total

O Fluxograma 1 (Figura 14) emprega dois testes rápidos (TR1 e TR2) diferentes, usados sequencialmente, com amostras de sangue, as quais podem ser obtidas por punção da polpa digital ou por punção venosa. **O sangue total obtido por punção digital deve ser preferencialmente utilizado** porque permite a testagem na presença do indivíduo, eliminando a possibilidade de troca de amostra. Esse fluxograma é indicado para as situações definidas no item 4.2.1 - **Situações e locais nas quais o DDAHV recomenda a utilização de TR.**

Figura 14 – Fluxograma 1: Dois testes rápidos de fabricantes diferentes (TR1 e TR2) usados sequencialmente



¹ Utilizar um conjunto diagnóstico do mesmo fabricante, preferencialmente de lote de fabricação diferente.

² Encaminhar o paciente para realizar o teste de Quantificação de Carga Viral (RNA HIV-1) e contagem de linfócitos T CD4+.

³ Em caso de suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.

⁴ Amostras com resultados reagentes para HIV-2 nos conjuntos diagnósticos que discriminam a reatividade para HIV-1 e/ou reatividade para HIV-2 em duas linhas distintas de teste só terão seu diagnóstico de infecção por HIV-2 concluído após seguidas as instruções descritas no item 10.2 deste Manual.

Legenda: Processo predefinido. Processo. Exige uma tomada de decisão. Finalizador.

Fonte: DDAHV/SVS/MS.

Este fluxograma não define o diagnóstico de infecção por HIV-2. Para a confirmação de um caso suspeito, siga o estabelecido no item 10.2 deste manual.

A pessoa que apresentar resultados reagentes em dois testes será encaminhada para consulta médica, na qual deverá ser solicitado o teste para quantificação de carga viral (HIV-1 RNA) e contagem de linfócitos T CD4+.

O Fluxograma 1 não é adequado para o diagnóstico da infecção pelo HIV em crianças com idade inferior ou igual a 18 meses, devido à transferência de anticorpos maternos anti-HIV pela placenta.

Fundamentação

No Fluxograma 1, dois TR são utilizados sequencialmente, ambos com amostras de sangue com o objetivo de melhorar o Valor Preditivo Positivo (VPP). É importante que o primeiro TR (TR1) tenha sensibilidade equivalente ou superior ao segundo teste (TR2). O objetivo dessa estratégia é diferenciar os indivíduos que estão infectados (ambos TR1 e TR2 reagentes) daqueles que provavelmente tiveram um resultado falso-reagente no teste de triagem (TR1).

Procedimento

Os TR devem detectar anticorpos anti-HIV-1, incluindo o grupo O, e anticorpos anti-HIV-2. Adicionalmente, TR1 e TR2 devem obrigatoriamente ser baseados em diferentes princípios metodológicos, ou empregar diferentes antígenos, ou serem produzidos por fabricantes diferentes.

A coleta da amostra pode ser realizada por punção da polpa digital ou punção venosa. A maioria dos TR também permite a utilização de soro ou plasma como amostra para a realização do teste. Leia atentamente as instruções de uso que acompanham o conjunto diagnóstico antes de selecionar a amostra a ser testada.

Um TR só pode ter seu resultado interpretado se for considerado um teste válido. Para o teste ser considerado válido, é necessária a presença visual de uma linha ou ponto na região controle (C) do teste. Caso o resultado do TR1 ou do TR2 seja inválido, deve-se repetir o teste com o mesmo conjunto diagnóstico, se possível com um lote distinto do que foi utilizado inicialmente. Persistindo o resultado inválido, uma amostra deverá ser coletada por punção venosa e encaminhada para ser testada com um dos fluxogramas definidos para laboratório.

A amostra com resultado não reagente no TR1 será definida como: **“Amostra Não Reagente para HIV”**. O laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **“Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra”**.

A amostra com resultado reagente no TR1 deverá ser submetida ao TR2. A amostra com resultados reagentes no TR1 e no TR2 terá seu resultado definido como: **“Amostra Reagente para HIV”**. O laudo deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado definido com o Fluxograma 1, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**. Recomenda-se, ainda, que seja incluída no laudo a indicação da realização imediata da carga viral (CV).

As amostras com resultados reagentes no TR1 e no TR2, obtidos em testes realizados presencialmente, não necessitam de coleta de uma nova amostra para comprovação do diagnóstico. Na eventualidade de se realizar o teste rápido utilizando amostras obtidas por punção venosa, o laudo deve conter a seguinte observação: **“Para confirmação do diagnóstico da infecção pelo HIV, uma segunda amostra deverá ser coletada e submetida ao primeiro teste do fluxograma utilizado com a primeira amostra, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**.

Amostras com resultados reagentes para HIV-2 nos conjuntos diagnósticos que discriminam a reatividade para HIV-1 e/ou reatividade para HIV-2 em duas linhas distintas de teste só terão seu diagnóstico de infecção por HIV-2 concluído após seguidas as instruções descritas no item 10.2 deste manual.

A amostra com resultados discordantes entre TR1 e TR2 não terá seu resultado definido. Nesse caso, deve-se repetir o fluxograma; persistindo a discordância dos resultados, uma amostra deverá ser coletada por punção venosa e encaminhada para ser testada com um dos fluxogramas definidos para laboratório.

Desdobramentos do Fluxograma 1

O Fluxograma 1, com a utilização de dois TR, permite um rápido diagnóstico e imediata solicitação do teste de quantificação da carga viral do HIV-1, que complementa o diagnóstico, e da contagem de linfócitos T CD4+. Essa solicitação pode ser feita pelo médico, enfermeiro ou outros profissionais de saúde que tenham essa atribuição, possibilitando dar maior agilidade ao atendimento clínico. A CV, quando igual ou superior a 5.000 cópias/mL (Hecht et al. 2002), confirma a infecção pelo HIV. Na eventualidade de a CV ser inferior a 5.000 cópias/mL, deve-se considerar a ocorrência de um duplo resultado falso-reagente (TR1 e TR2) e a não infecção da pessoa pelo HIV. Nessa situação, recomenda-se a realização de um ensaio sorológico complementar, como o western blot (WB), imunoblot (IB) ou imunoblot rápido (IBR) para esclarecer se se trata, de fato, de um resultado falso-reagente ou de um indivíduo controlador de elite.

Em função da alta sensibilidade dos testes rápidos, todos os indivíduos recém-diagnosticados devem realizar imediatamente o exame de carga viral, cujo resultado ratifica a presença da infecção.

Laudos

Além das informações citadas anteriormente, os laudos devem conter os resultados de todos os testes realizados, e estes deverão estar de acordo com o disposto na Resolução RDC nº 302/Anvisa, de 13 de outubro de 2005, suas alterações, ou outro instrumento legal que venha a substituí-la.

Os conselhos profissionais regionais devem ser consultados, uma vez que são eles que habilitam os profissionais para assinatura do laudo.

A Tabela 5 resume as principais informações do Fluxograma 1.

Tabela 5 – Resumo do Fluxograma 1

ENSAIOS REALIZADOS		RESULTADO	OBSERVAÇÃO
TR1	TR2		
Não Reagente	-	Amostra Não Reagente para HIV	Em caso de suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.
Reagente	Reagente	Amostra Reagente para HIV	Resultado definido com o Fluxograma 1, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.
Reagente	Não Reagente	-	Repetir os dois testes rápidos. Permanecendo a discordância, uma amostra por punção venosa deverá ser coletada e submetida a um dos fluxogramas de laboratório.

Obs 1: em caso de resultado inválido, o teste deverá ser repetido com o mesmo conjunto diagnóstico, se possível com um lote distinto do que foi utilizado inicialmente.

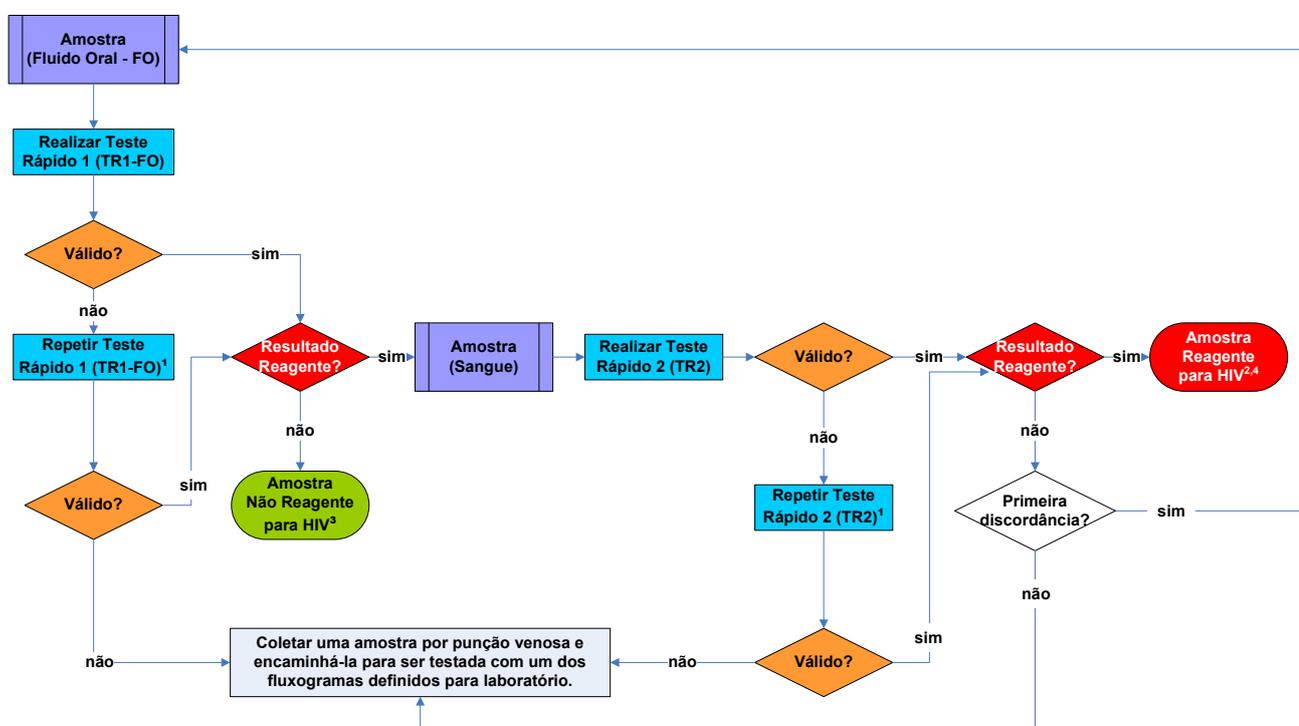
Obs 2: recomenda-se que no laudo seja incluída uma observação indicando a necessidade da imediata realização do exame de carga viral.

Fluxograma 2

Um teste rápido utilizando fluido oral (TR1-FO) seguido por um teste rápido utilizando sangue (TR2)

O Fluxograma 2 (Figura 15) emprega dois testes rápidos (TR1-FO e TR2) diferentes, usados sequencialmente, sendo o primeiro teste (TR1-FO) realizado com amostra de fluido oral (FO) e o segundo com amostra de sangue, que pode ser obtida por punção da polpa digital ou por punção venosa. Esse fluxograma permite a testagem na presença do indivíduo, eliminando a possibilidade de troca de amostra. É indicado para uso fora de unidades de saúde, em campanhas de testagem e em ações que envolvem populações de alta vulnerabilidade, pois as amostras de FO oferecem baixo risco biológico.

Figura 15 – Fluxograma 2: TR1-FO e TR2 de fabricantes diferentes



¹ Utilizar um conjunto diagnóstico do mesmo fabricante, preferencialmente de lote de fabricação diferente.

² Encaminhar o paciente para realizar o teste de Quantificação de Carga Viral (RNA HIV-1) e contagem de linfócitos T CD4+.

³ Em caso de suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.

⁴ Amostras com resultados reagentes para HIV-2 nos conjuntos diagnósticos que discriminam a reatividade para HIV-1 e/ou reatividade para HIV-2 em duas linhas distintas de teste só terão seu diagnóstico de infecção por HIV-2 concluído após seguidas as instruções descritas no item 10.2 deste Manual.

Legenda: Processo predefinido. Processo. Exige uma tomada de decisão. Finalizador.

Fonte: DDAHV/SVS/MS.

Este fluxograma não define o diagnóstico de infecção por HIV-2. Para a confirmação de um caso suspeito, siga o estabelecido no item 10.2 deste manual.

A pessoa que apresentar resultados reagentes em dois testes será encaminhada para consulta médica, na qual deverá ser solicitado o teste para quantificação de carga viral (HIV-1 RNA) e contagem de linfócitos T CD4+.

O Fluxograma 2 não é adequado para o diagnóstico da infecção pelo HIV em crianças com idade inferior ou igual a 18 meses, devido à transferência de anticorpos maternos anti-HIV pela placenta.

Fundamentação

O Fluxograma 2 é uma variação do Fluxograma 1 que permite a utilização de uma amostra obtida de forma não invasiva, no qual o primeiro TR é realizado em amostra de FO e o segundo TR com uma amostra de sangue. Esse fluxograma foi idealizado para melhorar o valor preditivo positivo (VPP) do TR que utiliza uma amostra de FO. O objetivo dessa estratégia é diferenciar os indivíduos que estão infectados (ambos TR1-FO e TR2 reagentes) daqueles que provavelmente tiveram um resultado falso-reagente no teste de triagem (TR1-FO).

Procedimento

A conduta para a coleta da amostra de FO e execução do teste deve seguir rigorosamente as recomendações do fabricante do conjunto diagnóstico.

Os TR devem detectar anticorpos anti-HIV-1, incluindo o grupo O, e anticorpos anti-HIV-2. Adicionalmente, TR1-FO e TR2 devem obrigatoriamente ser baseados em diferentes princípios metodológicos, ou empregar diferentes antígenos, ou ser produzidos por fabricantes diferentes.

Um TR só pode ter seu resultado interpretado se for considerado um teste válido. Para o teste ser considerado válido, é necessária a presença visual de uma linha ou ponto na região controle (C) do teste. Caso o resultado do TR1-FO ou do TR2 seja inválido, deve-se repetir o teste com o mesmo conjunto diagnóstico, se possível com um lote distinto do que foi utilizado inicialmente. Persistindo o resultado inválido, uma amostra deverá ser coletada por punção venosa e encaminhada para ser testada com um dos fluxogramas definidos para laboratório.

A amostra com resultado não reagente no TR1-FO será definida como: **“Amostra Não Reagente para HIV”**. O laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **“Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta dessa amostra”**.

A amostra com resultado reagente no TR1-FO deverá ser submetida ao TR2. A amostra com resultados reagentes no TR1-FO e no TR2 terá seu resultado definido como: **“Amostra Reagente para HIV”**. O laudo deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado definido com o Fluxograma 2, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**. Recomenda-se, ainda, que seja incluída no laudo a indicação da realização imediata da carga viral (CV).

A amostra com resultados reagentes no TR1-FO e no TR2, com testes realizados presencialmente, não necessita de coleta de uma nova amostra para comprovação do diagnóstico.

Amostras com resultados reagentes para HIV-2 nos conjuntos diagnósticos que discriminam a reatividade para HIV-1 e/ou reatividade para HIV-2 em duas linhas distintas de teste só terão seu diagnóstico de infecção por HIV-2 concluído após seguidas as instruções definidas no item 10.2 deste manual.

A amostra com resultados discordantes entre TR1-FO e TR2 não terá seu resultado definido. Nesse caso, deve-se repetir o fluxograma; persistindo a discordância dos resultados, uma amostra deverá ser coletada por punção venosa e encaminhada para ser testada com um dos fluxogramas definidos para laboratório.

Desdobramentos do Fluxograma 2

O Fluxograma 2, com a utilização de dois TR, permite um rápido diagnóstico e imediata solicitação do teste de quantificação da carga viral do HIV-1, que complementa o diagnóstico, e da contagem de linfócitos T CD4+. Essa solicitação pode ser feita pelo médico, enfermeiro ou outros profissionais de saúde que tenham essa atribuição, possibilitando dar maior agilidade ao atendimento clínico. A CV igual ou superior a 5.000 cópias/mL (Hecht et al. 2002) confirma a infecção pelo HIV. Na eventualidade de a CV ser inferior a 5.000 cópias/mL, deve-se considerar a ocorrência de um duplo resultado falso-reagente (TR1-FO e TR2) e a não infecção da pessoa pelo HIV. Nessa situação, recomenda-se a realização de um ensaio sorológico complementar, como o western blot, imunoblot ou imunoblot rápido para esclarecer se se trata, de fato, de um resultado falso-reagente ou de um indivíduo controlador de elite.

Em função da alta sensibilidade dos testes rápidos, todos os indivíduos recém-diagnosticados devem realizar imediatamente o exame de carga viral, cujo resultado ratifica a presença da infecção.

Laudos

Além das informações citadas anteriormente, os laudos devem conter os resultados de todos os testes realizados, e estes deverão estar de acordo com o disposto na Resolução RDC nº 302/Anvisa, de 13 de outubro de 2005, suas alterações, ou outro instrumento legal que venha a substituí-la.

Os conselhos profissionais regionais devem ser consultados, uma vez que são eles que habilitam os profissionais para assinatura do laudo.

A Tabela 6 resume as principais informações do Fluxograma 2.

Tabela 6 – Resumo do Fluxograma 2

ENSAIOS REALIZADOS		RESULTADO	OBSERVAÇÃO
TR1-FO	TR2		
Não Reagente	-	Amostra Não Reagente para HIV	Em caso de suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta dessa amostra.
Reagente	Reagente	Amostra Reagente para HIV	Resultado definido com o Fluxograma 1, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.
Reagente	Não Reagente	-	Repetir os dois testes rápidos. Permanecendo a discordância, uma amostra por punção venosa deverá ser coletada e submetida a um dos fluxogramas de laboratório.

Obs 1: em caso de resultado inválido, o teste deverá ser repetido com o mesmo conjunto diagnóstico, se possível com um lote distinto do que foi utilizado inicialmente.

Obs 2: recomenda-se que no laudo seja incluída uma observação indicando a necessidade da imediata realização do exame de carga viral.

8.2 Estratégias para o diagnóstico da infecção pelo HIV em laboratórios

A testagem laboratorial é utilizada para triagem e confirmação de amostras, principalmente de soro ou plasma, assim como para a confirmação de amostras que apresentaram resultados discordantes nos Fluxogramas 1 e 2.

Os imunoenaios (IE) empregados estritamente em laboratório detectam qualquer classe de anticorpos anti-HIV, incluindo a IgM, melhorando a sensibilidade analítica. Como discutido no item 5 - **Sistema de estagiamento laboratorial da infecção recente pelo HIV: Classificação de Fiebig**, na fase inicial da infecção, esses IE apresentam maior sensibilidade do que os testes complementares do tipo western blot (WB), imunoblot (IB) e imunoblot rápido (IBR).

Além disso, os IE de quarta geração, que detectam simultaneamente antígeno e anticorpo, e os testes moleculares oferecem alternativas para a detecção cada vez mais precoce da infecção pelo HIV. Os fluxogramas propostos com testes utilizados em laboratório incorporaram essas considerações, e oferecem opções que podem ser selecionadas dependendo da capacidade do laboratório e do contexto clínico.

Os quatro fluxogramas a seguir deverão utilizar testes capazes de detectar anticorpos anti-HIV-1, incluindo o grupo O, e anticorpos anti-HIV-2.

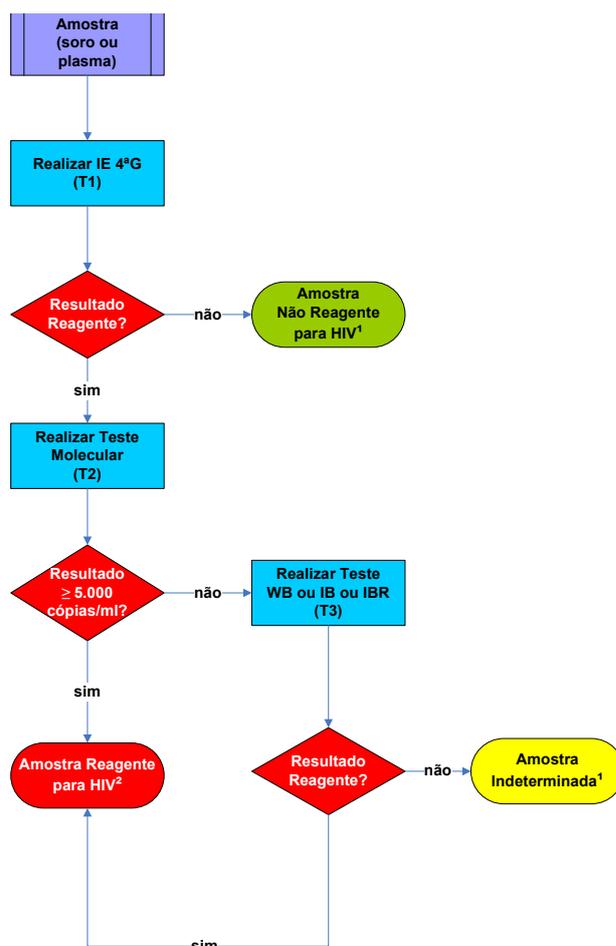
Fluxograma 3

Triagem com imunoenensaio de 4ª geração e teste molecular como teste complementar

O Fluxograma 3 emprega um imunoenensaio de 4ª geração (IE4ªG) como teste de triagem, e um teste molecular (TM) como teste complementar, para amostras reagentes na triagem (Figura 16). O imunoenensaio (IE) deve detectar anticorpos anti-HIV-1, incluindo o grupo O, e anticorpos anti-HIV-2, além de antígeno p24 do HIV-1. O IE de triagem, apesar de ser de 4ª geração, é menos sensível do que o TM. Portanto, amostras reagentes no teste de triagem e com número de cópias maior ou igual a 5.000 cópias/mL no TM representam infecção pelo HIV. No entanto, uma amostra reagente no IE de triagem, mas com número de cópias inferior a 5.000 cópias/mL no TM, pode indicar: (a) infecção pelo HIV-2; (b) reação falso-reagente do teste de triagem; ou (c) infecção em um indivíduo com TM abaixo do **limite de detecção**⁶. Essa última situação pode ocorrer em indivíduos denominados controladores de elite e também em pessoas em tratamento com antirretrovirais (ARV). A confirmação do diagnóstico desses indivíduos deve ser realizada com um teste sorológico complementar do tipo western blot (WB), imunoblot (IB) ou imunoblot rápido (IBR).

O Fluxograma 3 é o que permite o diagnóstico mais precoce da infecção pelo HIV.

Figura 16 - Fluxograma 3: Imunoenensaio de 4ª geração seguido de teste molecular



¹ Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.

² Coletar uma segunda amostra para repetir IE 4ªG para concluir o resultado.

Legenda: Processo predefinido. Processo. Exige uma tomada de decisão. Finalizador.

Procedimento

A amostra com resultado não reagente no IE4^aG será definida como: **“Amostra Não Reagente para HIV”**. O laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **“Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra”**.

A amostra com resultado reagente no IE4^aG deverá ser submetida ao TM. A amostra com resultado reagente no IE4^aG e com número de cópias igual ou superior a 5.000 cópias/mL no TM terá seu resultado definido como: **“Amostra Reagente para HIV”**.

O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Para confirmação do diagnóstico laboratorial, uma segunda amostra deverá ser coletada e submetida ao primeiro teste do Fluxograma 3, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**. Essa segunda amostra deverá ser colhida o mais rapidamente possível e testada preferencialmente no mesmo local em que se realizaram os testes com a primeira amostra.

É responsabilidade do profissional de saúde que atender essa pessoa solicitar e identificar o pedido do exame como segunda amostra, e do laboratório ou do serviço de saúde registrá-la como tal para a conclusão do diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV em indivíduos com idade acima de 18 meses.

Quando o resultado do teste com a segunda amostra for reagente, o resultado deverá ser liberado como: **“Amostra Reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado definido com a segunda amostra, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**.

Na eventualidade do o resultado da segunda amostra ser não reagente no teste de triagem, o serviço de saúde deve considerar a possibilidade de troca de amostra e repetir o Fluxograma 3, com uma terceira amostra.

A amostra com resultado inferior a 5.000 cópias/mL ou indetectável no TM não terá o seu resultado definido. A amostra deverá ser submetida ao ensaio de WB, IB ou IBR. A amostra com resultado reagente no WB, IB ou IBR terá seu resultado definido como **“Amostra Reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá reportar o resultado de todas as bandas reativas encontradas nos testes WB, IB e IBR e incluir a seguinte ressalva: **“Para confirmação do diagnóstico laboratorial, uma segunda amostra deverá ser coletada e submetida ao primeiro teste do Fluxograma 3, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**. Essa segunda amostra deverá ser colhida o mais rapidamente possível e testada preferencialmente no mesmo local em que se realizaram os testes com a primeira amostra.

É responsabilidade do profissional de saúde que atender essa pessoa solicitar e identificar o pedido do exame como segunda amostra, e do laboratório ou do serviço de saúde registrá-la como tal para a finalização do diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV em indivíduos com idade acima de 18 meses.

Quando o resultado do teste com a segunda amostra for reagente, o resultado deverá ser liberado como: **“Amostra Reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado definido com a segunda amostra, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**.

A amostra com resultado não reagente ou indeterminado no WB ou IB ou IBR terá seu resultado definido como **“Amostra Indeterminada para HIV”**. É obrigatória a liberação desse resultado e o laudo laboratorial deve incluir a seguinte ressalva: **“Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra”**. A nova amostra será colhida e submetida novamente ao fluxograma, preferencialmente no mesmo local em que se realizou o teste com a primeira amostra. Caso o resultado com a nova amostra permaneça indeterminado, deve-se considerar a possibilidade de infecção pelo HIV-2. Nesse caso, o DDAHV deverá ser contatado para orientar quanto aos procedimentos visando o envio da amostra ao Laboratório de Referência Nacional para HIV-2.

Laudos

Além das informações citadas anteriormente, os laudos devem conter os resultados de todos os testes realizados, devendo ser expressos o resultado numérico da amostra, o ponto de corte (*cut-off* - CO) e a unidade de medição do método utilizado, excetuando-se os resultados obtidos por testes cuja leitura é visual. Os TM quantitativos devem conter o número de cópias/mL e a escala logarítmica em base 10. Os laudos deverão estar de acordo com o disposto na Resolução RDC nº 302/Anvisa, de 13 de outubro de 2005, suas alterações, ou outro instrumento legal que venha a substituí-la.

Considerações para a utilização do Fluxograma 3

1. Existem três situações nas quais esse fluxograma necessita que testes adicionais (WB, IB ou IBR) sejam realizados para a definição do diagnóstico:
 - Controladores de elite: desenvolvem anticorpos normalmente, mas podem apresentar TM inferior a 5.000 cópias/mL;
 - Suspeita de infecção pelo HIV-2: embora os IE4^aG detectem anticorpos anti-HIV-2, os TM comercialmente disponíveis no Brasil podem não detectar ácido nucleico de HIV-2. Se houver suspeita de infecção pelo HIV-2, o DDAHV deverá ser contatado para orientar quanto aos procedimentos visando o envio da amostra ao Laboratório de Referência Nacional para HIV-2 (ver o item 10.2);
 - Resultado falso-reagente no T1 (IE4^aG).
2. Os diferentes ensaios de CV disponíveis no mercado podem apresentar diferentes requisitos para a coleta, armazenamento e processamento das amostras. Esses requisitos são especificados pelo fabricante do conjunto diagnóstico. Com o objetivo de assegurar a obtenção de resultados precisos, deve-se:
 - Analisar cuidadosamente as instruções de uso do conjunto diagnóstico, com o objetivo de determinar os tipos de amostras a serem utilizadas (soro, plasma), volume, tubos de coleta, anticoagulantes, tempo e velocidade de centrifugação, instruções para o armazenamento, transporte e estabilidade das amostras;
 - Comunicar esses requisitos específicos às pessoas responsáveis pelo encaminhamento de amostras para a realização do ensaio de CV.

A Tabela 7 resume as principais informações do Fluxograma 3.

Tabela 7 - Resumo do Fluxograma 3

ENSAIOS REALIZADOS			RESULTADO	OBSERVAÇÃO
IE4 ^o G	TM	WB/IB/IBR		
Não Reagente	-	-	Amostra Não Reagente para HIV	Em caso de suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.
Reagente	Maior ou igual a 5.000 cópias/mL	-	Amostra Reagente para HIV	Para confirmação do diagnóstico laboratorial, uma segunda amostra deverá ser coletada e submetida ao primeiro teste do Fluxograma 3, conforme estabelecido pela Portaria n° 29, de 17 de dezembro de 2013.
Reagente	Inferior a 5.000 cópias/mL	Reagente		
Reagente	Inferior a 5.000 cópias/mL	Não Reagente	Amostra Indeterminada para HIV	Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.
Reagente	Inferior a 5.000 cópias/mL	Indeterminado		

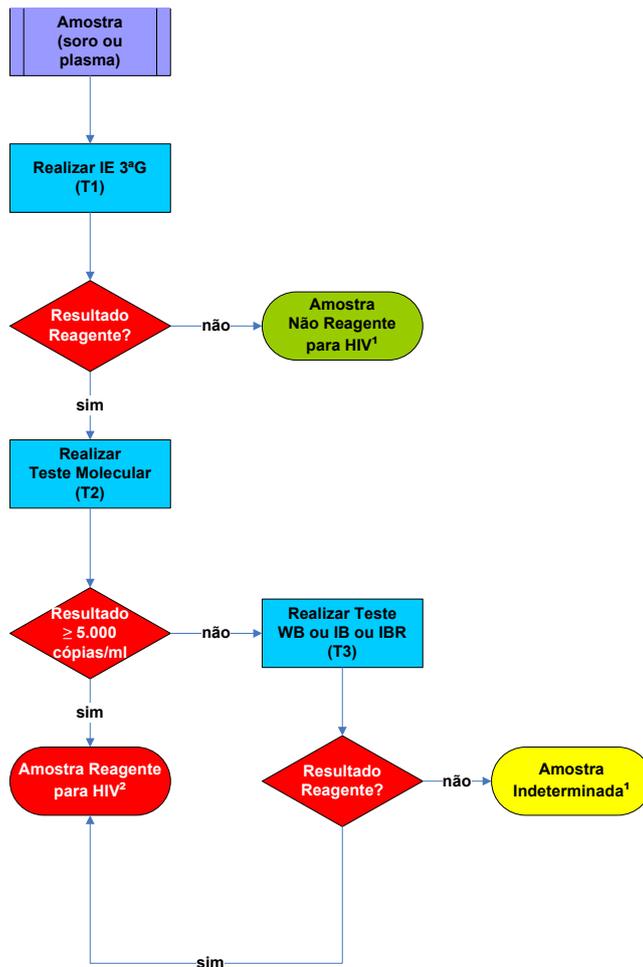
SEGUNDA AMOSTRA PARA CONFIRMAÇÃO DO DIAGNÓSTICO			
IE4 ^o G	RESULTADO	OBSERVAÇÃO	DESDOBRAMENTOS
Não Reagente	-	-	Coletar uma terceira amostra e repetir o fluxograma. Considerar a possibilidade de troca de amostras.
Reagente	Amostra Reagente para HIV	Resultado definido com a segunda amostra, conforme estabelecido pela Portaria n° 29, de 17 de dezembro de 2013.	-

Fluxograma 4

Triagem com imunoenensaio de 3ª geração e teste molecular como teste complementar

O Fluxograma 4 emprega um imunoenensaio de 3ª geração (IE3ªG) como teste de triagem e um teste molecular (TM) como teste complementar, para amostras reagentes na triagem (Figura 17). Os Fluxogramas 3 e 4 diferem na geração do imunoenensaio (IE) utilizado na etapa inicial. O IE deve detectar anticorpos anti-HIV-1, incluindo o grupo O, e anticorpos anti-HIV-2. Neste fluxograma, o IE de triagem é menos sensível do que o TM. Portanto, amostras reagentes no teste de triagem e com número de cópias maior ou igual a 5.000 cópias/mL no TM representam infecção pelo HIV. No entanto, uma amostra reagente no IE de triagem, mas com número de cópias inferior a 5.000 cópias/mL no TM, pode indicar: (a) infecção pelo HIV-2; (b) reação falso-reagente do teste de triagem; ou (c) infecção em um indivíduo com TM abaixo do limite de detecção. Essa última situação pode ocorrer em indivíduos denominados controladores de elite e também em pessoas em tratamento com antirretrovirais (ARV). A confirmação do diagnóstico desses indivíduos deve ser realizada com um teste sorológico complementar do tipo western blot (WB), imunoblot (IB) ou imunoblot rápido (IBR).

Figura 17 – Fluxograma 4: Imunoensaio de 3ª geração seguido de teste molecular



¹ Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.

² Coletar segunda amostra e repetir o IE de 3ªG para concluir o resultado.

Legenda: Processo predefinido. Processo. Exige uma tomada de decisão. Finalizador.

O Fluxograma 4 não é adequado para o diagnóstico da infecção pelo HIV em crianças com idade igual ou inferior a 18 meses, devido à transferência de anticorpos maternos anti-HIV pela placenta.

Resultados inconclusivos ou indeterminados no teste de triagem devem ser tratados segundo as instruções de uso do conjunto diagnóstico.

Quadro 2 – Sensibilidade clínica do Fluxograma 4 em relação ao estagiamento laboratorial da infecção pelo HIV-1 (classificação de Fiebig)

Estágio		0	I	II	III	IV	V	VI	
Número de dias após a exposição		10	17	22	25	31	101	∞	
Triagem (T1)	IE3 ^a G	Resultado reagente ou detectável						Resultado indeterminado	
Complementar (T2)	TM	Resultado reagente ou detectável						Resultado indeterminado	
Complementar (T3)	WB, IB ou IBR	Resultado reagente ou detectável						Resultado indeterminado	

Legenda:

-  Resultado reagente ou detectável
-  Resultado indeterminado

Fonte: DDAHV/SVS/MS.

Fundamentação

O Fluxograma 4 utiliza um IE3^aG como teste de triagem e um TM como teste complementar para amostras reagentes no teste de triagem. O emprego de um IE de triagem seguido por um TM cujo resultado seja maior ou igual a 5.000 cópias/mL dispensa a utilização dos testes complementares do tipo WB, IB e IBR, pois confirma o diagnóstico.

A especificidade de um TM varia de acordo com o conjunto diagnóstico utilizado. Resultados falso-reagentes, na maioria dos casos, tendem a apresentar um número de cópias próximo ao limite de detecção do ensaio. Esse perfil requer a repetição do teste para afastar a possibilidade de ocorrência de contaminação. O DDAHV sugere cautela na interpretação de resultados de TM inferiores a 5.000 cópias/mL. Nesses casos, deve-se realizar WB ou IB ou IBR.

Reiteramos que a ocorrência de resultado reagente no IE3^aG e de resultado abaixo do limite de detecção no TM sugere também tratar-se de um padrão de resultados semelhante ao que ocorre com indivíduos controladores de elite. Resultados falso-reagentes no IE tendem a apresentar uma relação DO/CO baixa, enquanto que indivíduos controladores de elite apresentam uma resposta imune humoral normal e uma relação DO/CO alta.

Procedimento

A amostra com resultado não reagente no IE3^aG será definida como: **“Amostra Não Reagente para HIV”**. O laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **“Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra”**.

A amostra com resultado reagente no IE3^aG deverá ser submetida ao TM. A amostra com resultado reagente no IE3^aG e com número de cópias igual ou superior a 5.000 cópias/mL no TM terá seu resultado definido como: **“Amostra Reagente para HIV”**.

O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Para confirmação do diagnóstico laboratorial, uma segunda amostra deverá ser coletada e submetida ao primeiro teste do Fluxograma 4, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**. Essa segunda amostra deverá ser colhida o mais rapidamente possível e testada preferencialmente no mesmo local em que se realizaram os testes com a primeira amostra.

É responsabilidade do profissional de saúde que atender essa pessoa solicitar e identificar o pedido do exame como segunda amostra, e do laboratório ou do serviço de saúde registrá-la como tal para a conclusão do diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV em indivíduos com idade acima de 18 meses.

Quando o resultado do teste com a segunda amostra for reagente, o resultado deverá ser liberado como: **“Amostra Reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado definido com a segunda amostra, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**.

Na eventualidade de o resultado da segunda amostra ser não reagente no teste de triagem, o serviço de saúde deve considerar a possibilidade de troca de amostra e repetir o Fluxograma 4, com uma terceira amostra.

A amostra com resultado inferior a 5.000 cópias/mL ou indetectável no TM não terá o seu resultado definido. A amostra deverá ser submetida ao ensaio de WB, IB ou IBR. A amostra com resultado reagente no WB, IB ou IBR terá seu resultado definido como **“Amostra Reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá reportar o resultado de todas as bandas reativas encontradas nos testes WB, IB e IBR e incluir a seguinte ressalva: **“Para comprovação do diagnóstico laboratorial, uma segunda amostra deverá ser coletada e submetida ao primeiro teste do Fluxograma 4, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**. Essa segunda amostra deverá ser colhida o mais rapidamente possível e testada preferencialmente no mesmo local em que se realizaram os testes com a primeira amostra.

A amostra com resultado não reagente ou indeterminado no WB ou IB ou IBR terá seu resultado definido como **“Amostra Indeterminada para HIV”**. É obrigatória a liberação desse resultado, e o laudo laboratorial deve incluir a seguinte ressalva: **“Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra”**. A nova amostra será colhida e submetida novamente ao fluxograma, preferencialmente no mesmo local em que se realizou o teste com a primeira amostra. Caso o resultado com a nova amostra permaneça indeterminado, deve-se considerar a possibilidade de infecção pelo HIV-2. Nesse caso, o DDAHV deverá ser contatado para orientar quanto aos procedimentos visando o envio da amostra ao Laboratório de Referência Nacional para HIV-2.

Laudos

Além das informações citadas anteriormente, os laudos devem conter os resultados de todos os testes realizados, devendo ser expressos o resultado numérico da amostra, o ponto de corte (*cut-off* - CO) e a unidade de medição do método utilizado, excetuando-se os resultados obtidos por testes cuja leitura é visual. Os TM quantitativos devem conter o número de cópias/mL e a escala logarítmica em base 10. Os laudos deverão estar de acordo com o disposto na Resolução RDC nº 302/Anvisa, de 13 de outubro de 2005, suas alterações, ou outro instrumento legal que venha a substituí-la.

Considerações para a utilização do Fluxograma 4

1. Existem três situações nas quais esse fluxograma necessita que testes adicionais (WB, IB ou IBR) sejam realizados para a definição do diagnóstico:
 - Controladores de elite: desenvolvem anticorpos normalmente, mas podem apresentar TM inferior a 5.000 cópias/mL;

- Suspeita de infecção pelo HIV-2: embora os IE3^aG detectem anticorpos anti-HIV-2, os TM comercialmente disponíveis no Brasil podem não detectar ácido nucleico de HIV-2. Se houver suspeita de infecção pelo HIV-2, o DDAHV deverá ser contatado para orientar quanto aos procedimentos a serem seguidos visando o envio da amostra ao Laboratório de Referência Nacional para HIV-2 (ver o item 10.2);
 - Resultado falso-reagente no T1 (IE3^aG).
2. Os diferentes ensaios de CV disponíveis no mercado podem apresentar diferentes requisitos para a coleta, armazenamento e processamento das amostras. Esses requisitos são especificados pelo fabricante do conjunto diagnóstico. Com o objetivo de assegurar a obtenção de resultados precisos, deve-se:
- Analisar cuidadosamente as instruções de uso do conjunto diagnóstico, com o objetivo de determinar os tipos de amostras a serem utilizadas (soro, plasma), volume, tubos de coleta, anticoagulantes, tempo e velocidade de centrifugação, instruções para o armazenamento, transporte e estabilidade das amostras;
 - Comunicar esses requisitos específicos às pessoas responsáveis pelo encaminhamento de amostras para a realização do ensaio de CV.

A Tabela 8 resume as principais informações do Fluxograma 4.

Tabela 8 – Resumo do Fluxograma 4

ENSAIOS REALIZADOS			RESULTADO	OBSERVAÇÃO
IE3 ^a G	TM	WB/IB/IBR		
Não Reagente	-	-	Amostra Não Reagente para HIV	Em caso de suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.
Reagente	Maior ou igual a 5.000 cópias/mL	-	Amostra Reagente para HIV	Para confirmação do diagnóstico laboratorial, uma segunda amostra deverá ser coletada e submetida ao primeiro teste do Fluxograma 4, conforme estabelecido pela Portaria n° 29, de 17 de dezembro de 2013.
Reagente	Inferior a 5.000 cópias/mL	Reagente		
Reagente	Inferior a 5.000 cópias/mL	Não Reagente	Amostra Indeterminada para HIV	Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.
Reagente	Inferior a 5.000 cópias/mL	Indeterminado		

SEGUNDA AMOSTRA PARA CONFIRMAÇÃO DO DIAGNÓSTICO			
IE3 ^a G	RESULTADO	OBSERVAÇÃO	DESDOBRAMENTOS
Não Reagente	-	-	Coletar uma terceira amostra e repetir o fluxograma. Considerar a possibilidade de troca de amostras.
Reagente	Amostra Reagente para HIV	Resultado definido com a segunda amostra, conforme estabelecido pela Portaria n° 29, de 17 de dezembro de 2013.	-

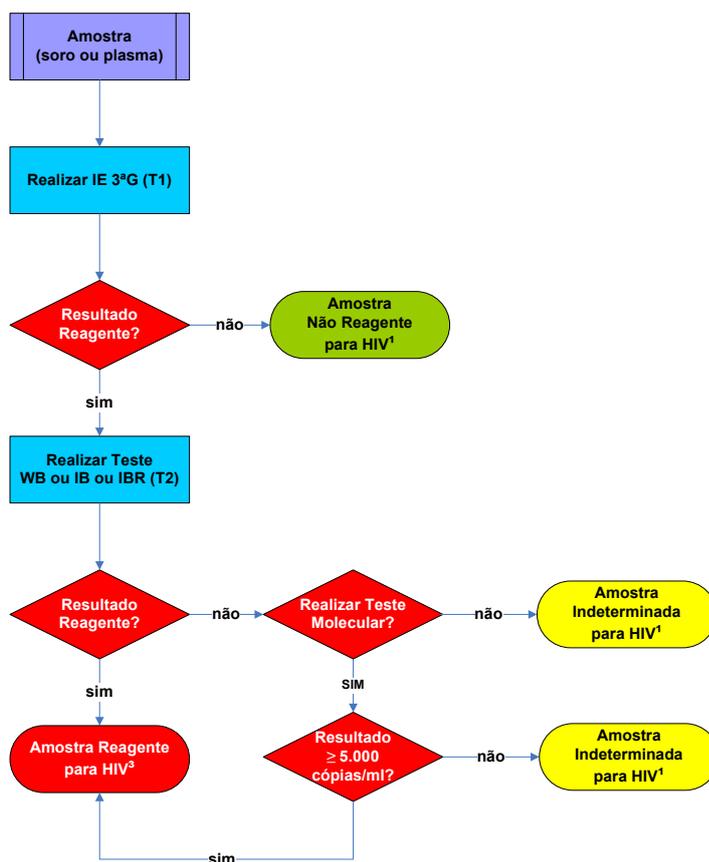
Fluxograma 5

Triagem com imunoenensaio de 3ª geração e western blot, imunoblot ou imunoblot rápido como teste complementar

O Fluxograma 5 emprega um imunoenensaio de 3ª geração (IE3ªG) como teste de triagem e um western blot (WB), imunoblot (IB) ou imunoblot rápido (IBR) como teste complementar para amostras reagentes na triagem (Figura 18). Um fluxograma com as mesmas características foi recomendado em legislações anteriores e atualmente não representa um avanço no esforço de tornar o diagnóstico do HIV mais precoce, preciso e com custo mais acessível. O único avanço oferecido neste fluxograma é a indicação de que, quando possível, seja realizado um teste molecular (TM) nas amostras que apresentarem resultado indeterminado ou discordante entre T1 (IE3ªG) e T2 (WB, IB ou IBR).

Cabe ressaltar que o (imunoenensaio) IE de triagem é mais sensível do que os testes complementares (WB, IB ou IBR). O DDAHV recomenda aos serviços de saúde que utilizam este fluxograma que considerem a adoção dos Fluxogramas 3 ou 4 devido aos benefícios diagnósticos anteriormente apresentados.

Figura 18 – Fluxograma 5: Imunoenensaio de 3ª geração e western blot, imunoblot ou imunoblot rápido como teste complementar



¹ Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.

² Emitir laudo reportando o resultado indeterminado e coletar nova amostra após 30 dias da data da coleta.

³ Coletar segunda amostra e repetir o IE de 3ªG para concluir o resultado.

Legenda: Processo predefinido. Processo. Exige uma tomada de decisão. Finalizador.

O Fluxograma 5 não é adequado para o diagnóstico da infecção pelo HIV em crianças com idade igual ou inferior a 18 meses, devido à transferência de anticorpos maternos anti-HIV pela placenta.

Resultados inconclusivos ou indeterminados no teste de triagem devem ser tratados segundo as instruções de uso do conjunto diagnóstico.

Quadro 3 – Sensibilidade clínica do Fluxograma 5 em relação ao estagiamento laboratorial da infecção pelo HIV-1 (classificação de Fiebig)

Estágio		0	I	II	III	IV	V	VI
Número de dias após a exposição		10	17	22	25	31	101	∞
Triagem (T1)	IE3 ^a G							
Complementar (T2)	WB, IB ou IBR							
Complementar (T3)	TM							

Legenda:

-  Resultado reagente ou detectável
-  Resultado indeterminado

Fonte: DDAHV/SVS/MS.

Fundamentação

Diante dos avanços tecnológicos, este fluxograma apresenta limitações. Para que ele alcance desempenho comparável aos Fluxogramas 3 ou 4, foi acrescentado um TM para os casos em que não foi possível estabelecer o diagnóstico conclusivo com T1 (IE3^aG) e T2 (WB, IB ou IBR).

Se o teste complementar escolhido pelo serviço de saúde for o IBR, este somente pode ter seu resultado interpretado se for válido. Isso significa presença de linha na janela de leitura do controle (C). Caso se opte pela utilização desse teste e ocorrer resultado inválido, deve-se repetir o teste com o mesmo conjunto diagnóstico, se possível com um lote distinto do que foi utilizado inicialmente. Persistindo o resultado inválido, uma nova amostra deverá ser coletada para esclarecer o diagnóstico.

Procedimento

A amostra com resultado não reagente no IE3^aG será definida como: **“Amostra Não Reagente para HIV”**. O laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **“Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra”**.

A amostra com resultado reagente no IE3^aG deverá ser submetida ao WB ou IB ou IBR. A amostra com resultados reagentes no IE3^aG e no WB ou IB ou IBR terá seu resultado definido como: **“Amostra Reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deve reportar o resultado de todas as bandas reativas encontradas nos testes WB, IB e IBR e incluir a seguinte ressalva: **“Para confirmação do diagnóstico laboratorial, uma segunda amostra deverá ser coletada e submetida ao primeiro teste do Fluxograma 5, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**. Essa segunda amostra deverá ser colhida o mais rapidamente possível e testada preferencialmente no mesmo local em que se realizaram os testes com a primeira amostra.

É responsabilidade do profissional de saúde que atender essa pessoa solicitar e identificar o pedido do exame como segunda amostra, e do laboratório ou do serviço de saúde registrá-la como tal para a conclusão do diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV em indivíduos com idade acima de 18 meses.

Quando o resultado do teste com a segunda amostra for reagente, o resultado deverá ser liberado como: **“Amostra Reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado definido com a segunda amostra, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**.

Na eventualidade de o resultado da segunda amostra ser não reagente no teste de triagem, o serviço de saúde deve considerar a possibilidade de troca de amostra e repetir o Fluxograma 5, com uma terceira amostra.

A amostra com resultado reagente no T1 (IE3^aG) e resultado indeterminado ou não reagente no T2 (WB ou IB ou IBR) deverá ser submetida a um TM. Caso o laboratório não disponha de tecnologia para a realização do T3 (TM), essa amostra terá seu resultado definido como **“Amostra Indeterminada para HIV”**. É obrigatória a liberação desse resultado, e o laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra”**. A nova amostra será colhida e submetida novamente ao fluxograma, preferencialmente no mesmo local em que se realizou o teste com a primeira amostra. Caso o resultado com a nova amostra permaneça indeterminado, deve-se considerar a possibilidade de resultado falso-reagente no T1 (IE3^aG) ou de infecção pelo HIV-2. Nesse segundo caso, o DDAHV deverá ser contatado para orientar quanto aos procedimentos a serem seguidos visando o envio da amostra ao Laboratório de Referência Nacional para HIV-2.

A amostra com resultado reagente no T1 (IE3^aG) e resultado indeterminado ou não reagente no T2 (WB ou IB ou IBR) e submetida ao T3 (TM), que apresentar resultado inferior a 5.000 cópias/mL ou indetectável, terá seu resultado definido como **“Amostra Indeterminada para HIV”**. É obrigatória a liberação desse resultado, e o laudo laboratorial deve incluir a seguinte ressalva: **“Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra”**. A nova amostra será colhida e submetida novamente ao fluxograma, preferencialmente no mesmo local em que se realizou o teste com a primeira amostra. Caso o resultado com a nova amostra permaneça indeterminado, deve-se considerar a possibilidade de infecção pelo HIV-2. Nesse caso, o DDAHV deverá ser contatado para orientar quanto aos procedimentos a serem seguidos visando envio da amostra ao Laboratório de Referência Nacional para HIV-2.

A amostra com resultado reagente no T1 (IE3^aG) e resultado indeterminado ou não reagente no T2 (WB ou IB ou IBR) e submetida ao T3 (TM), que apresentar resultado igual ou superior a 5.000 cópias/mL, terá seu resultado definido como: **“Amostra Reagente para HIV”**.

O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Para confirmação do diagnóstico laboratorial, uma segunda amostra deverá ser coletada e submetida ao primeiro teste do Fluxograma 5, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**. Essa segunda amostra deverá ser colhida o mais rapidamente possível e testada preferencialmente no mesmo local em que se realizaram os testes com a primeira amostra.

É responsabilidade do profissional de saúde que atender essa pessoa solicitar e identificar o pedido do exame como segunda amostra, e do laboratório ou do serviço de saúde registrá-la como tal para a conclusão do diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV em indivíduos com idade acima de 18 meses.

Quando o resultado do teste com a segunda amostra for reagente, o resultado deverá ser liberado como: **“Amostra Reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado definido com a segunda amostra, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**.

Na eventualidade de o resultado da segunda amostra ser não reagente no teste de triagem, o serviço de saúde deve considerar a possibilidade de troca de amostra e repetir o Fluxograma 5, com uma terceira amostra.

Considerações para a utilização do Fluxograma 5

Os diferentes ensaios de CV disponíveis no mercado podem apresentar diferentes requisitos para a coleta, armazenamento e processamento das amostras. Esses requisitos são especificados pelo fabricante do conjunto diagnóstico. Com o objetivo de assegurar a obtenção de resultados precisos, deve-se:

- Analisar cuidadosamente as instruções de uso do conjunto diagnóstico, com o objetivo de determinar os tipos de amostras a serem utilizadas (soro, plasma), volume, tubos de coleta, anticoagulantes, tempo e velocidade de centrifugação, instruções para o armazenamento, transporte e estabilidade das amostras;
- Comunicar esses requisitos específicos às pessoas responsáveis pelo encaminhamento de amostras para a realização do ensaio de CV.

Laudos

Além das informações citadas anteriormente, os laudos devem conter os resultados de todos os testes realizados, devendo ser expressos o resultado numérico da amostra, o ponto de corte (*cut-off* - CO) e a unidade de medição do método utilizado, excetuando-se os resultados obtidos por testes cuja leitura é visual. Os TM quantitativos devem conter o número de cópias/mL e a escala logarítmica em base 10. Os laudos deverão estar de acordo com o disposto na Resolução RDC nº 302/Anvisa, de 13 de outubro de 2005, suas alterações, ou outro instrumento legal que venha a substituí-la.

A Tabela 9 resume as principais informações do Fluxograma 5.

Tabela 9 – Resumo do Fluxograma 5

ENSAIOS REALIZADOS			RESULTADO	OBSERVAÇÃO
IE3 ^a G	WB/IB/IBR	TM		
Não Reagente	-	-	Amostra Não Reagente para HIV	Em caso de suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.
Reagente	Reagente	-	Amostra Reagente para HIV	Para confirmação do diagnóstico laboratorial, uma segunda amostra deverá ser coletada e submetida ao primeiro teste do Fluxograma 5, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.
Reagente	Não Reagente	Igual ou superior a 5.000 cópias/mL		
Reagente	Indeterminado	Igual ou superior a 5.000 cópias/mL	Amostra Indeterminada para HIV	Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.
Reagente	Não Reagente	Inferior a 5.000 cópias/mL		
Reagente	Indeterminado	Inferior a 5.000 cópias/mL		
Reagente	Não Reagente	Não disponível		
Reagente	Indeterminado	Não disponível		

SEGUNDA AMOSTRA PARA CONFIRMAÇÃO DO DIAGNÓSTICO			
IE3 ^a G	RESULTADO	OBSERVAÇÃO	DESDOBRAMENTOS
Não Reagente	-	-	Coletar uma terceira amostra e repetir o fluxograma. Considerar a possibilidade de troca de amostras.
Reagente	Amostra Reagente para HIV	Resultado definido com a segunda amostra, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.	-

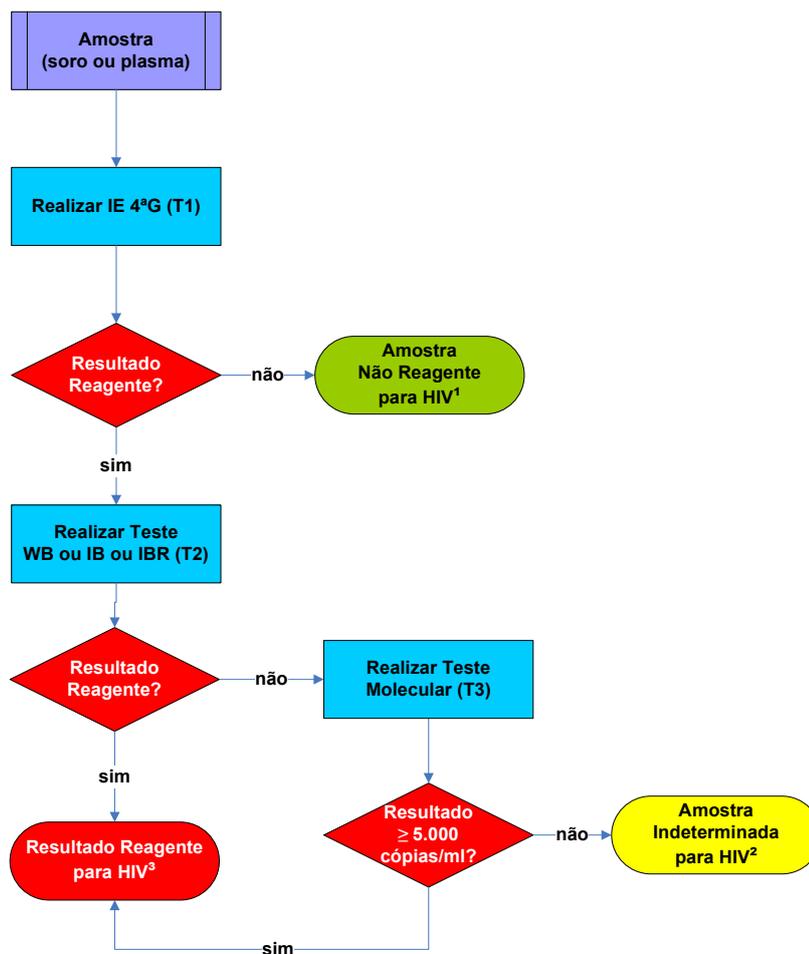
Fluxograma 6

Triagem com imunoenensaio de 4ª geração e western blot, imunoblot ou imunoblot rápido como teste complementar

O Fluxograma 6 emprega um imunoenensaio de 4ª geração (IE4ªG) como teste de triagem e um western blot (WB), imunoblot (IB) ou imunoblot rápido (IBR) como teste complementar, para amostras reagentes na triagem (Figura 19). Este fluxograma é a representação de um fluxograma que foi recomendado em legislações anteriores. De acordo com o estagiamento proposto por Fiebig et al. (2003) o T1 (IE4ªG) é classificado como Estágio II e o T2 (WB ou IB ou IBR) como Estágio V. Essa combinação de testes é a que mais possibilita a ocorrência de resultados discrepantes quando a amostra for proveniente de indivíduos com infecção recente. Para minimizar esse problema, quando possível, recomenda-se que seja realizado um teste molecular (TM) nas amostras que apresentarem resultado indeterminado ou discordante entre T1 (IE4ªG) e T2 (WB, IB ou IBR).

O DDAHV recomenda aos serviços de saúde que utilizam este fluxograma que considerem a adoção dos Fluxogramas 3 ou 4, devido aos benefícios diagnósticos anteriormente apresentados.

Figura 19 – Fluxograma 6: Imunoenensaio de 4ª geração e western blot, imunoblot ou imunoblot rápido como teste complementar



¹ Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.

² Emitir laudo reportando o resultado indeterminado e coletar nova amostra após 30 dias da data da coleta.

³ Coletar segunda amostra e repetir o IE de 4ªG para concluir o resultado.

Legenda: Processo predefinido. Processo. Exige uma tomada de decisão. Finalizador.

O Fluxograma 6 não é adequado para o diagnóstico da infecção pelo HIV em crianças com idade igual ou inferior a 18 meses, devido à transferência de anticorpos maternos anti-HIV pela placenta.

Resultados inconclusivos ou indeterminados no teste de triagem devem ser tratados segundo as instruções de uso do conjunto diagnóstico.

Quadro 4 – Sensibilidade clínica do Fluxograma 6 em relação ao estagiamento laboratorial da infecção pelo HIV-1 (classificação de Fiebig)

Estágio		0	I	II	III	IV	V	VI	
Número de dias após a exposição		10	17	22	25	31	101	∞	
Triagem (T1)	IE4 ^a G								
Complementar (T2)	WB, IB ou IBR								
Complementar (T3)	TM								

Legenda:

- Resultado reagente ou detectável
- Resultado indeterminado

Fonte: DDAHV/SVS/MS.

Fundamentação

Diante dos avanços tecnológicos, este fluxograma apresenta limitações. Para que ele mostre desempenho comparável aos Fluxogramas 3 ou 4, acrescentou-se um TM para os casos em que não foi possível estabelecer o diagnóstico conclusivo com T1 (IE4^aG) e T2 (WB, IB ou IBR).

Se o teste complementar escolhido pelo serviço de saúde for o IBR, este somente pode ter seu resultado interpretado se for válido. Isso significa presença de linha na janela de leitura do controle (C). Caso se opte pela utilização desse teste e ocorrer resultado inválido, deve-se repetir o teste com o mesmo conjunto diagnóstico, se possível com um lote distinto do que foi utilizado inicialmente. Persistindo o resultado inválido, uma nova amostra deverá ser coletada para esclarecer o diagnóstico.

Procedimento

A amostra com resultado não reagente no IE4^aG será definida como: **“Amostra Não Reagente para HIV”**. O laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **“Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra”**.

A amostra com resultado reagente no IE4^aG deverá ser submetida ao WB ou IB ou IBR. A amostra com resultados reagentes no IE4^aG e no WB ou IB ou IBR terá seu resultado definido como: **“Amostra Reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá reportar o resultado de todas as bandas reativas encontradas nos testes WB, IB e IBR e incluir a seguinte ressalva: **“Para confirmação do diagnóstico laboratorial, uma segunda amostra deverá ser coletada e submetida ao primeiro teste do Fluxograma 6, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**. Essa segunda amostra deverá ser colhida o mais rapidamente possível e testada preferencialmente no mesmo local em que se realizaram os testes com a primeira amostra.

É responsabilidade do profissional de saúde que atender essa pessoa solicitar e identificar o pedido do exame como segunda amostra, e do laboratório ou do serviço de saúde registrá-la como tal para a conclusão do diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV em indivíduos com idade acima de 18 meses.

Quando o resultado do teste com a segunda amostra for reagente, o resultado deverá ser liberado como: **“Amostra Reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado definido com a segunda amostra, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**.

Na eventualidade de o resultado da segunda amostra ser não reagente no teste de triagem, o serviço de saúde deve considerar a possibilidade de troca de amostra e repetir o Fluxograma 6, com uma terceira amostra.

A amostra com resultado reagente no T1 (IE4^aG) e resultado indeterminado ou não reagente no T2 (WB ou IB ou IBR) deverá ser submetida a um TM. Caso o laboratório não disponha de tecnologia para a realização do T3 (TM), essa amostra terá seu resultado definido como **“Amostra Indeterminada para HIV”**. É obrigatória a liberação desse resultado, e o laudo laboratorial deve incluir a seguinte ressalva: **“Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra”**. A nova amostra deverá ser colhida e submetida novamente ao fluxograma, preferencialmente no mesmo local em que se realizou o teste com a primeira amostra. Caso o resultado com a nova amostra permaneça indeterminado, deve-se considerar a possibilidade de resultado falso-reagente no T1 (IE4^aG) ou de infecção pelo HIV-2. Nesse segundo caso, o DDAHV deverá ser contatado para orientar quanto aos procedimentos a serem seguidos visando o envio da amostra ao Laboratório de Referência Nacional para HIV-2.

A amostra com resultado reagente no T1 (IE4^aG) e resultado indeterminado ou não reagente no T2 (WB ou IB ou IBR) e submetida ao T3 (TM), que apresentar resultado inferior a 5.000 cópias/mL ou indetectável, terá seu resultado definido como **“Amostra Indeterminada para HIV”**. É obrigatória a liberação desse resultado, e o laudo laboratorial deve incluir a seguinte ressalva: **“Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra”**. A nova amostra será colhida e submetida novamente ao fluxograma, preferencialmente no mesmo local em que se realizou o teste com a primeira amostra. Caso o resultado com a nova amostra permaneça indeterminado, deve-se considerar a possibilidade de infecção pelo HIV-2. Nesse caso, o DDAHV deverá ser contatado para orientar quanto aos procedimentos a serem seguidos visando o envio da amostra ao Laboratório de Referência Nacional para HIV-2.

A amostra com resultado reagente no T1 (IE4^aG) e resultado indeterminado ou não reagente no T2 (WB ou IB ou IBR) e submetida ao T3 (TM), que apresentar resultado igual ou superior a 5.000 cópias/mL terá seu resultado definido como: **“Amostra Reagente para HIV”**.

O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Para confirmação do diagnóstico laboratorial, uma segunda amostra deverá ser coletada e submetida ao primeiro teste do Fluxograma 6, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**. Essa segunda amostra deverá ser colhida o mais rapidamente possível e testada preferencialmente no mesmo local em que se realizaram os testes com a primeira amostra.

É responsabilidade do profissional de saúde que atender essa pessoa solicitar e identificar o pedido do exame como segunda amostra, e do laboratório ou do serviço de saúde registrá-la como tal para a conclusão do diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV em indivíduos com idade acima de 18 meses.

Quando o resultado do teste com a segunda amostra for reagente, o resultado deverá ser liberado como: **“Amostra Reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado definido com a segunda amostra, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**.

Na eventualidade de o resultado da segunda amostra ser não reagente no teste de triagem, o serviço de saúde deve considerar a possibilidade de troca de amostra e repetir o Fluxograma 6, com uma terceira amostra.

Considerações para a utilização do Fluxograma 6

Os diferentes ensaios de CV disponíveis no mercado podem apresentar diferentes requisitos para a coleta, armazenamento e processamento das amostras. Esses requisitos são especificados pelo fabricante do conjunto diagnóstico. Com o objetivo de assegurar a obtenção de resultados precisos, deve-se:

- Analisar cuidadosamente as instruções de uso do conjunto diagnóstico, com o objetivo de determinar os tipos de amostras a serem utilizadas (soro, plasma), volume, tubos de coleta, anticoagulantes, tempo e velocidade de centrifugação, instruções para o armazenamento, transporte e estabilidade das amostras;
- Comunicar esses requisitos específicos às pessoas responsáveis pelo encaminhamento de amostras para a realização do ensaio de CV.

Laudos

Além das informações citadas anteriormente, os laudos devem conter os resultados de todos os testes realizados, devendo ser expressos o resultado numérico da amostra, o ponto de corte (*cut-off* - CO) e a unidade de medição do método utilizado, excetuando-se os resultados obtidos por testes cuja leitura é visual. Os TM quantitativos devem conter o número de cópias/mL e a escala logarítmica em base 10. Os laudos deverão estar de acordo com o disposto na Resolução RDC nº 302/Anvisa, de 13 de outubro de 2005, suas alterações, ou outro instrumento legal que venha a substituí-la.

A Tabela 10 resume as principais informações do Fluxograma 6.

Tabela 10 - Resumo do Fluxograma 6

ENSAIOS REALIZADOS			RESULTADO	OBSERVAÇÃO
IE4 ^g	WB/IB/IBR	TM		
Não Reagente	-	-	Amostra Não Reagente para HIV	Em caso de suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.
Reagente	Reagente	-	Amostra Reagente para HIV	Para confirmação do diagnóstico laboratorial, uma segunda amostra deverá ser coletada e submetida ao primeiro teste do Fluxograma 6, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.
Reagente	Não Reagente	Igual ou superior a 5.000 cópias/mL		
Reagente	Indeterminado	Igual ou superior a 5.000 cópias/mL	Amostra Indeterminada para HIV	Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.
Reagente	Não Reagente	Inferior a 5.000 cópias/mL		
Reagente	Indeterminado	Inferior a 5.000 cópias/mL		
Reagente	Não Reagente	Não disponível		
Reagente	Indeterminado	Não disponível		

SEGUNDA AMOSTRA PARA CONFIRMAÇÃO DO DIAGNÓSTICO			
IE4 ^g	RESULTADO	OBSERVAÇÃO	DESDOBRAMENTOS
Não Reagente	-	-	Coletar uma terceira amostra e repetir o fluxograma. Considerar a possibilidade de troca de amostras.
Reagente	Amostra Reagente para HIV	Resultado definido com a segunda amostra, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.	-

9 ESTRATÉGIAS PARA IDENTIFICAÇÃO PRECOCE DA INFECÇÃO PELO HIV EM CRIANÇAS MENORES DE 18 MESES

A identificação precoce da criança infectada verticalmente é essencial para o início da terapia antirretroviral, para a profilaxia das infecções oportunistas e para o manejo das intercorrências infecciosas e dos distúrbios nutricionais.

A passagem transplacentária de anticorpos maternos do tipo IgG anti-HIV, principalmente no terceiro trimestre de gestação, interfere no diagnóstico sorológico da infecção vertical. Os anticorpos maternos podem persistir até os 18 meses de idade. Portanto, métodos que realizam a detecção de anticorpos não são recomendados para o diagnóstico em crianças menores de 18 meses de idade, sendo necessária a realização de testes moleculares (TM), como, por exemplo, a quantificação do RNA viral (carga viral - CV), disponibilizada pelo DDAHV do Ministério da Saúde.

A CV, para fins diagnósticos em crianças com idade inferior a 18 meses, deve ser realizada considerando as indicações a seguir relacionadas:

1. A primeira CV deve ser colhida com quatro (4) semanas de vida ou, preferencialmente, seis (6) semanas, se a criança tiver recebido profilaxia antirretroviral;
2. Em recém-nascidos sintomáticos, a CV pode ser colhida em qualquer momento;
3. Deve-se realizar, imediatamente, a primeira CV em crianças que foram amamentadas;
4. Em crianças cuja primeira amostra tenha sido colhida em idade superior a quatro (4) meses, a segunda coleta pode ser realizada com intervalo mínimo de um (1) mês;
5. Caso a CV tenha um resultado detectável, esta deve ser repetida com nova amostra assim que possível. Se a segunda CV também for detectável, considera-se a criança como infectada pelo HIV;
6. Caso a primeira CV tenha um resultado indetectável, esta deverá ser repetida após o 4º mês de vida. Se a segunda CV também for indetectável, considera-se a criança não infectada;
7. Amostras com resultado de CV abaixo de 5.000 cópias/mL devem ser cuidadosamente analisadas, devido à possibilidade de um resultado falso-reagente;
8. A documentação da sororreversão da criança não infectada pelo HIV deve ser realizada com uma sorologia para HIV não reagente após 18 meses. A proporção de crianças que sororrevertem em até 12 meses de idade é de 95%, ficando a critério médico a solicitação de sorologia nessa idade;
9. Em raras situações, crianças não infectadas pelo HIV podem apresentar anticorpos maternos residuais até 24 meses de vida (sororrevertores tardios). Essas crianças geralmente apresentam o imunoenensaio (IE) reagente, mas o teste complementar (western blot, imunoblot ou imunoblot rápido) indeterminado. Nessas situações, deve-se repetir a sorologia até a obtenção de resultado não reagente.

Para o manejo clínico de crianças confirmadamente infectadas e esclarecimento de outras dúvidas quanto ao diagnóstico infantil, deve-se consultar o **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Crianças e Adolescentes**, disponível em <<http://www.aids.gov.br/pagina/publicacoes>>.

10 SITUAÇÕES ESPECIAIS DO DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO HIV

10.1 Recomendações para o diagnóstico de infecção aguda pelo HIV-1

Essa recomendação aplica-se aos casos nos quais existe a suspeita clínica de infecção aguda pelo HIV. Conforme demonstrado no estudo de Fiebig et al. (2003), no Estágio 0 (fase eclipse) não existe teste capaz de detectar a infecção pelo HIV. A partir do Estágio I podem-se utilizar testes moleculares (TM), pois na infecção aguda os marcadores sorológicos ainda não são detectáveis e a decisão da instauração de terapia antirretroviral (ARV) deve ser baseada no resultado do TM e nos dados clínicos e anamnese do indivíduo. É importante ressaltar que a prescrição imediata da ARV tem o potencial de evitar a disseminação do HIV, além de preservar o sistema imune.

Caso o laboratório não disponha de tecnologia para a realização do TM, a alternativa é a utilização de um ensaio capaz de detectar antígeno p24 do HIV; entretanto, a reatividade desse teste ocorre no Estágio 2 de Fiebig.

O TM utilizado nessa situação pode apresentar os seguintes resultados:

a) Resultado igual ou superior a 5.000 cópias/mL.

Emitir o laudo informando o número de cópias/mL e a escala logarítmica em base 10. O laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **“A soroconversão deverá ser confirmada em uma nova amostra, a ser obtida 30 dias após a data da coleta desta amostra.”**

Essa nova amostra deverá ser testada utilizando um dos fluxogramas recomendados neste manual. É importante o acompanhamento do paciente até que ocorra a soroconversão para concluir o diagnóstico.

b) Resultado inferior a 5.000 cópias/mL.

Emitir o laudo informando o número de cópias/mL e a escala logarítmica em base 10. O laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **“Uma nova amostra deverá ser coletada 7 dias após a data da coleta desta amostra para possível confirmação do diagnóstico”.**

c) Resultado inferior ao limite de detecção do TM.

O laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **“Persistindo a suspeita de infecção aguda pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 7 dias após a data da coleta desta amostra e submetida a um TM”.**

10.2 Recomendações para o diagnóstico da infecção pelo HIV-2

10.2.1 A testagem para HIV-2 deve ser sempre considerada nos casos em que um indivíduo apresente suspeita epidemiológica de risco pelo HIV-2, como:

- a) Parcerias sexuais de países em que o HIV-2 é endêmico;
- b) Parcerias sexuais sabidamente infectadas pelo HIV-2;
- c) Transfusão de sangue ou injeções com agulhas não estéreis em países em que o HIV-2 é endêmico;
- d) Compartilhamento de agulhas com pessoas de países em que o HIV-2 é endêmico ou com uma pessoa reconhecidamente infectada com HIV-2;
- e) Filhos de mulheres que têm fatores de risco para o HIV-2.

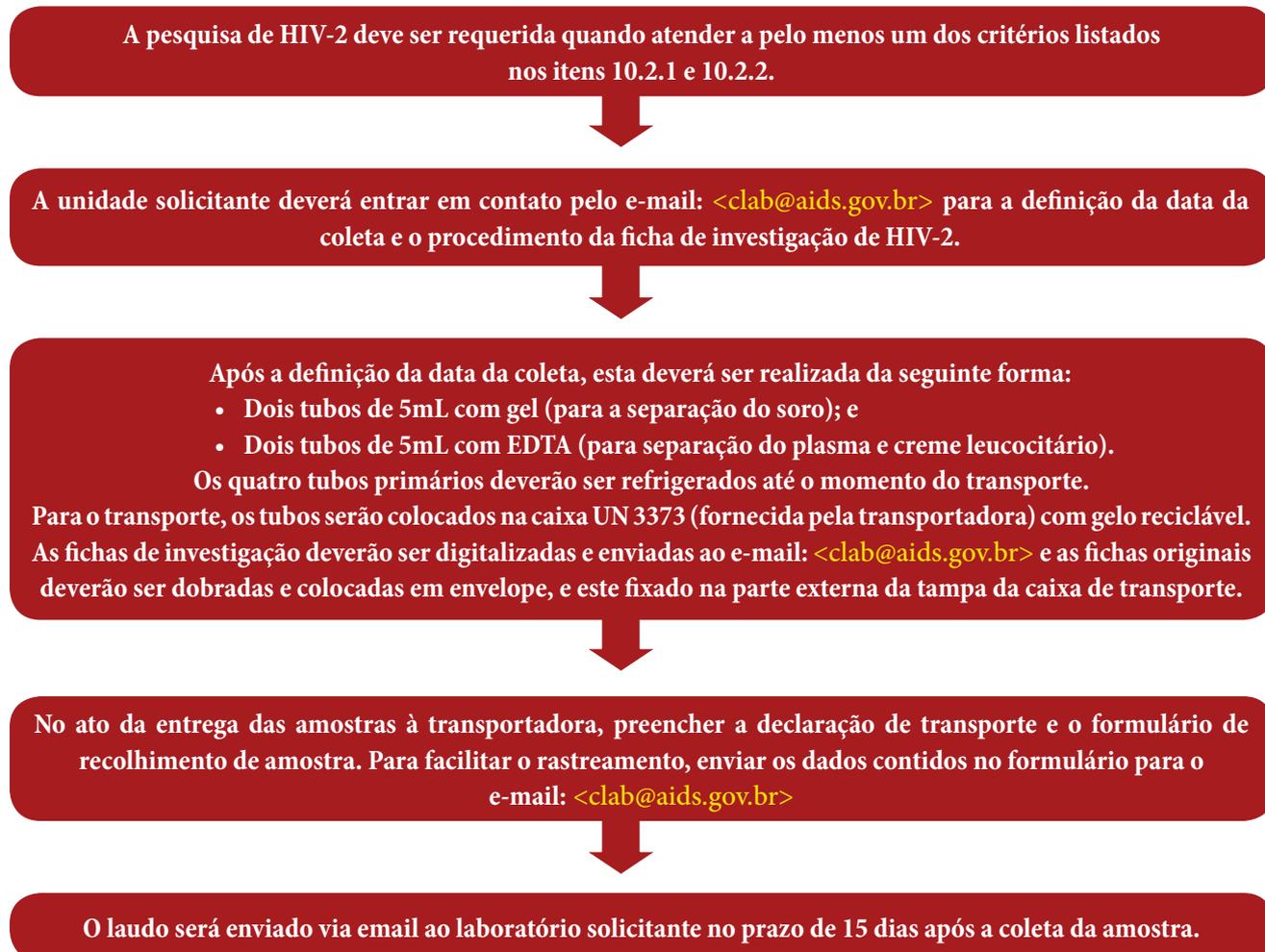
10.2.2. Também se deve suspeitar de infecção pelo HIV-2 nos seguintes casos:

- a) Suspeita clínica de aids, na ausência de um teste reagente para anticorpos anti-HIV-1, ou um western blot (WB) para HIV-1 com os padrões indeterminados incomuns, tais como p55, p24 ou p17, bandas da polimerase p66, p51 (transcriptase reversa) ou p31 (integrase);
- b) Pacientes com carga viral (CV) indetectável, com sintomatologia ou contagem de linfócitos T CD4+ decrescente;
- c) Teste sorológico de triagem reagente e WB ou teste molecular (TM) não reagente, sempre que houver um elo epidemiológico com países endêmicos para HIV-2;
- d) Testes sorológicos que indiquem reatividade para a proteína gp36 ou gp105 do HIV-2.

Em qualquer desses casos, o DDAHV deverá ser contatado para orientar quanto aos procedimentos a serem seguidos visando o envio da amostra ao Laboratório de Referência Nacional para o HIV-2 para a possível confirmação dessa infecção, como indicado na Figura 20.

Além dos itens citados, nas situações em que qualquer um dos testes rápidos apresentem resultados reagentes para HIV-2, uma amostra de sangue obtida por punção venosa deverá ser encaminhada ao laboratório de referência municipal e/ou estadual e ser submetida a um dos fluxogramas propostos para laboratório (Fluxogramas 3, 4, 5 e 6). Caso persista a suspeita de infecção pelo HIV-2, o laboratório de referência local deverá proceder conforme definido na Figura 20.

Figura 21 – Procedimento para envio de amostra com suspeita de HIV-2 para laboratório de referência



10.2.3. Laudos

- Para fluxogramas que utilizam teste rápido:

Caso ocorra reatividade para HIV-2 em pelo menos um dos testes rápidos (TR1 e/ou TR2), o laudo deverá incluir a seguinte ressalva: **“Amostra com suspeita de HIV-2. Para confirmação do diagnóstico, uma amostra de sangue obtida por punção venosa deverá ser encaminhada ao laboratório de referência municipal e/ou estadual e ser submetida a um dos fluxogramas propostos para laboratório (Fluxogramas 3, 4, 5 e 6), conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”.**

- Para fluxogramas que utilizam testes laboratoriais:

Caso ocorra reatividade para HIV-2 nos testes laboratoriais (WB, IB ou IBR), o laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Amostra com suspeita de HIV-2. Para confirmação do diagnóstico, uma amostra de sangue obtida por punção venosa deverá ser encaminhada ao Laboratório de Referência Nacional para o HIV-2, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”.**

10.3. Recomendações para o diagnóstico da infecção pelo HIV em gestantes

Determinados fatores podem predispor à ocorrência de resultados falso-reagentes em ensaios que empregam a detecção de anticorpos para o diagnóstico da infecção pelo HIV em gestantes. Dentre esses fatores, cabe destacar alguns: doenças autoimunes, múltiplos partos, transfusões sanguíneas, hemodiálise e vacinação para influenza. Essas condições muitas vezes levam à produção de anticorpos que podem reagir de forma cruzada com os antígenos empregados nos ensaios utilizados para o diagnóstico da infecção pelo HIV.

Recomenda-se a realização imediata da carga viral do HIV após a conclusão do fluxograma para o diagnóstico da infecção pelo HIV, com o objetivo de complementar o diagnóstico da infecção pelo HIV.

Para mais detalhes sobre a abordagem diagnóstica da infecção pelo HIV na gestação, parto e puerpério, consultar o “Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Prevenção da Transmissão Vertical de HIV, Sífilis e Hepatites Virais”, disponível em <<http://www.aids.gov.br/pagina/publicacoes>>.

REFERÊNCIAS

- ABNT NBR NM ISO 15189:2007. **Laboratórios de análises clínicas: Requisitos especiais de qualidade e competência.** Rio de Janeiro: ABNT, 2007.
- BENJAMINI, E.; COICO, R.; SUNSHINE, G. **Imunologia.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 4 ed.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **HIV: Estratégias para Diagnóstico no Brasil.** Brasília, 2010. 82 p. Série Telelab.
- BRIGIDO, L. F.; NUNES, C. C.; OLIVEIRA, C. M.; KNOLL, R. K.; FERREIRA, J. L.; FREITAS, C. A.; ALVES, M. A.; DIAS, C.; RODRIGUES, R.; Research Capacity Program. HIV type 1 Subtype C and CB Pol Recombinants prevail at the cities with the highest AIDS prevalence rate in Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, [S.l.], v. 23, n. 12, p.1579-86, 2007.
- BUTTÒ, S.; SULIGOI, B.; FANALES-BELASIO, E.; RAIMONDO, M. Laboratory diagnostics for HIV infection. **Annali dell'Istituto superiore di sanità**, [S.l.], v. 46, n. 1, p. 24-33, 2010.
- CABRAL, V. P.; CUNHA, C. B.; MAGALHAES, E. F.; PINTO-NETO, L. F.; COUTO-FERNANDEZ, J. C.; DIETZE, R.; MORGADO, M. G.; RIBEIRORODRIGUES, R. Human immunodeficiency virus type-1 subtypes of infected patients in Espírito Santo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S.l.], v. 101, n. 8, p. 881-5, 2006.
- CLSI. **Criteria for Laboratory Testing and Diagnosis of HIV Infection; Approved Guideline.** CLSI document M53-A. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011.
- COHEN, S. M.; GAY, L. C.; BUSCH, P. M.; HECTH, M. F. The Detection of Acute HIV Infection. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 202, sup. 2, p. S270-S277, 2010.
- COUTO-FERNANDEZ, J. C.; MORGADO, M. G.; BONGERTZ, V.; TANURI, A.; ANDRADE, T.; BRITES, C.; GALVÃO-CASTRO, B. HIV-1 subtyping in Salvador, Bahia, Brazil: a city with African sociodemographic characteristics. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndrome**, [S.l.], v. 22, n. 3, p. 288-93, 1999.
- DE OLIVEIRA, C. M.; ALMEIDA, F. J.; RODRIGUES, R.; CROZATTI, M.; VAZQUEZ, C. M.; DO SOCORRO CARNEIRO FERRÃO, M.; CAMPEAS, A. E.; MARQUES, S. R.; BEREZIN, E. N.; DE MACEDO BRÍGIDO, L. F. High frequency of BF mosaic genomes among HIV-1-infected children from Sao Paulo, Brazil. **Archives of Virology**, [S.l.], v. 153, n. 10, p. 1799-806, 2008.
- DE SA-FILHO, D. J.; AMBAR, R. F.; DUARTE, N. B.; MATIAS, R. B.; CANDIDO, V.; GAGLIANI, L. H.; CASEIRO, M. M. HIV type 1 diversity from newly diagnosed patients in Santos metropolitan area/Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, [S.l.], v. 25, n. 9, p. 925-9, 2009.
- DE SA-FILHO, D. J.; SOARES, M. D. A. S.; CANDIDO, V.; GAGLIANI, L. H.; CAVALIERE, E.; DIAZ, R. S.; CASEIRO, M. M. HIV type 1 pol gene diversity and antiretroviral drug resistance mutations in Santos, Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, [S.l.], v. 24, n. 3, p. 347-53, 2008.
- DUMANS, A. T.; SOARES, M. A.; PIENIAZEK, D.; KALISH, M. L.; DEVROEY, V.; HERTOOGS, K.; TANURI, A. Prevalence of protease and reverse transcriptase drug resistance mutations over time in drug-naïve human immunodeficiency virus type 1-positive individuals in Rio de Janeiro, Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemother**, [S.l.], v. 46, n. 9, p. 3075-9, 2002.
- DYKES, C.; DEMETER, L. M. Clinical Significance of Human immunodeficiency virus Type 1 Replication Fitness. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.l.], v. 20, n. 4, p. 550-78, 2007.
- ENGELMAN, A.; CHEREPANOV, P.; The structural biology of HIV-1: mechanistic and therapeutic insights. **Nature Reviews Microbiology**, [S.l.], v. 10, p. 279-290, 2012.

FACENTE, S. N.; PILCHER, C. D.; HARTOGENSIS, W. E.; KLAUSNER, J. D.; PHILIP, S. S.; LOUIE, B.; CHRISTOPOULOS, K. A.; DOWLING, T.; COLFAX, G. N. Performance of risk-based criteria for targeting acute HIV screening in San Francisco. **PLoS One**, [S.l.], v. 6, n. 7, p. e21813, 2011.

FERREIRA JR., O. C.; FERREIRA, C.; RIEDEL, M.; WIDOLIN, M. R. V.; CRIPPEN, P.; BARBOSA JR., A.; BRADY, W.; for the hiv rapid test study group. Evaluation of Rapid Tests for anti-HIV Detection in Brazil. **AIDS** [S.l.], v. 19, suppl. 4, p.S70-S75, 2005.

FIEBIG, E. W.; WRIGHT, D. J.; RAWAL, B. D.; GARRETT, P. E.; SCHUMACHER, R. T.; PEDDADA, L.; HELDEBRANT, C.; SMITH, R.; CONRAD, A.; KLEINMAN, S. H.; BUSCH, M. P. Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. **AIDS**, [S.l.], v. 17, p. 1871-1879, 2003.

GADELHA, S. R.; SHINDO, N.; CRUZ, J. N.; MORGADO, M. G.; GALVÃO-CASTRO, B. Molecular epidemiology of human immunodeficiency virus-1 in the state of Ceara, Northeast, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S.l.], v. 98, n. 4, p.461-3, 2003.

GRANADE, T. C.; PHILLIPS, S. K.; BELL, C. J.; PAU, C. P.; PAREKH, B.; HANNON, W. H.; GWINN, M.; REDUS, M. A.; SCHOCHETMAN, G.; GEORGE, J. R. Factors influencing HIV-1 banding patterns in miniaturized western blot testing of dried blood spot specimens. **Journal of Immunological Methods**, [S.l.], v. 154, n. 2, p.225- 233, 1992.

HECHT, F. M.; BUSCH, M. P.; RAWAL, B.; WEBB, M.; ROSENBERG, E.; SWANSON, M.; CHESNEY, M.; ANDERSON, J.; LEVY, J.; KAHN, J. O. Use of laboratory tests and clinical symptoms for identification of primary HIV infection. **AIDS**, v. 16, n. 8, p. 1119-29, 2002.

JOHNSON, C.; FONNER, V.; SANDS, A.; TSUI, S.; FORD, N.; WONG, V.; OBERMEYER, C.; BAGGALEY, R. A report on the misdiagnosis of HIV status. In: World Health Organization. **Consolidated guidelines on HIV testing services: 5Cs: consent, confidentiality, counselling, correct results and connection**. Geneva: World Health Organization, 2015. 163 p.

KAHN, J. O.; WALKER, B. D. Acute human immunodeficiency virus type 1 infection. **The New England Journal of Medicine**, v. 339, p. 33-39, 1998.

LEELAWIWAT, W.; YOUNG, N. L.; CHAOWANACHAN, T.; OU, C. Y.; CULNANE, M.; VANPRAPA, N.; WARANAWA, T. N.; WASINRAPEE, P.; MOCK, P. A.; TAPPERO, J.; MCNICHOLL, J. M. Dried blood spots for the diagnosis and quantitation of HIV-1: stability studies and evaluation of sensitivity and specificity for the diagnosis of infant HIV-1 infection in Thailand. **Journal of Virological Methods**, [S.l.], v. 155, n. 2, p.109-117, 2009.

LIU, L.; GENTRY, J.; LOVCHIK, J. Accuracy of Anti-HIV-1+2 Signal-to-Cut Off Ratio in Predicting HIV-1 Confirmatory Test Results. Oral presentation at the HIV Diagnostics Conference, Atlanta, USA, 2012. Resumo disponível em: <<https://custom.cvent.com/ADE0EB81B3184D618E2FB8340F1EC28E/files/29f3717707a44f91859f65feb4cefec6.pdf>>, acesso em: 30 nov. 2013.

LOCATELLI, D.; STOCO, P. H.; DE QUEIROZ, A. T.; ALCÂNTARA, L. C.; FERREIRA, L. G.; ZANETTI, C. R.; RODRIGUES, R.; GRISARD, E. C.; PINTO, A. R. Molecular Epidemiology of HIV-1 in Santa Catarina State confirms increases of Subtype C in Southern Brazil. **Journal of Medical Virology**, [S.l.], v. 79, p. 1455-63, 2007.

MCMICHAEL, A.; BORROW, P.; TOMARAS, G. D. et al. The immune response during acute HIV-1 infection: clues for vaccine development. **Nature Reviews**, [S.l.], v. 10, p. 11-23, 2010.

MILLER, L. E. Laboratory Diagnosis of HIV Infection. In: STEVENS, C.D. **Clinical immunology and serology: a laboratory perspective**. Philadelphia: F.A. Davis Company, 2010. 476 p. 3. ed.

MONTEIRO, J. P.; ALCANTARA, L. C.; DE OLIVEIRA, T.; OLIVEIRA, A. M.; MELO, M. A.; BRITES, C.; GALVÃO-CASTRO, B. Genetic variability of human immunodeficiency virus-1 in Bahia state, Northeast, Brazil: high diversity of HIV genotypes. **Journal of Medical Virology**, [S.l.], v.81, n. 3, p. 391-9, 2009.

MORGADO, M. G.; GUIMARÃES, M. L.; GALVÃO-CASTRO, B. HIV-1 polymorphism: a challenge for vaccine development - a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S.l.], v. 97, n. 2, p.143-50, 2002.

MURPHY, G.; AITKEN, C. HIV testing-The perspective from across the pond. **Journal of Clinical Virology**, [S.l.], v. 52, Supp. 1, p. S71-S76, 2011.

OU, C. Y.; FISCUS, S.; ELLENBERGER, D.; PAREKH, B.; KORHONEN, C.; NKENGASONG, J.; BULTERYS, M. Early diagnosis of HIV infection in the breastfed infant. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, [S.l.], v. 743, p. 51-65, 2012.

OU, C. Y.; YANG, H.; BALINANDI, S.; SAWADOGO, S.; SHANMUGAM, V.; TIH, P. M.; ADJE-TOURE, C.; TANCHU, S.; YA, L. K.; BULTERYS, M.; DOWNING, R.; NKENGASONG, J. N. Identification of HIV-1 infected infants and young children using real-time RT PCR and dried blood spots from Uganda and Cameroon. **Journal of Virological Methods**, [S.l.], v. 144, n.1-2, p.109-114, 2007.

OWEN, S. M. Testing for acute HIV infection: implication for treatment as prevention. **Current Opinion**, [S.l.], v. 7, n. 2, 2012.

PILCHER, C. D.; EATON, L.; KALICHMAN, S.; BISOL, C.; DE SOUZA, R. D. A. S. Approaching "HIV elimination": interventions for acute HIV infection. **Current HIV/AIDS Report**, [S.l.], v. 3, n. 4, p.160-168, 2006.

PIRES, I. L.; SOARES, M. A.; SPERANZA, F. A.; ISHII, S. K.; VIEIRA, M. C.; GOUVÊA, M. I.; GUIMARÃES, M. A.; DE OLIVEIRA, F. E.; MAGNANINI, M. M.; BRINDEIRO, R. M.; TANURI, A. Prevalence of human immunodeficiency virus drug resistance mutations and subtypes in drugnaive, infected individuals in the army health service of Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, [S.l.], v. 42, n. 1, p. 426-30, 2004.

SÁEZ-CIRIÓN, A.; PANCINO, G. HIV controllers: a genetically determined or inducible phenotype. **Immunological Reviews**, [S.l.], v. 254, p. 281-94, 2013.

SIMON, V.; HO, D. D. HIV-1 dynamics in vivo: implications for therapy. **Nature Reviews Microbiology**, [S.l.], v. 1, p. 181-190, 2003.

SOARES, E. A.; SANTOS R.P.; PELLEGRINI J.A.; SPRINZ E.; TANURI A.; SOARES M.A. Epidemiologic and molecular characterization of human immunodeficiency virus type 1 in southern Brazil. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndrome**, [S.l.], v. 34, n. 5, p. 520-6, 2003.

STEFANI, M. M.; PEREIRA, G. A.; LINS, J. A.; ALCANTARA, K. C.; SILVEIRA, A. A.; VIEGAS, A. A.; MAYA, N. C.; MUSSI, A. H. Molecular screening shows extensive HIV-1 genetic diversity in Central West of Brazil. **Journal of Clinical Virology**, [S.l.], v. 39, n. 3, p. 205-9, 2007.

UNAIDS/WHO Working Group on Global HIV/AIDS/STI Surveillance. **Guidelines for using HIV testing technologies in surveillance: selection, evaluation and implementation, 2009 update**. Geneva, World Health Organization, 2009.

VERAS, N. M. C. **História Evolutiva do HIV-1 no Brasil**. 2010. 228 f. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) - Universidade de Brasília, Brasília. 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10482/7430>>. Acesso em: 19 nov. 2013.

WATTS, J. M.; DANG, K. K.; GORELICK, R. J.; LEONARD, C. W.; BESS JR, J. W.; SWANSTROM, R.; BURCH, C. L.; WEEKS, K. M. Architecture and secondary structure of an entire HIV-1 RNA genome. **Nature**, [S.l.], v. 460, n. 7256, p. 711-6, 2009.

ZACHARIAS, N. M.; ATHANASSAKI, I. D.; SANGI-HAGHPEYKAR, H.; GARDNER, M. O. High false-positive rate of human immunodeficiency virus rapid serum screening in a predominantly hispanic pre-natal population. **Journal of Perinatology**, [S.l.], v. 24, p. 743-747, 2004.

Glossário^G

(Todas as palavras presentes neste glossário aparecerem pela primeira vez no texto em negrito, com a letra G sobrescrita).

Amostra biológica ou amostra do paciente: porção de fluido corporal, células ou tecido retirada de um indivíduo para exame, estudo ou análise.

Anticorpo: proteína (imunoglobulina), produzida por linfócitos B, que se liga especificamente a uma substância reconhecida como estranha pelo organismo.

Antígeno: qualquer substância ou material que possa estimular a produção de anticorpos em um organismo.

Carga viral do HIV: quantificação das partículas virais no plasma (HIV RNA). Conhecida também como teste molecular quantitativo para o HIV.

Controladores de elite: (do inglês, *elite controllers*) pessoas que têm a infecção pelo HIV, apresentam anticorpos detectados pelos testes sorológicos e, mesmo não estando em tratamento antirretroviral, apresentam consistentemente (por pelo menos um ano) carga viral inferior ao limite de detecção dos ensaios rotineiramente utilizados. Estima-se que menos de 1% dos pacientes HIV-1 soropositivos pertença a esse grupo.

Especificidade clínica ou especificidade diagnóstica: refere-se à capacidade de um ensaio apresentar resultado negativo ou não reagente quando os indivíduos não apresentam uma desordem clínica ou doença.

Falso-não reagente: resultado não reagente em um teste para uma doença ou condição quando a doença ou condição de interesse está presente.

Falso-reagente: resultado reagente em um teste para uma doença ou condição quando a doença ou condição de interesse está ausente.

Fase eclipse: intervalo de tempo entre a infecção pelo HIV e a primeira detecção por meio de um ensaio virológico ultrasensível.

Fluido crevicular gengival: líquido encontrado no sulco gengival, contendo proteínas plasmáticas e anticorpos. É obtido pressionando a gengiva acima dos dentes.

Fluido oral: denominação popular de fluido crevicular gengival.

HIV-1 grupo M: HIV-1 pertencente ao grupo M (do inglês, *Major*).

HIV-1 grupo N: HIV-1 pertencente ao grupo N (do inglês, *non-M, non-O*).

HIV-1 grupo O: HIV-1 pertencente ao grupo O (do inglês, *Outlier*).

HIV-1 grupo P: HIV-1 pertencente ao grupo P.

Imunoensaio: método que detecta a presença de um complexo antígeno-anticorpo em uma amostra biológica.

Imunosilenciosos: (do inglês, *immunosilents*) pessoas infectadas pelo HIV que possuem níveis baixos ou mesmo ausência de anticorpos específicos e, dessa forma, não são detectados nos testes sorológicos.

Infecção aguda pelo HIV: caracteriza-se pela detecção de RNA do HIV ou do antígeno p24 no sangue do indivíduo, anterior à detecção de anticorpos anti-HIV. A definição do período de infecção aguda é dependente da sensibilidade do HIV-1 RNA ou um ensaio de antígeno p24 utilizado para detectar a viremia e do teste de anticorpos utilizados para a detecção de soroconversão.

Infecção crônica pelo HIV: fase da infecção após a completa maturação da resposta dos anticorpos. Geralmente ocorre entre 6 e 12 meses após a soroconversão e se estende até o período em que é definida a síndrome da imunodeficiência adquirida.

Infecção recente pelo HIV: fase entre o surgimento de anticorpos em quantidade detectável por um teste sorológico até a completa maturação da resposta dos anticorpos.

Janela clínica ou janela aguda ou período de incubação: termos relacionados que definem o período entre o momento da infecção e o aparecimento dos sintomas e/ou sinais clínicos.

Janela de soroconversão ou janela imunológica ou janela sorológica: duração do período entre a infecção pelo HIV até a primeira detecção de anticorpos anti-HIV, a qual inclui a fase aguda e a fase eclipse (aguda + eclipse).

Janela diagnóstica: conceito mais amplo do que o de janela imunológica ou sorológica. O período de janela diagnóstica é o tempo decorrido entre a infecção e o aparecimento ou detecção de um marcador da infecção, seja ele RNA viral, DNA pró-viral, antígeno p24 ou anticorpo. A duração desse período depende do tipo do teste, da sensibilidade do teste e do método utilizado para detectar o marcador.

Limite de detecção: menor concentração ou quantidade que um método pode detectar com certeza para um dado procedimento analítico. Ele depende da amplitude da leitura do branco e da precisão dessa medida.

Não reagente: em que não há reação; não reativo. Determina a ausência do elemento pesquisado.

Padrão-ouro: referência padrão que se utiliza para comparar um material ou processo, visando a melhor aproximação da verdade ou valor verdadeiro.

Populações-chave: pessoas que apresentam risco acrescido à infecção pelo HIV, quando comparadas com a população geral.

Populações vulneráveis: pessoas e grupos mais susceptíveis à infecções e adoecimentos do que outras, uma vez que dispõem de menores possibilidades de se proteger ou se prevenir.

Prevalência: número total de casos existentes de uma doença ou condição clínica (novos e antigos) de uma população em um determinado local e período de tempo.

Reagente: em que há reação; reativo. Determina a presença do elemento pesquisado.

Relação DO/CO: nos testes imunoenzimáticos, o valor da relação DO/CO é o resultado da divisão da densidade ótica (obtida com a amostra teste) pelo ponto de corte do teste (determinado pelo fabricante). Outros testes para HIV como, por exemplo, metodologias ELFA e quimioluminescência têm leitura em sistemas diferentes de densidade ótica; nesses casos, utiliza-se a expressão S/CO (S = amostra, do inglês *sample*).

Resposta imune celular: também denominada imunidade mediada por células, caracteriza-se pela reação imunológica específica mediada por linfócitos T.

Resposta imune humoral: refere-se à resposta imune envolvendo a produção de anticorpos em resposta a um estímulo do antígeno.

Resposta imune primária: resposta imune resultante do primeiro encontro com o antígeno, que se caracteriza pela produção de IgM.

Resposta imunológica inata: também denominada imunidade inata, caracteriza-se por mecanismo de defesa inicial contra infecções. Inclui células fagocíticas, células NK (do inglês, *natural killer*), células dendríticas, complemento, citocinas e quimiocinas.

Sensibilidade clínica ou sensibilidade diagnóstica: refere-se à capacidade de um ensaio apresentar resultado positivo ou reagente quando o indivíduo apresenta uma desordem clínica ou doença.

Síndrome da imunodeficiência adquirida (aids): síndrome clínica caracterizada por profunda imunodepressão decorrente da infecção pelo HIV. A definição clínica de início da aids é o aparecimento de infecções oportunistas e/ou neoplasias. Desde 1993, a aids também pode ser definida por critério laboratorial da contagem de linfócitos T CD4+.

Teste de triagem ou teste inicial: primeiro teste realizado para identificar possíveis pessoas infectadas pelo HIV.

Teste molecular qualitativo para o HIV: método de diagnóstico do HIV que detecta a presença ou ausência do vírus (RNA ou DNA-pró-viral) na amostra analisada.

Teste molecular quantitativo para o HIV: método que permite quantificar a carga viral do HIV em determinada amostra.

Teste rápido: dispositivo de teste de uso único, que não depende de infraestrutura laboratorial e que produz resultado em tempo igual ou inferior a 30 minutos.

Testes complementares: ensaios utilizados em um fluxograma após a realização de um teste para verificar ou esclarecer o resultado inicial.

Testes confirmatórios: testes ou conjuntos de testes que definem o diagnóstico de uma amostra.

Valor preditivo negativo: proporção de indivíduos com um resultado negativo em um teste e que não apresentam a doença ou condição de interesse. Esse valor, normalmente, é apresentado em porcentagem.

Valor preditivo positivo: proporção de indivíduos com um resultado positivo em um teste e que apresentam a doença ou condição de interesse. Esse valor, normalmente, é apresentado em porcentagem.

Vírião: partícula viral completa que está estruturalmente intacta e é infecciosa.

