

MINISTÉRIO DA SAÚDE

MANUAL TÉCNICO PARA O
**DIAGNÓSTICO DA
INFECÇÃO PELO
HIV EM ADULTOS
E CRIANÇAS**



Brasília - DF
2018

MINISTÉRIO DA SAÚDE
Secretaria de Vigilância em Saúde
Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções
Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais

MANUAL TÉCNICO PARA O DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO HIV EM ADULTOS E CRIANÇAS



Brasília - DF
2018



Tiragem: 4ª edição – 2018 – 1.000 exemplares

Elaboração, distribuição e informações:

MINISTÉRIO DA SAÚDE
Secretaria de Vigilância em Saúde
Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais
SRTVN, Quadra 701, lote D, Edifício PO700, 5º andar
CEP: 70719-040 – Brasília/DF

Edição:

Assessoria de Comunicação (ASCOM)

Revisão:

Angela Gasperin Martinazzo

Capa e projeto gráfico:

Milena Hernández

Diagramação:

Fernanda Almeida

Organização:

Adele Schwartz Benzaken
Ana Flávia Nacif P. Coelho Pires
José Boullosa Alonso Neto
Miriam Franchini
Nazle Mendonça Collaço Veras

Revisão:

Ester Cerdeira Sabino
Maria Inês de Moura Pardini
Maria Tereza Magalhães Moraes
Mariza Gonçalves Morgado
Roberta Barbosa Lopes Francisco
Rodrigo Ribeiro Rodrigues

Colaboradores:

Elvira Lúcia Soares
Mariana Villares
Regina Aparecida Comparini

Revisão da 1ª edição (maio/2014):

Dennis Armando Bertolini
José Boullosa Alonso Neto
Leonardo Rapone da Motta

Maria Inês de M. C. Pardini

Maria Luiza Bazzo

Maria Tereza Magalhães Moraes

Miriam Franchini

Nazle Mendonça Collaço Veras

Orlando da Costa Ferreira Junior

Pamela Cristina Gaspar

Regina Aparecida Comparini

Roberta Barbosa Lopes Francisco

Rodrigo Ribeiro Rodrigues

Revisão da 2ª edição (novembro/2015):

Ana Flávia Nacif P. Coelho Pires

Dennis Armando Bertolini

José Boullosa Alonso Neto

Leonardo Rapone da Motta

Maria Inês de Moura Pardini

Maria Luiza Bazzo

Maria Tereza Magalhães Moraes

Miriam Franchini

Nazle Mendonça Collaço Veras

Orlando da Costa Ferreira Junior

Pamela Cristina Gaspar

Regina Aparecida Comparini

Roberta Barbosa Lopes Francisco

Revisão da 3ª edição (novembro/2016):

Ana Flávia Nacif P. Coelho Pires

Ana Mônica de Mello

Daniela Cristina Soares

Dennis Armando Bertolini

Gil Casimiro

Leonardo Rapone da Motta

Maria Luiza Bazzo

Maria Tereza Magalhães Moraes

Miriam Franchini

Nazle Mendonça Collaço Veras

Orlando da Costa Ferreira Junior

Pamela Cristina Gaspar

Paula Adamy

Regina Aparecida Comparini

Roberta Barbosa Lopes Francisco

Rosana Elisa Gonçalves Gonçalves Pinho

Impresso no Brasil / Printed in Brazil

Ficha Catalográfica

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

Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV em Adultos e Crianças / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. – Brasília : Ministério da Saúde, 2016.

149 p.: il.

ISBN

1. HIV. 2. Diagnóstico. 3. Saúde Pública. I. Título.

CDU

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

Título para indexação:

Technical Manual for the Diagnosis of the HIV Infection in Adults and Children



Lista de figuras

Figura 1. Genoma do HIV-1	23
Figura 2. Ciclo replicativo do HIV-1	25
Figura 3. Representação esquemática da estrutura do HIV-1.....	26
Figura 4. Representação esquemática da classificação do HIV	27
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	36
Figura 6. Ensaio imunoenzimático indireto do tipo ELISA (do inglês enzyme-linked immunosorbent assay).....	38
Figura 7. Ensaio imunoenzimático “sanduíche” ou imunométrico de terceira geração do tipo ELISA (do inglês enzyme-linked immunosorbent assay).....	40
Figura 8. Ensaio imunoenzimático “sanduíche” ou imunométrico de quarta geração do tipo ELISA (do inglês Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)	41
Figura 9. Exemplos de testes rápidos (TR) para HIV	42
Figura 10. Exemplos de testes rápidos (TR) reagentes ^G para HIV	42
Figura 11. Exemplos de testes rápidos (TR) não reagentes para HIV	43
Figura 12. Reação de western blot	48
Figura 13. Estágios da infecção recente pelo HIV-1 definidos com base no padrão de reatividade de diferentes ensaios laboratoriais.....	51
Figura 14. Fluxograma 1 – Dois testes rápidos (TR1 e TR2) realizados em sequência com amostras de sangue	67
Figura 15. Fluxograma 2 – Um teste rápido utilizando fluido oral (TR1-FO) seguido por um teste rápido utilizando sangue (TR2)	74
Figura 16. Fluxograma 3 – Imunoensaio de 4 ^a geração seguido de teste molecular como teste complementar	80
Figura 17. Fluxograma 4 – Imunoensaio de 3 ^a geração seguido de teste molecular como teste complementar	89
Figura 18. Fluxograma 5 – Imunoensaio de 3 ^a geração seguido de western blot, imunoblot ou imunoblot rápido como teste complementar	97
Figura 19. Fluxograma 6 – Imunoensaio de 4 ^a geração seguido de western blot, imunoblot ou imunoblot rápido como teste complementar	106
Figura 20 – Procedimento para envio de amostra com suspeita de HIV-2 para laboratório de referência	120



Tabelas

Tabela 1. Principais proteínas do HIV com importância diagnóstica.....	26
Tabela 2. Características de desempenho, sensibilidade e especificidade dos testes rápidos para HIV estabelecidas pelo DIAHV	46
Tabela 3. Parâmetros de desempenho e critérios de pontuação dos testes rápidos para HIV estabelecidos pelo DIAHV	46
Tabela 4. Classificação de Fiebig para estagiamento laboratorial da infecção recente pelo HIV	52
Tabela 5. Resumo do Fluxograma 1 – Dois testes rápidos (TR1 e TR2) realizados em sequência com amostras de sangue.....	72
Tabela 6. Resumo do Fluxograma 2 – Um teste rápido utilizando fluido oral (TR1-FO) seguido por um teste rápido utilizando sangue (TR2)	78
Tabela 7. Resumo do Fluxograma 3 – Imunoensaio de 4ª geração seguido de teste molecular como teste complementar.....	86
Tabela 8. Resumo do Fluxograma 4 – Imunoensaio de 3ª geração seguido de teste molecular como teste complementar.....	94
Tabela 9. Resumo do Fluxograma 5 – Imunoensaio de 3ª geração seguido de western blot, imunoblot ou imunoblot rápido como teste complementar....	102
Tabela 10. Resumo do Fluxograma 6 – Imunoensaio de 4ª geração seguido de western blot, imunoblot ou imunoblot rápido como teste complementar....	111

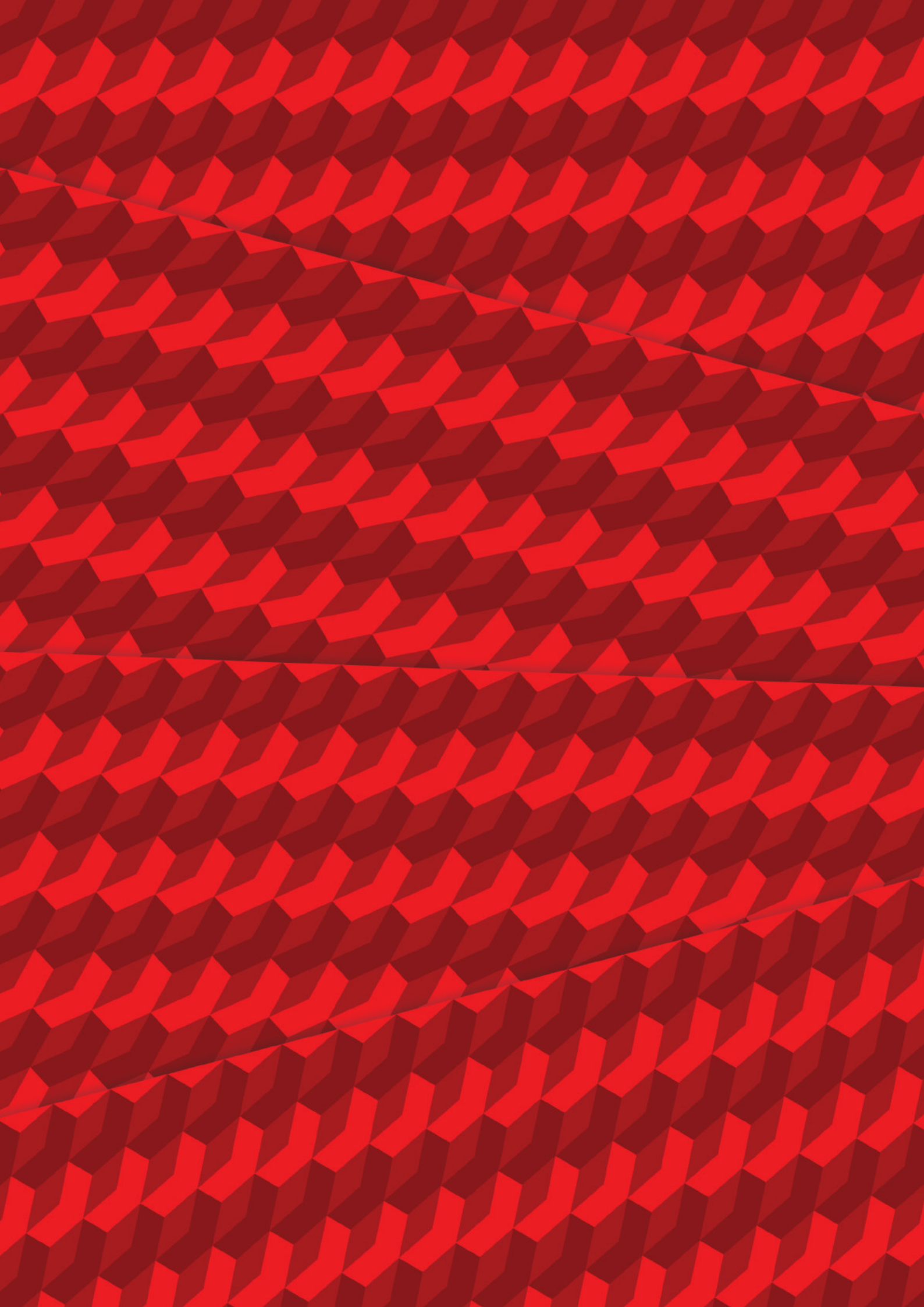


Lista de abreviaturas

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
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>)
DIAHV	Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais
DNA	ácido desoxirribonucleico (do inglês <i>deoxyribonucleic acid</i>)
DO	densidade ótica
DOE	desempenho operacional do ensaio
DPP	plataforma de duplo percurso (do inglês <i>dual path platform</i>)
EA	eventos adversos
Env	envelope
FO	fluido oral
G	glossário

Gag	antígeno grupo específico (do inglês <i>group-specific antigen</i>)
Gp	glicoproteína
GPQG	motivo presente na alça V3 da gp120 do envelope viral, principalmente em subtipos não B do HIV-1 (G, glicina; P, prolina; Q, glutamina)
GPGR	motivo presente na alça V3 da gp120 do envelope viral do HIV-1 (G, glicina; P, prolina; R, arginina)
GWGR	variante brasileira do motivo GPGR presente na alça V3 da gp120 do envelope viral do HIV-1 (G, glicina; W, triptofano; R, arginina)
HIV	vírus da imunodeficiência humana (do inglês <i>human immunodeficiency virus</i>)
IB	imunoblot
IBR	imunoblot rápido
IE	imunoensaio
IE3 ^a G	imunoensaio de terceira geração
IE4 ^a G	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
ONG	organização não governamental

OSC	organização da sociedade civil
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
TARV	terapia antirretroviral
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	teste rápido inicial
TR2	teste rápido complementar
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

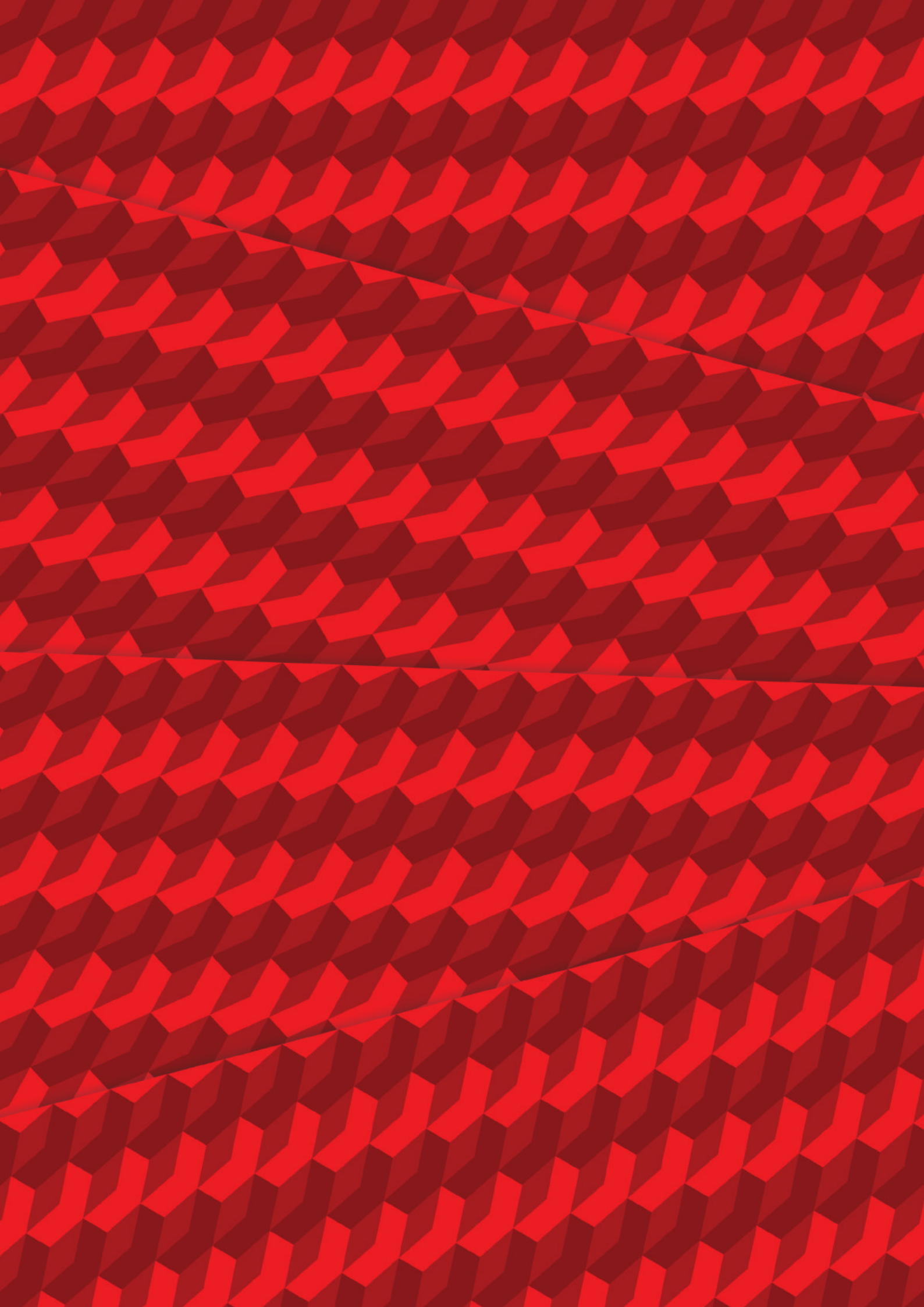




Sumário

APRESENTAÇÃO DA 4ª EDIÇÃO	13
APRESENTAÇÃO DA 3ª EDIÇÃO	15
APRESENTAÇÃO DA 2ª EDIÇÃO	17
APRESENTAÇÃO DA 1ª EDIÇÃO	19
1. INTRODUÇÃO	21
2. A ESTRUTURA DO HIV	23
2.1 Classificação filogenética do HIV	26
2.2 Subtipos do HIV-1	28
3. INFECÇÃO E RESPOSTA IMUNE CONTRA O HIV	31
4. DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO HIV	35
4.1 Imunoensaio	37
4.1.1 Primeira geração	37
4.1.2 Segunda geração	38
4.1.3 Terceira geração	39
4.1.4 Quarta geração	40
4.2 Testes rápidos (TR)	42
4.2.1 Situações e locais em que o Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais recomenda a utilização de testes rápidos	44
4.3 Testes complementares	47
4.4 Diagnóstico por detecção direta do HIV	49
4.5 Diagnóstico utilizando amostras de sangue seco em papel-filtro	49
5. SISTEMA DE ESTAGIAMENTO LABORATORIAL DA INFECÇÃO RECENTE PELO HIV – CLASSIFICAÇÃO DE FIEBIG	51
5.1 Estágios da infecção recente	51
5.2 Limitações do modelo de Fiebig	53
6. FALHAS E ERROS NO DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO HIV	57
6.1 Fatores relacionados à obtenção de resultados falso-reagentes	58
6.2 Fatores relacionados à obtenção de resultados falso-não reagentes	58
6.3 Falhas na execução de testes rápidos	59

7. TECNOVIGILÂNCIA.....	63
8. FLUXOGRAMAS PARA A TESTAGEM DA INFECÇÃO PELO HIV.....	65
8.1 Estratégias para o diagnóstico da infecção pelo HIV empregando testes rápidos.....	66
8.1.1 Fluxograma 1 – Dois testes rápidos (TR1 e TR2) realizados em sequência com amostras de sangue	66
8.1.2 Fluxograma 2 – Um teste rápido utilizando fluido oral (TR1-FO) seguido por um teste rápido utilizando sangue (TR2)	74
8.2 Estratégias para o diagnóstico da infecção pelo HIV em laboratórios.....	79
8.2.1 Fluxograma 3 – Imunoensaio de 4ª geração seguido de teste molecular como teste complementar	79
8.2.2 Fluxograma 4 – Imunoensaio de 3ª geração seguido de teste molecular como teste complementar.....	88
8.2.3 Fluxograma 5 – Imunoensaio de 3ª geração seguido de western blot, imunoblot ou imunoblot rápido como teste complementar	96
8.2.4 Fluxograma 6 – Imunoensaio de 4ª geração seguido de western blot, imunoblot ou imunoblot rápido como teste complementar	105
9. ESTRATÉGIAS PARA IDENTIFICAÇÃO PRECOCE DA INFECÇÃO PELO HIV EM CRIANÇAS MENORES DE 18 MESES	115
10. SITUAÇÕES ESPECIAIS DO DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO HIV	117
10.1 Recomendações para o diagnóstico de infecção aguda pelo HIV-1	117
10.2 Recomendações para o diagnóstico da infecção pelo HIV-2	118
10.2.1 Testagem para HIV-2 em caso de suspeita epidemiológica.....	118
10.2.2 Outros casos de suspeita de HIV-2.....	118
10.3 Recomendações para o diagnóstico da infecção pelo HIV em gestantes.....	121
REFERÊNCIAS	123
GLOSSÁRIO.....	135
ANEXOS – Modelos de Laudo	141



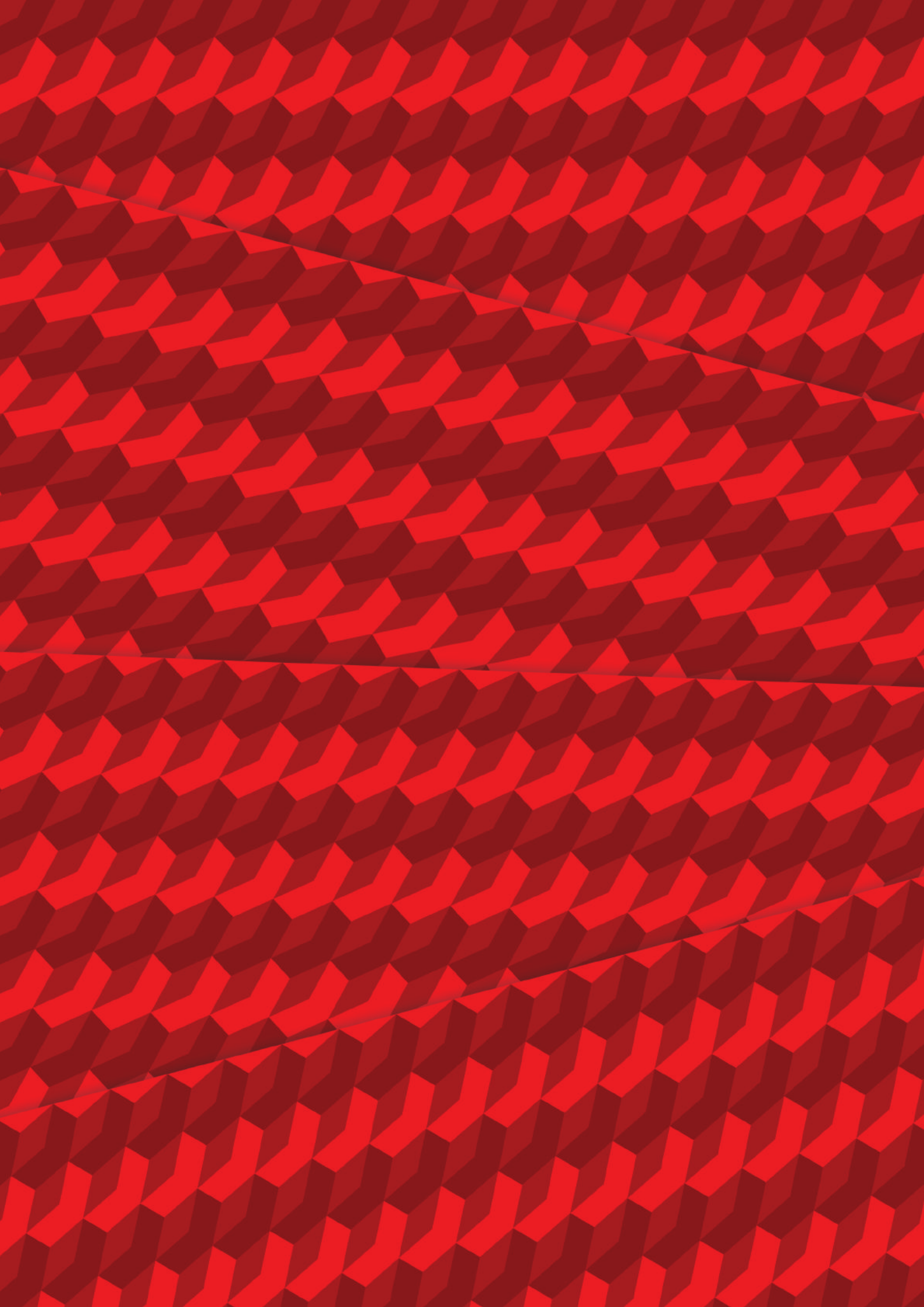


APRESENTAÇÃO DA 4ª EDIÇÃO

A Portaria SVS/MS nº 29, de 17 de dezembro de 2013, que aprova este Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV em adultos e crianças, 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 4ª edição do manual:

- › Atualiza o item 4.2, “Testes rápidos (TR)”, em especial no que se refere às “Situações e locais em que o Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais recomenda a utilização de testes rápidos”;
- › Atualiza o item 6, “Falhas e erros no diagnóstico da infecção pelo HIV”, esclarecendo os principais fatores relacionados à obtenção de resultados falso-reagentes e falso-não reagentes e às falhas na execução de testes rápidos;
- › Atualiza o item 7, “Tecnovigilância”;
- › Aprimora a redação dos procedimentos e considerações para a utilização dos fluxogramas de testagem da infecção pelo HIV-1, trazendo maior detalhamento de cada etapa;
- › Especifica as etapas para testagem presencial e não presencial no Fluxograma 1;
- › Atualiza o Fluxograma 6 (Figura 19);
- › Aprimora a redação das recomendações para o diagnóstico da infecção aguda pelo HIV-1 e da infecção pelo HIV-2;
- › Aprimora a redação do original como um todo, 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.



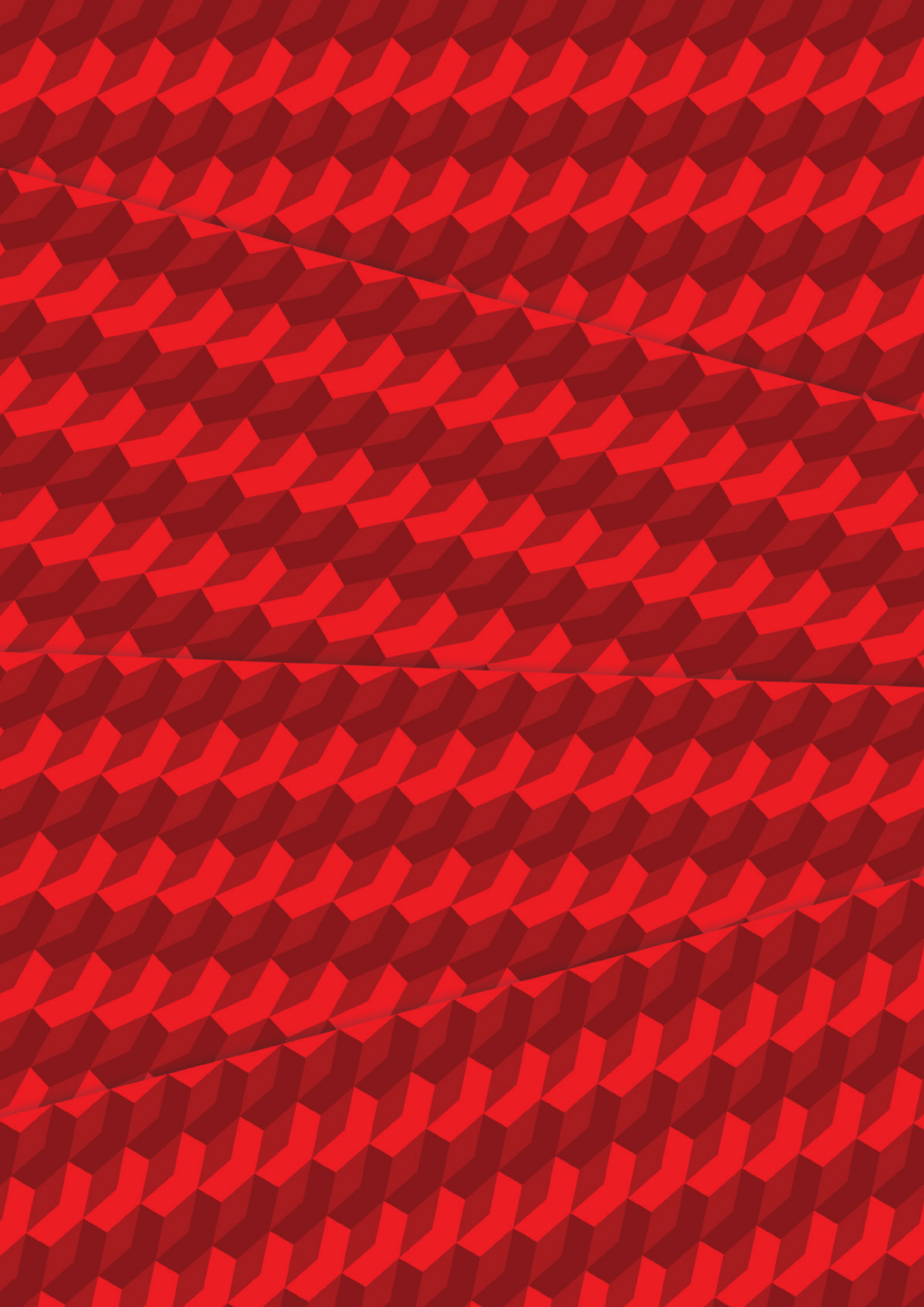


APRESENTAÇÃO DA 3ª EDIÇÃO

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 revisado 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.





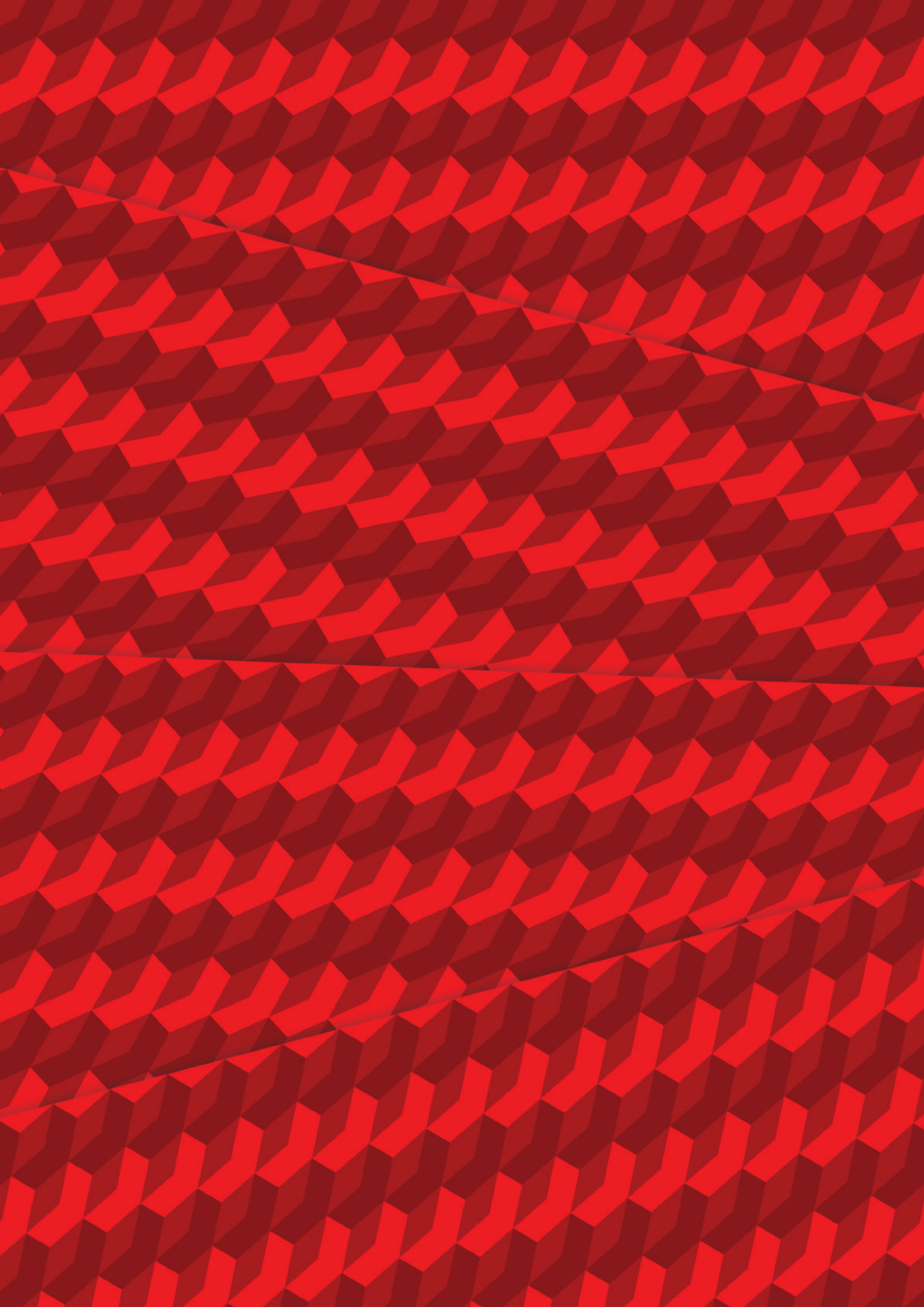
APRESENTAÇÃO DA 2ª EDIÇÃO

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 DA 1ª EDIÇÃO

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.

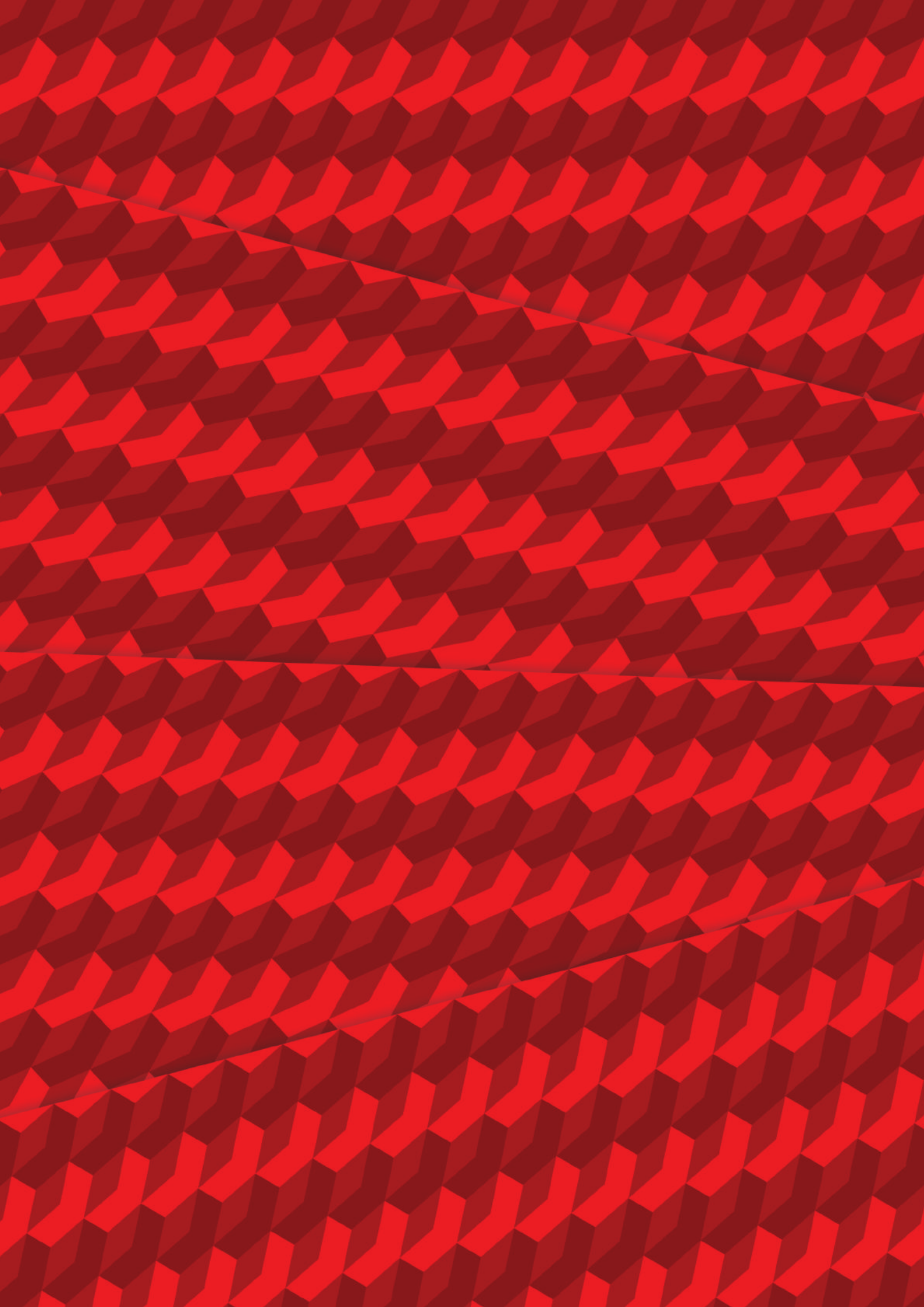
Com o intuito de ampliar as possibilidades de diagnóstico, além de orientar e subsidiar, especialmente, os(as) profissionais de saúde na realização do diagnóstico da infecção pelo HIV, foi elaborado este Manual Técnico.

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@ids.gov.br.

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





1. INTRODUÇÃO

São vários os desafios associados à implementação de novos fluxogramas que visem 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, de custo-efetividade, etc.) até as operacionais (formação de pessoal, validação dos testes e boas práticas de laboratório).

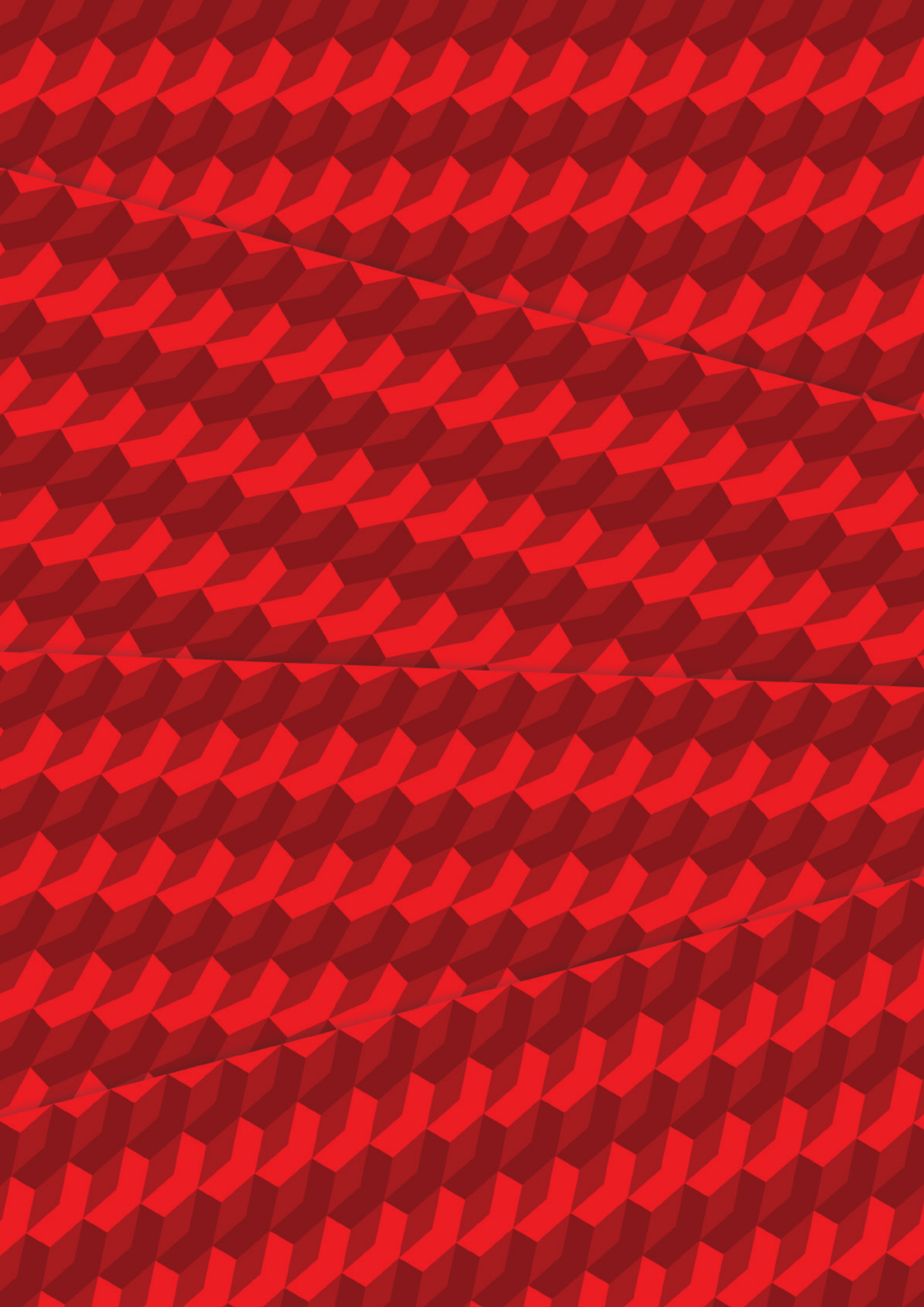
Alguns desafios permanecem constantes: a evolução tecnológica que introduz, periodicamente, novas metodologias no mercado de testes, sua aprovação pelas agências reguladoras e, ainda, sua aceitação para uso na rotina diária do diagnóstico em diferentes situações e instalações.

Resultados indeterminados ou inconclusivos, **falso-reagentes**^G ou **falso-não reagentes**^G, podem surgir 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) são muito úteis para confirmar a presença da infecção pelo HIV. Porém, existe um período de tempo entre a exposição do indivíduo e a detecção do vírus, durante o 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.



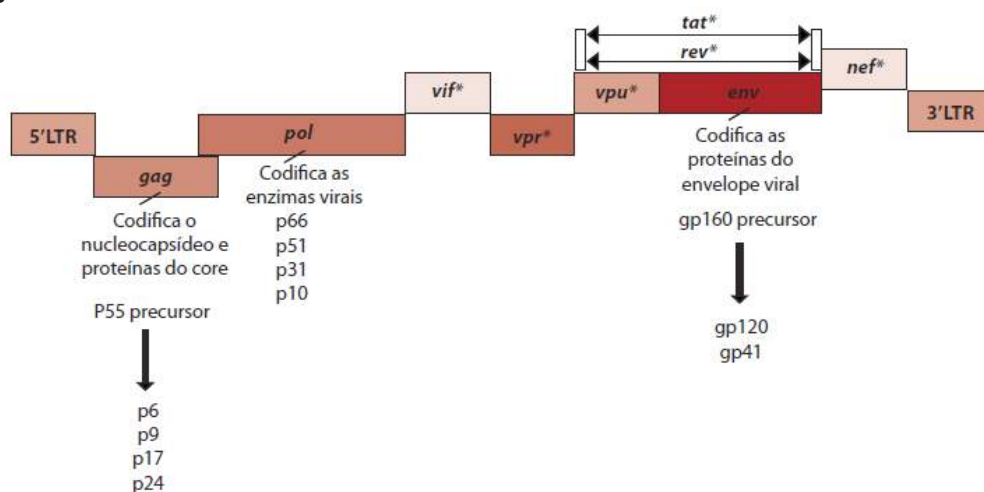


2. A ESTRUTURA DO HIV

O HIV é uma partícula esférica medindo de 100 a 120nm de diâmetro, pertencente ao gênero *Lentivirus* e à família *Retroviridae*, que apresenta em seu núcleo duas cópias de RNA de cadeia simples, encapsuladas por uma camada proteica ou nucleocapsídeo, um capsídeo e um envelope externo composto por uma bicamada fosfolipídica (ICTV, 2017).

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 (FANALES-BELASIO et al., 2010; MILLER, 2010; WATTS et al., 2009).

Figura 1. Genoma do HIV-1



Fonte: adaptado de MILLER, 2010.

*Genes acessórios.

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

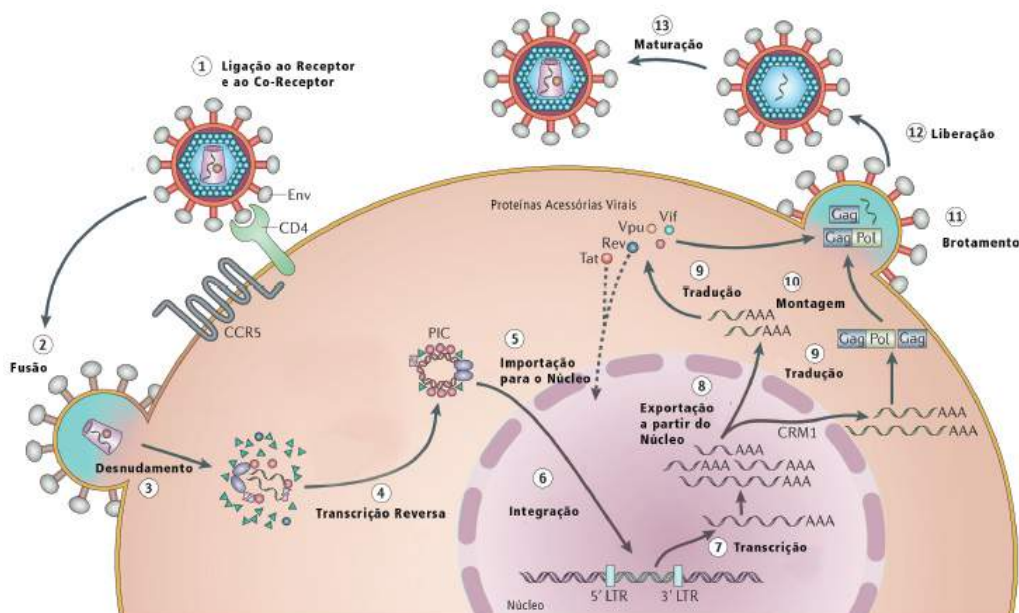
O gene estrutural, *pol*, codifica as enzimas p66 e p51, as quais são subunidades que compõem a enzima transcriptase reversa (RT), necessária à replicação do HIV. Outras enzimas codificadas pelo gene *pol* incluem a integrase (p31), que tem como função principal promover a integração do ácido desoxirribonucleico (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 (FANALES-BELASIO et al., 2010; MILLER, 2010; WATTS et al., 2009; ENGELMAN; CHEREPANOV, 2012).

O gene *env* codifica as glicoproteínas gp160, gp120 e gp41, encontradas no envelope viral. A gp160 é uma proteína precursora, clivada para formar a gp120 e a gp41. A gp120 se projeta na superfície viral na forma trimérica, enquanto a gp41 é uma glicoproteína transmembrana e se associa à gp120. Tanto a gp120 como a gp41 estão envolvidas na ligação aos receptores de HIV nas células do hospedeiro e na fusão do envelope viral com a membrana celular (FANALES-BELASIO et al., 2010; MILLER, 2010; WATTS et al., 2009; ENGELMAN; CHEREPANOV, 2012).

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* 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 (FANALES-BELASIO et al., 2010; MILLER, 2010; WATTS et al., 2009; ENGELMAN; CHEREPANOV, 2012). A Figura 2 ilustra o ciclo replicativo do HIV-1.



Figura 2. Ciclo replicativo do HIV-1



Fonte: adaptado de ENGELMAN; CHEREPANOV, 2012.

PIC: Complexo Pré-Integração; CRM1: manutenção da região do cromossoma 1, Exportin 1; AAA: calda de poliadenina.

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* (NICOLÁS et al., 2015; GUYADER et al, 1987). 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 (CLSI, 2011):

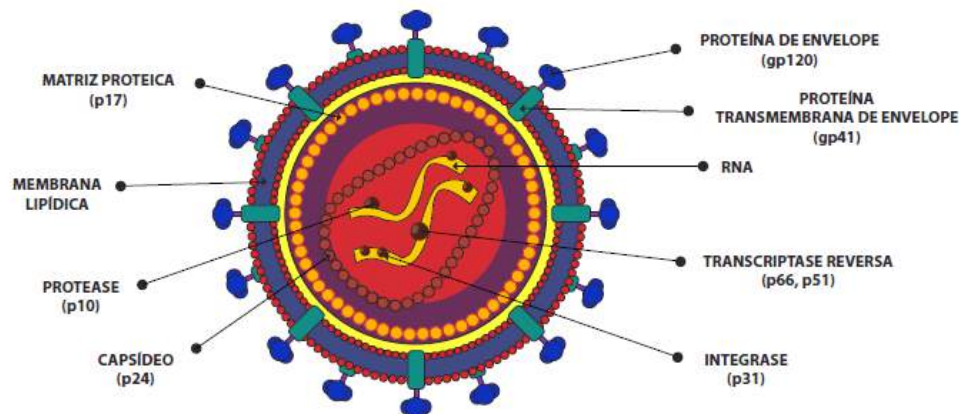
Tabela 1. Principais proteínas do HIV com importância diagnóstica

Genes do HIV	Produtos do HIV	Peso molecular das proteínas e glicoproteínas virais	
		HIV-1	HIV-2
<i>env</i>	Precursor Glicoproteína externa Glicoproteína transmembrana	gp160 gp120 gp41	gp140 gp105/125 gp36
<i>pol</i>	Transcriptase reversa Transcriptase reversa Integrase Protease	p66 p51 p31 p10	p68 p53 p31/34 p10
<i>gag</i>	Precursor Capsídeo Matriz	p55 p24 p17	p56 p26 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) (CLSI, 2011). 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: DIAHV/SVS/MS.

2.1 Classificação filogenética do HIV

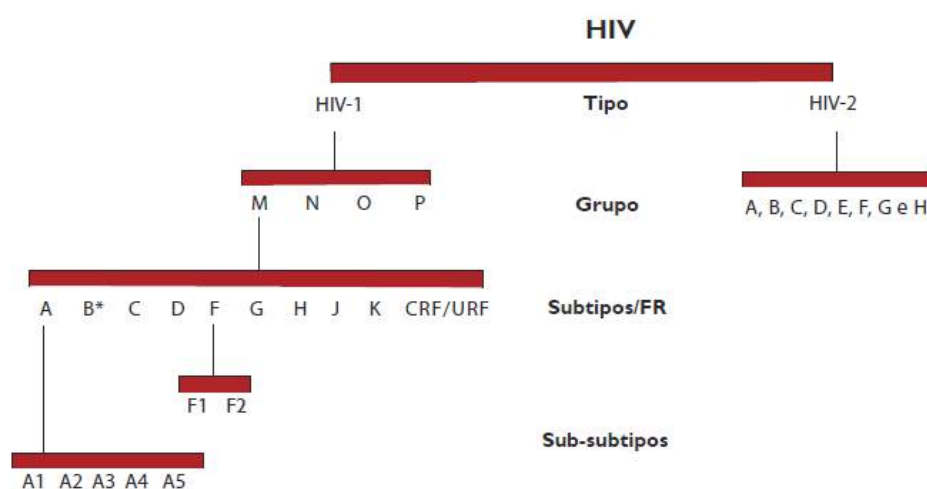
A classificação do HIV é feita por meio da análise filogenética de sequências nucleotídicas dos vírus. A classificação atual é hierárquica e consiste em tipos, grupos, subtipos, sub-subtipos e formas recombinantes (Figura 4). O HIV-1 e o HIV-2 são tipos distintos do vírus, mais distantes filogeneticamente (GERETTI, 2006).

O HIV-1 é subdividido em quatro grupos: **grupo M^G**, **grupo N^G**, **grupo O^G** (o mais divergente dentre os grupos) e **grupo P^G** (PLANTIER et al., 2009). A maioria das infecções



ocorre com HIV-1 do grupo M, que se diferencia 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 (MELONI et al., 2004), A4 (VIDAL et al., 2006), e A6 (LANL, 2017) e em F1 e F2, respectivamente (GERETTI, 2006; OSMANOV et al., 2002). 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, esta passa a ser denominada como CRF (forma recombinante circulante, do inglês *circulating recombinant form*). A lista das CRF existentes pode ser acompanhada no endereço: <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs/CRFs.html>. Formas recombinantes que foram identificadas, mas cuja transmissão é desconhecida ou não relatada, são definidas como URF (forma recombinante única, do inglês *unique recombinant form*) (PEETERS, 2000). 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**^a virais (HEMELAAR et al., 2006).

Figura 4. Representação esquemática da classificação do HIV



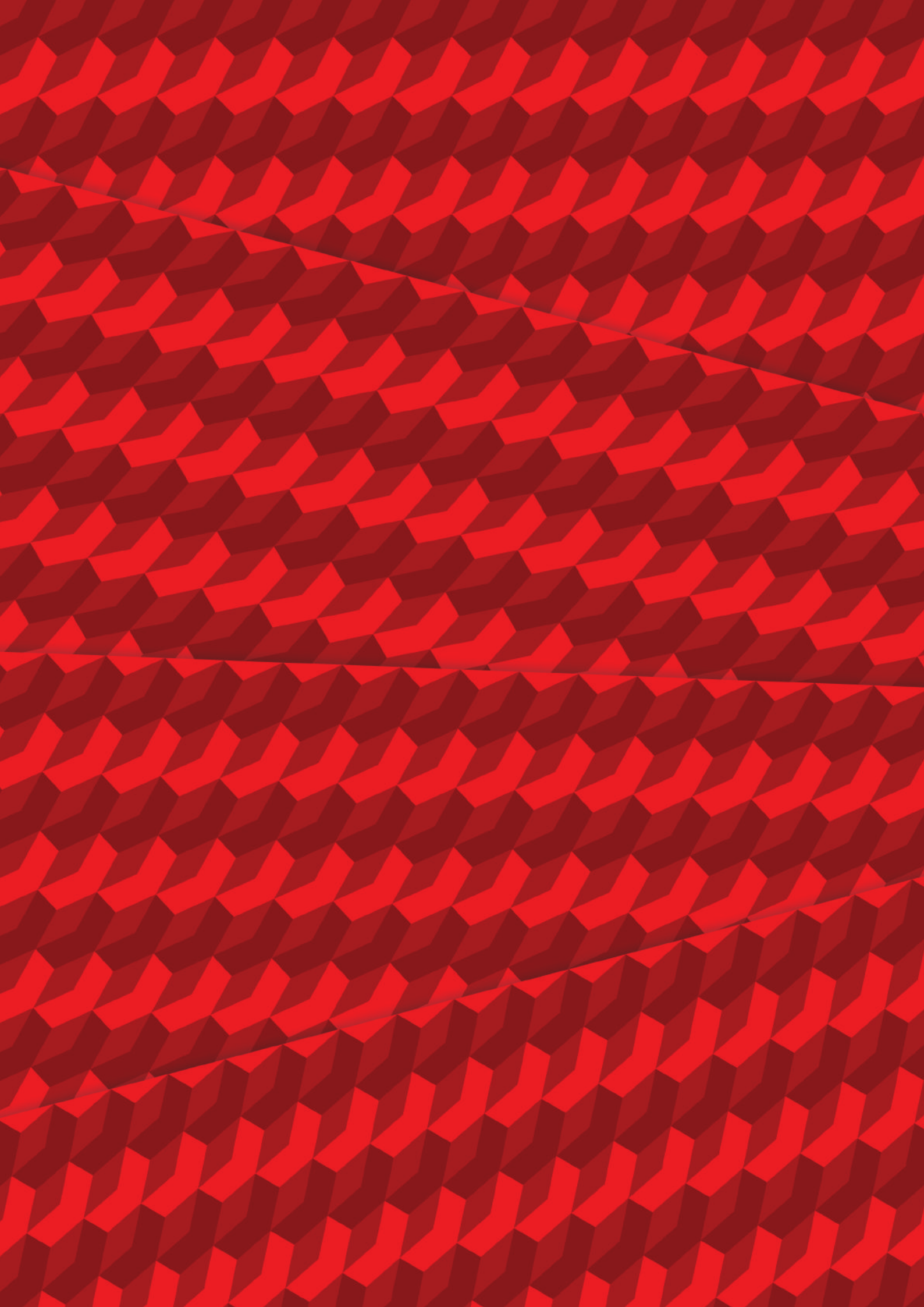
Fonte: DIAHV/SVS/MS.

*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 (HEMELAAR et al., 2011; HEMELAAR et al., 2006). 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 (FONSECA; BASTOS, 2007; VÉRAS et al., 2011; MONTEIRO et al., 2009; BRÍGIDO et al., 2007; CABRAL et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2005; SA-FILHO, 2009; GADELHA et al., 2003; VÉRAS et al., 2007; PIRES et al., 2004). Além da 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 do 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) (MORGADO; GUIMARÃES; GALVÃO-CASTRO, 2002).

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





3. INFECÇÃO E RESPOSTA IMUNE CONTRA O HIV

A maioria das infecções pelo HIV-1 ocorre por meio 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 (MCMICHAEL et al., 2010; KAHN; WALKER, 1998).

Após a transmissão do vírus, há um período de aproximadamente dez dias, denominado **fase eclipse**^G, antes que o RNA viral seja detectável no plasma (MCMICHAEL et al., 2010). 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 (KEELE et al., 2008; SALAZAR-GONZALEZ et al., 2009). 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 (MCMICHAEL et al., 2010).

A partir dessa pequena população de células infectadas, o vírus é disseminado inicialmente para os linfonodos locais e depois sistemicamente, 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+ (MCMICHAEL et al., 2010; KAHN; WALKER, 1998).

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, na ausência de terapia, a lenta e progressiva depleção de linfócitos T-CD4+ e a eventual progressão para a **síndrome da imunodeficiência adquirida**^G (aids) (MCMICHAEL et al., 2010).

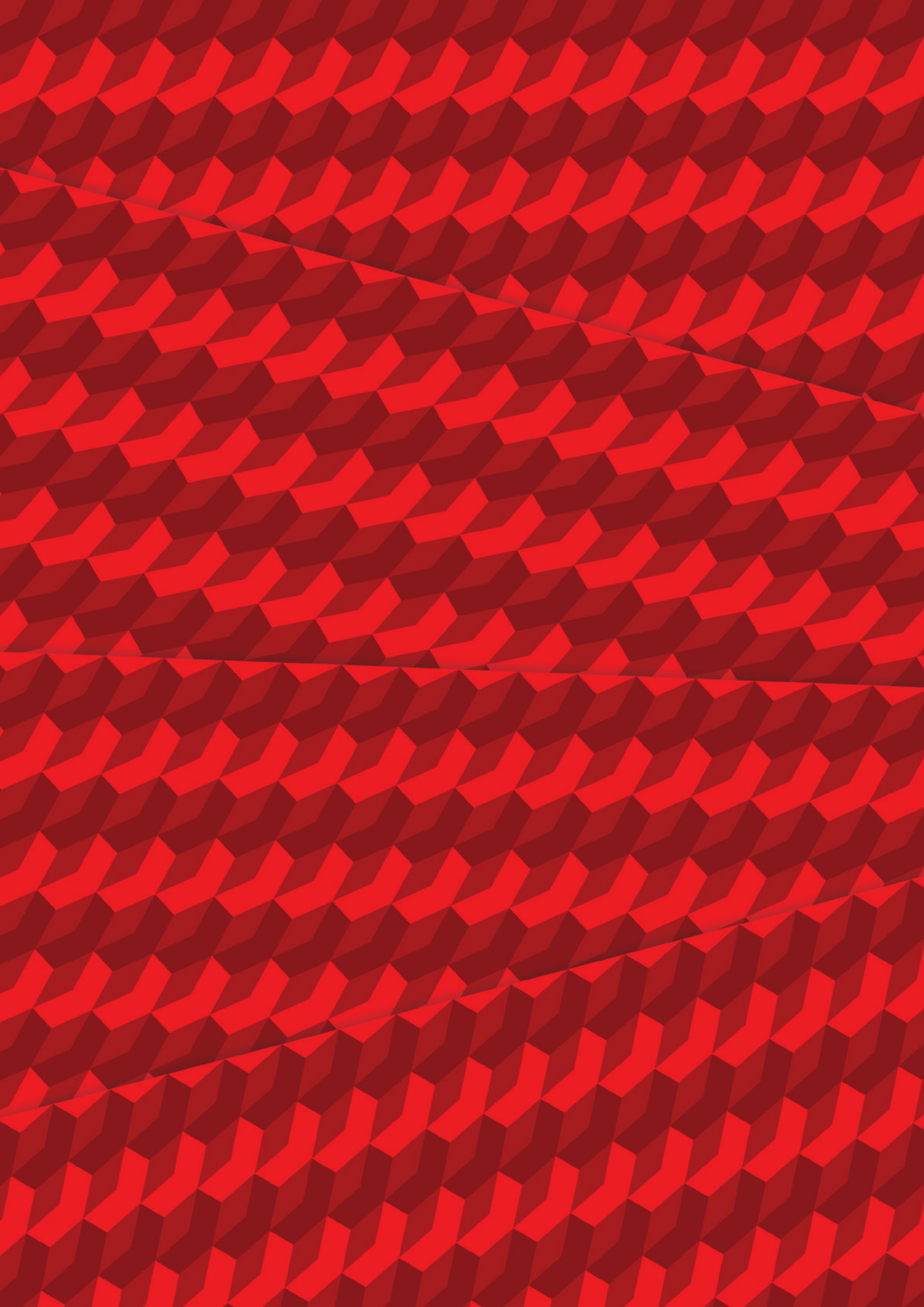
A ativação de linfócitos T-CD8+ específicos contra o HIV ocorre normalmente antes da soroconversão. O aparecimento de uma **resposta imune celular**^G HIV-específica e a subsequente síntese de anticorpos anti-HIV levam a uma queda da **carga viral**^G plasmática (viremia) – até um nível (*set point*) 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**⁶ no controle da replicação viral durante a **infecção aguda**⁶, mas os anticorpos têm um papel relevante na redução da disseminação do HIV na fase crônica da infecção (MCMICHAEL et al., 2010; KAHN; WALKER, 1998; SALAZAR-GONZALEZ et al., 2009).

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 as glicoproteínas do envelope, a gp120 e a gp41, e contra a proteína do capsídeo viral, a p24 (MCMICHAEL, et al., 2010; GANDHI; WALKER, 2002).

Como em qualquer outra infecção viral, a primeira classe de anticorpo produzida durante uma **resposta imune primária**⁶ 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**⁶ de uma **infecção crônica**⁶, 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 (MCMICHAEL, et al., 2010).

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 (MCMICHAEL, et al., 2010).





4. DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO HIV

As estratégias de testagem 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 uma base lógica em fluxogramas, empregamos como referência a classificação de Fiebig et al. (2003), ou seja, um sistema de estagiamento laboratorial da infecção recente pelo HIV (FIEBIG et al., 2003). 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 reduzir o período de **janela diagnóstica**⁶ do HIV (WHO, 2015).

Os **testes complementares**⁶ convencionais (western blot – WB, imunoblot – IB ou imunoblot rápido – IBR) são menos sensíveis que os imunoensaios de 3ª e 4ª gerações, podendo produzir resultados falso-não reagentes. Por isso, são inadequados para a detecção de infecções recentes, e elevam o custo do diagnóstico (CDC, 2014).

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 (CDC, 2014; ROSENBERG et al., 2015).

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

Por outro lado, existem indivíduos, chamados de **controladores de elite**⁶, que mantêm a viremia em um nível baixo e até indetectável em testes moleculares. Nesses casos, o diagnóstico só pode ser realizado mediante a utilização dos testes complementares convencionais (WB, IB e IBR) citados (O'CONNELL; BAILEY; BLANKSON, 2009; GONZALO-GIL; IKEDIABI; SUTTON, 2017).

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 (O'CONNELL; BAILEY; BLANKSON, 2009; GONZALO-GIL; IKEDIABI; SUTTON, 2017; SÁEZ-CIRIÓN; PANCINO, 2013).

É importante observar que, em fluxogramas que utilizam testes moleculares para confirmação, indivíduos controladores de elite e indivíduos não infectados que

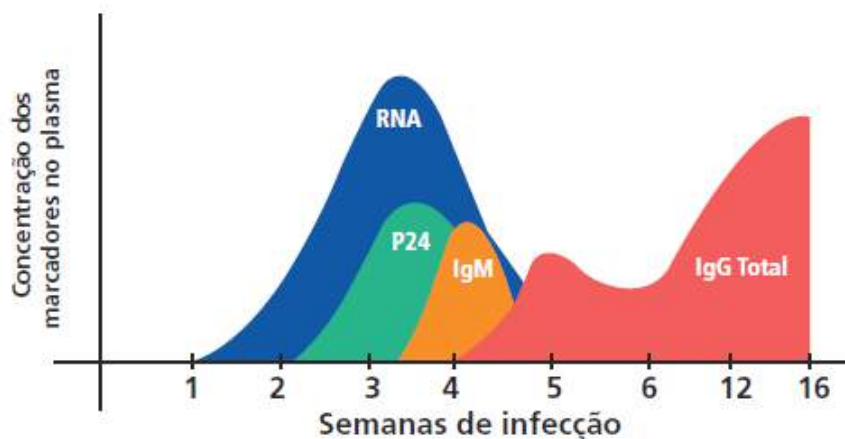
apresentaram resultado falso-reagente no **teste inicial⁶** terão resultado igualmente **não reagente⁶** no teste molecular – TM (**teste molecular qualitativo para o HIV⁶** ou **teste molecular quantitativo para o HIV⁶**). A distinção entre essas duas situações se dará por meio da realização de testes 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 (BUTTÒ et al, 2010). Assim, casos de infecção recente são melhor identificados com a utilização de um teste de 4ª geração como teste inicial e um teste molecular como teste complementar (CDC, 2014).

Os controladores de elite, por sua vez, podem ser identificados com **imunoensaios⁶** (IE) de 3ª ou 4ª geração, seguidos 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 iniciais (3ª ou 4ª geração), seguidos por um teste complementar (WB, IB, IBR ou TM) (ROSENBERG et al, 2015; BUTTÒ et al, 2010). No Brasil, ainda há uma porcentagem considerável de indivíduos diagnosticados na fase crônica da infecção (BRASIL, 2015).

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: adaptado de BRASIL, 2010a.

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 esperado de casos com infecção recente ou aguda é muito pequeno. Considerando ainda a alta sensibilidade dos testes disponíveis, a Organização



Mundial da Saúde (OMS) sugere que, ao estabelecer o fluxograma de testagem para o diagnóstico da infecção pelo HIV, deve-se considerar a prevalência presumida da infecção, seja na população geral ou específica a ser testada. Portanto, a escolha do fluxograma deve sempre levar em consideração a população-alvo da testagem (WHO, 2015).

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, dos hemoderivados e dos órgãos para transplante; para os estudos de vigilância epidemiológica; e para realizar o diagnóstico da infecção pelo HIV (BUTTÒ et al, 2010).

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

4.1 Imunoensaio

Logo após a descoberta do HIV, foram desenvolvidos imunoensaios (IE) para o diagnóstico da infecção. Nas últimas décadas, sucederam-se quatro gerações de IE. Essas gerações foram definidas de acordo com a evolução das metodologias empregadas, a partir do primeiro ensaio disponível comercialmente, no ano de 1985 (OWEN, 2012). As principais características das quatro gerações de IE estão descritas a seguir.

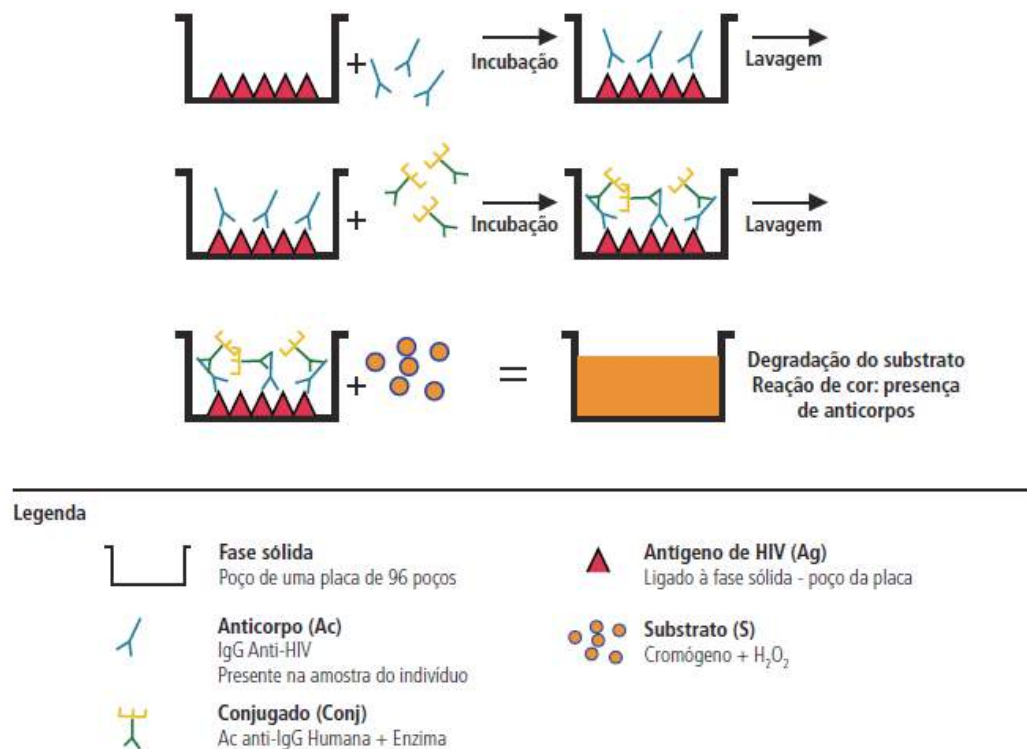
4.1.1 Primeira geração

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 (BUTTÒ, 2010; GUARNER, 2017; ALEXANDER, 2016).

Os antígenos do lisado viral são conseguidos 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 (BUTTÒ et al., 2010; GUARNER, 2017).

Essas características tornam os ensaios de primeira geração pouco específicos e, pelo fato de detectarem apenas IgG, também são menos sensíveis do que os ensaios de gerações posteriores. Em média, a **janela de soroconversão**⁶ dos ensaios de primeira geração é de 35 a 45 dias. Atualmente, esses ensaios deixaram de ser utilizados na rotina diagnóstica dos laboratórios (BUTTÒ et al. 2010; OWEN, 2012; GUARNER, 2017; BOTTONE; BARTLETT, 2017).

Figura 6. Ensaio imunoenzimático indireto do tipo ELISA (do inglês *enzyme-linked immunosorbent assay*)

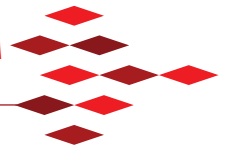


Fonte: adaptado de BRASIL, 2010a.

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 (BUTTÒ et al., 2010; GUARNER, 2017; ALEXANDER, 2016).

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 epítomos imunodominantes relevantes. Em média, a janela de soroconversão dos ensaios de segunda geração é de 25 a 35 dias (BUTTÒ et al., 2010; OWEN, 2012; BOTTONE; BARTLETT, 2017).

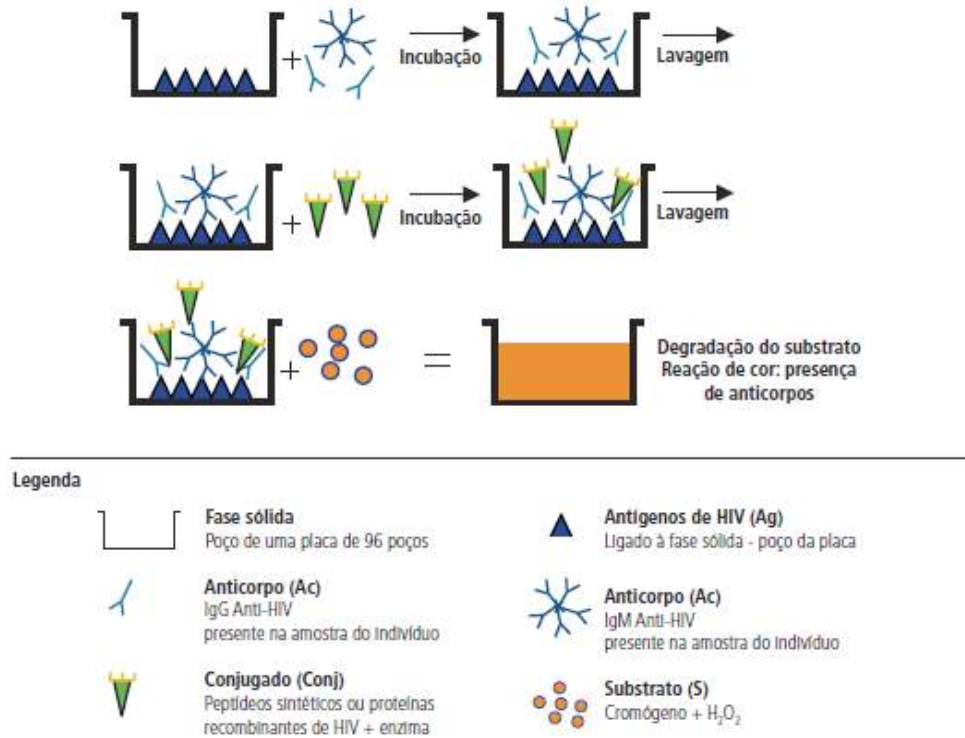
4.1.3 Terceira geração

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 (BUTTÒ et al., 2010; OWEN, 2012; GUARNER, 2017; ALEXANDER, 2016).

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 os outros Fab ficam livres para posteriormente ligarem-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 (BUTTÒ et al., 2010; ALEXANDER, 2016). 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 20 a 30 dias (BUTTÒ et al., 2010; OWEN, 2012; BOTTONE; BARTLETT, 2017). 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*)



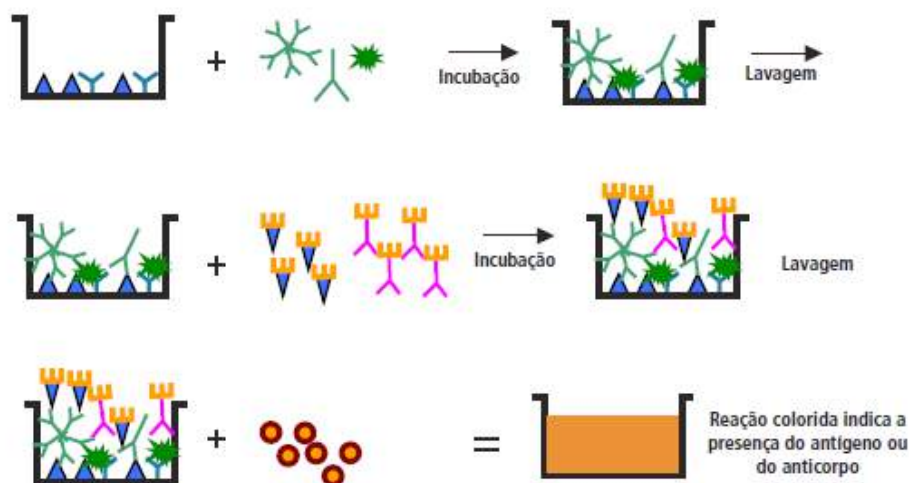
Fonte: adaptado de BRASIL, 2010a.

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 (BUTTÒ et al., 2010; GUARNER, 2017; ALEXANDER, 2016; BOTTONE; BARTLETT, 2017). 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*)



Legenda

	Fase sólida Poço de uma placa de 96 poços		Substrato (S) Cromógeno + H ₂ O ₂
	Anticorpo Anti-p24 Ligado à fase sólida – poço da placa		Anticorpo IgG Anti-HIV (Ac) Presente na amostra do indivíduo
	Antígeno de HIV (Ag) Ligado à fase sólida – poço da placa		Proteína p24 do HIV Presente na amostra do indivíduo
	Anticorpo IgM Anti-HIV (Ac) Presente na amostra do indivíduo		Conjugado (Conj) Antígeno + enzima
	Conjugado (Conj) Anticorpo Anti-p24 ligado à enzima		

Fonte: DIAHV/SVS/MS.

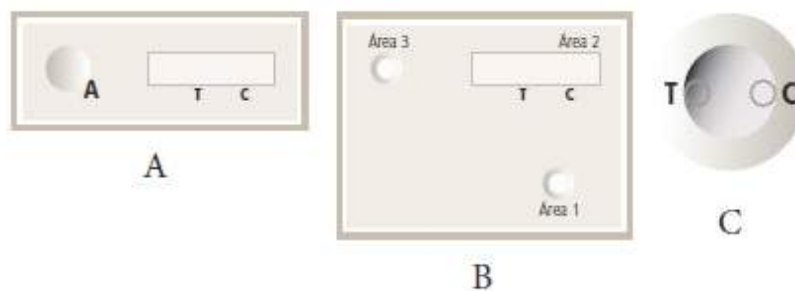
Neste manual, as gerações de imunoenaios estão representadas como testes imunoenzimáticos do tipo ELISA (do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) porque os primeiros testes que surgiram no mercado, de primeira geração, usavam essa metodologia.

Atualmente, outras metodologias estão disponíveis. Para conhecê-las ou revisá-las, recomendamos os cursos do sistema de ensino a distância Telelab do Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais, disponíveis em <http://www.telelab.aids.gov.br>.

4.2 Testes rápidos (TR)

Os **testes rápidos⁶** (TR) são imunoenaios (IE) simples, com resultados em até 30 minutos, realizados preferencialmente de forma presencial (**teste realizado na presença do indivíduo ou presencial⁶**) em ambiente não laboratorial com amostra de sangue total obtida por punção digital ou amostra de **fluido oral⁶**. Por essas características, serão tratados neste manual pela denominação de testes rápidos. Como consequência do desenvolvimento e da disponibilidade de TR, a testagem para a infecção pelo HIV atualmente pode ser realizada em ambientes laboratoriais e não laboratoriais, permitindo ampliar o acesso ao diagnóstico (PEELING; MABEY, 2010; MOHD HANAFIAH; GARCIA; ANDERSON, 2013). Existem vários formatos de TR, e os mais frequentemente utilizados são: dispositivos (ou tiras) de imunocromatografia de fluxo lateral, imunocromatografia de duplo percurso (DPP) e imunoconcentração (BUTTÒ et al., 2010; OWEN, 2012; MOHD HANAFIAH; GARCIA; ANDERSON, 2013) (Figuras 9, 10 e 11).

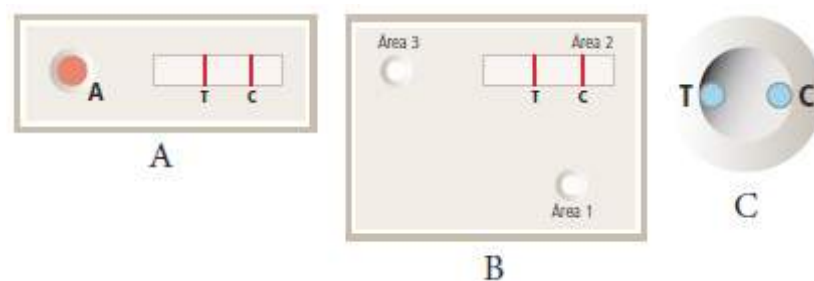
Figura 9. Exemplos de testes rápidos (TR) para HIV



Fonte: adaptado de BRASIL, 2010a.

Notas: (A) imunocromatografia de fluxo lateral, (B) imunocromatografia de duplo percurso – DPP, (C) imunoconcentração.

Figura 10. Exemplos de testes rápidos (TR) reagentes⁶ para HIV



Fonte: adaptado de BRASIL, 2010a.

Notas: observa-se presença de linha na área T (Teste) e na área C (Controle). (A) imunocromatografia de fluxo lateral, (B) imunocromatografia de duplo percurso – DPP, (C) Imunoconcentração.



Figura 11. Exemplos de testes rápidos (TR) não reagentes para HIV



Fonte: adaptado de BRASIL, 2010a.

Notas: observa-se presença de linha apenas na área C (Controle). (A) imunocromatografia de fluxo lateral, (B) imunocromatografia de duplo percurso – DPP, (C) Imunoconcentração.

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 o ouro coloidal (MOHD HANAFIAH; GARCIA; ANDERSON, 2013). Os TR são ideais para fornecer resultados no mesmo dia em uma variedade de situações e locais descritos no item 4.2.1.

Outros TR foram desenvolvidos utilizando como amostra o **fluido oral**⁶ (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 (GUARNER, 2017; CAPPELLO et al., 2013; GRANADE et al., 1998). Assim, é importante ressaltar que a janela diagnóstica dos TR que utilizam FO pode variar de 1 (um) (BRASIL, 2010b) a 3 (três) (FIOTEC, 2014) meses, dependendo do conjunto diagnóstico empregado. Verifique qual o período indicado para a realização do teste nas informações técnicas contidas nas instruções de uso (bula) 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 a toda gama de especificidade dos anticorpos presentes no soro⁵². Portanto, apesar de o FO conter menor quantidade de anticorpos, as vantagens do emprego desse teste 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 prioritárias e populações-chave (CAPPELLO et al., 2013; PASCOM et al., 2016).

4.2.1 Situações e locais em que o Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais recomenda a utilização de testes rápidos

Com o intuito de ampliar as possibilidades de testagem, de acordo com a política pública de acesso ao diagnóstico para toda a população, os testes rápidos devem, prioritariamente, ser utilizados fora do ambiente laboratorial, ou seja, em serviços de saúde.

Estão disponíveis testes rápidos que empregam amostras de **fluido crevicular gengival⁶** – mais conhecido como **fluido oral⁶** (FO) – soro, plasma ou sangue total (ST). Esse último permite o uso de amostras obtidas por punção digital (MOHD HANAFIAH; GARCIA; ANDERSON, 2013). Informações sobre os tipos de amostra a serem utilizados em cada teste rápido estão disponíveis nas instruções de uso (bula) do conjunto diagnóstico.

Os **testes rápidos de punção digital** devem ser realizados, preferencialmente, no âmbito dos serviços de saúde, sejam eles da Atenção Básica, Maternidades, Rede de Urgência e Emergência ou de outras unidades que compõem a Rede de Atenção à Saúde identificadas como prioritárias para essa oferta.

Já os **testes rápidos com amostra de fluido oral** não são invasivos e devem ser utilizados fora do ambiente do serviço de saúde (DELANEY et al., 2006). Esse tipo de teste é um importante recurso para as abordagens e cuidados passíveis de realização por Agentes Comunitários de Saúde, redutores de danos, educadores sociais e demais trabalhadores que atuam em ações extramuros para a identificação de possíveis casos de HIV de forma oportuna, voluntária, sigilosa e gratuita nos espaços de sociabilidade das populações-chave e prioritárias. Esse processo de testagem é considerado como triagem. Portanto, há a necessidade de encaminhar os indivíduos com resultado reagente aos serviços de saúde para conclusão do diagnóstico e inserção no cuidado contínuo.

Os **autotestes⁶** também são testes rápidos, que podem ser realizados por punção digital ou com amostras de fluido oral, pelo próprio indivíduo a ser testado. Esse teste é considerado como triagem e, portanto, há a necessidade de o indivíduo com resultado reagente procurar um serviço de saúde para conclusão do diagnóstico e inserção no cuidado contínuo.

A seguir estão exemplificadas algumas situações e locais prioritários em que o Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais (DIAHV) recomenda a utilização de testes rápidos:

- › Serviços de saúde sem infraestrutura laboratorial ou localizados em regiões de difícil acesso;



- › Instituições da Atenção Primária à Saúde (ex.: UBS) e outras 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;
- › Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) e Unidade de Testagem Móvel (UTM);
- › Centro de Atenção Psicossocial (Caps);
- › Segmentos populacionais flutuantes;
- › Serviços de atendimento de emergência, pronto-socorro, hospitais e maternidades;
- › **Populações-chave⁶**;
- › **Populações prioritárias⁶**;
- › Parcerias de pessoas vivendo com HIV/aids;
- › Acidentes biológicos ocupacionais;
- › 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;
- › Parturientes e puérperas que não tenham sido testadas no pré-natal ou quando não se conhece o resultado do teste no momento do parto;
- › Abortamento espontâneo, independentemente da idade gestacional;
- › Laboratórios que realizam pequenas rotinas (rotinas com até cinco amostras diárias para diagnóstico da infecção pelo HIV);
- › Pessoas em situação de violência sexual, para fins de profilaxia da infecção pelo HIV;
- › Pacientes com diagnóstico de tuberculose;
- › Pacientes com diagnóstico de hepatites virais;
- › Outras situações especiais definidas pelo DIAHV para ações de vigilância, prevenção e controle das infecções sexualmente transmissíveis (IST), do HIV/aids e das hepatites virais.

Os testes rápidos devem ser realizados por pessoal capacitado, presencialmente ou à distância. O Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais (DIAHV) fornece capacitação à distância, gratuitamente, por meio do Telelab (<http://www.telelab.aids.gov.br>). A plataforma disponibiliza vídeos que apresentam os procedimentos passo a passo para a realização de todos os testes fornecidos pelo Ministério da Saúde, além dos manuais de cada vídeo-aula com material complementar.

Diversos TR estão disponíveis comercialmente; porém, nem todos possuem as características de desempenho, sensibilidade e especificidade estabelecidas pelo DIAHV (MOTTA et al., 2013; FERREIRA JUNIOR et al., 2005). Essas características são fundamentais para a garantia de um diagnóstico seguro, de acordo com um dos fluxogramas para testagem rápida descritos neste Manual (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2. Características de desempenho, sensibilidade e especificidade dos testes rápidos para HIV estabelecidas pelo DIAHV

Crítérios	Desempenho
Especificidade Clínica ^G	≥99,0%
Sensibilidade Clínica ^G	≥99,5%
DOE*	Desempenho “satisfatório” (no mínimo 4 pontos de 5 possíveis, listados na Tabela 3).

Fonte: DIAHV/SVS/MS.

*DOE: Desempenho Operacional do Ensaio.

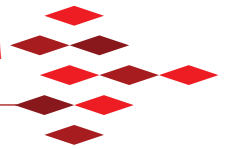
Tabela 3. Parâmetros de desempenho e critérios de pontuação dos testes rápidos para HIV estabelecidos pelo DIAHV

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 etapas	Mais do que quatro etapas
Tempo total de realização	Máximo de 30 minutos	Mais de 30 minutos
Habilidades técnicas requeridas	Experiência laboratorial não requerida	Experiência laboratorial requerida

Fonte: DIAHV/SVS/MS.

*DOE: Desempenho Operacional do Ensaio

O Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais (DIAHV) fornece capacitação a distância gratuitamente por meio da plataforma Telelab (www.telelab.aids.gov.br), na qual estão disponíveis vídeos que apresentam os procedimentos passo a passo para a realização de todos os testes rápidos fornecidos pelo Ministério da Saúde.



4.3 Testes complementares

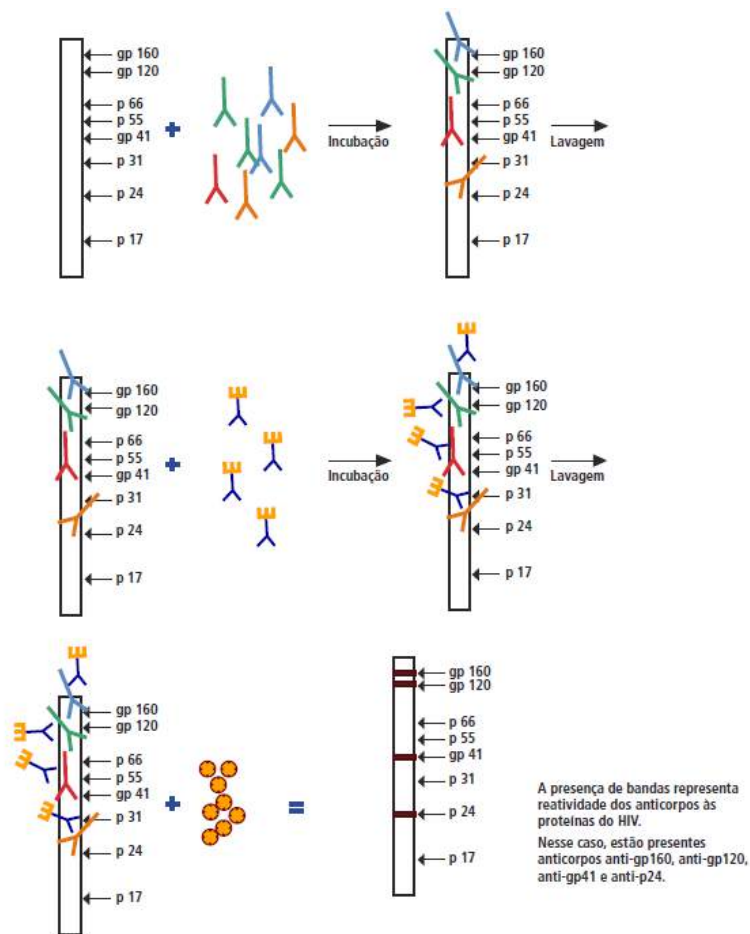
Os **testes complementares**⁶ utilizam diferentes formatos e princípios. Estão incluídos nessa categoria: western blot (WB), imunoblot (IB) ou imunoensaios em linha (LIA, do inglês *line immunoassay*), incluindo o imunoblot rápido (IBR) e imunofluorescência indireta (IFI) (BUTTÒ et al., 2010; IWEALA, 2004; YERLY; HIRSCHL, 2012). 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 de anticorpos circulantes (CDC, 2014).

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 e transferidas para uma membrana (WB), 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 do WB ou IB e esses anticorpos anti-HIV específicos ligados às proteínas são detectados por anticorpos secundários, conjugados com uma enzima, seguidos por um substrato que gera um produto colorido, o qual se 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 (BUTTÒ et al., 2010; IWEALA, 2004).

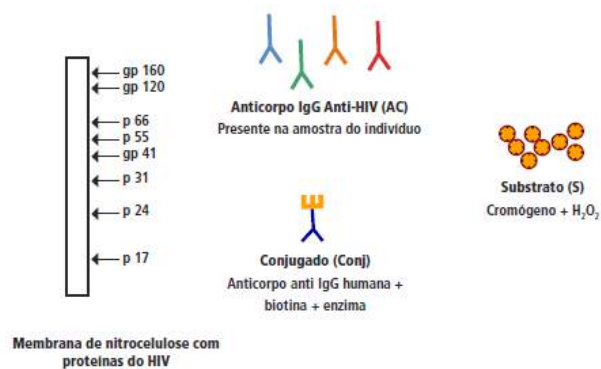
O IBR é semelhante ao IB, porém utiliza a metodologia DPP (plataforma de duplo percurso, do inglês *dual path platform*). Na fase sólida, estão presentes os antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos do HIV-1, incluindo o grupo O, e também a proteína do HIV-2, imobilizados sobre uma membrana. Ao contrário do WB e IB, o IBR permite a detecção de anticorpos em menos de 30 minutos (BRASIL, 2010b).

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 (CDC, 2014; BUTTÒ et al., 2010; GUARNER, 2017).

Figura 12. Reação de western blot



Legenda



Fonte: DIAHV/SVS/MS.



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. Esses testes são especialmente úteis para o diagnóstico em crianças com idade inferior a 18 meses e na infecção aguda em adultos (CDC, 2014; BUTTÒ et al., 2010; GUARNER, 2017; BOTTONE; BARTLETT, 2017).

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 (CDC, 2014).

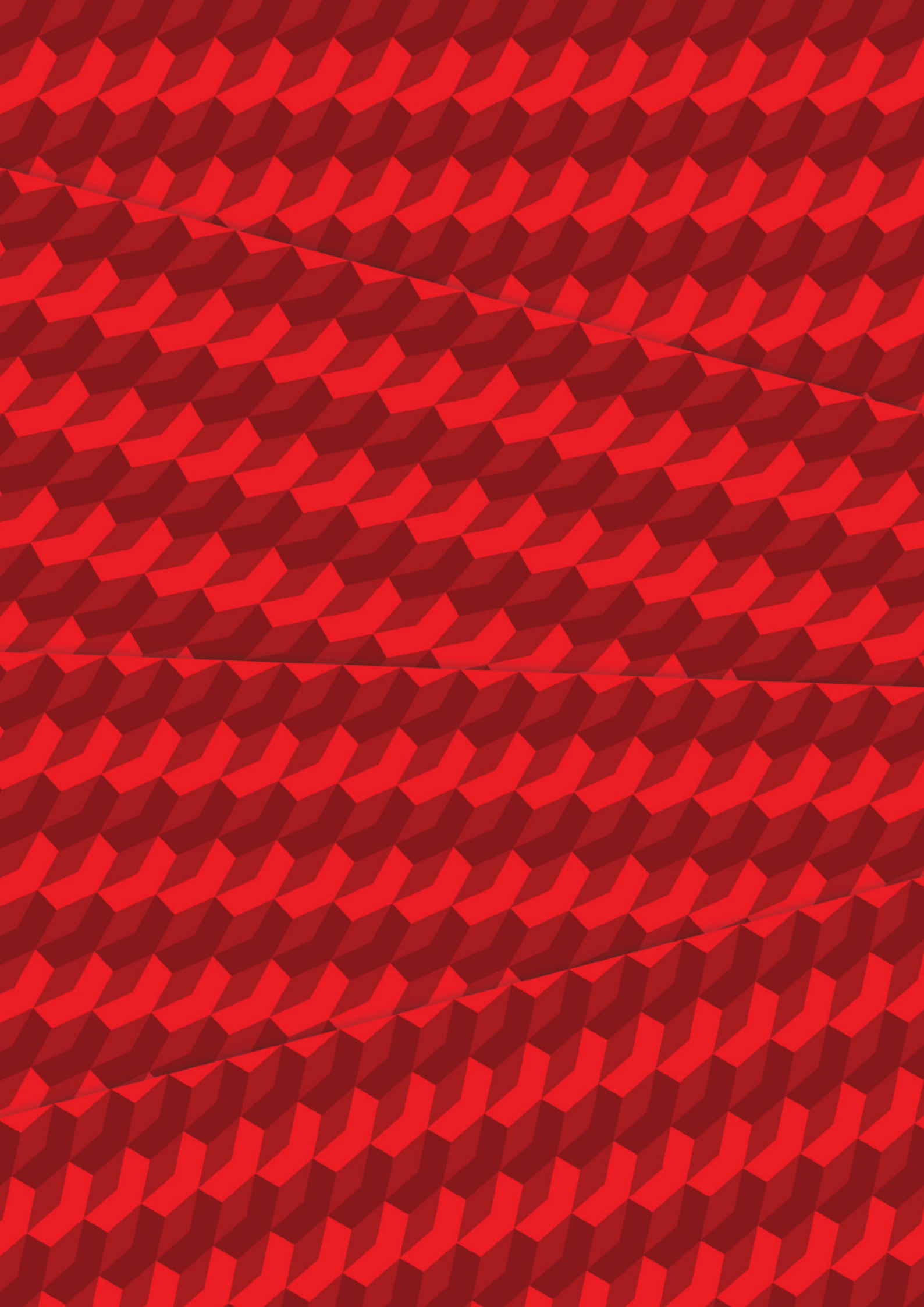
Outra aplicação importante para os TM é o diagnóstico precoce da infecção pelo HIV em crianças com exposição perinatal. Crianças nascidas de mães soropositivas adquirem anticorpos anti-HIV passivamente e, dessa forma, ensaios baseados em anticorpos não podem ser utilizados para confirmar ou descartar a infecção pelo HIV em crianças com idade inferior a 18 meses (ver item 9) (GUARNER, 2017; CELLETTI; SHERMAN; MAZANDERANI, 2017).

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 em que a coleta por punção digital ou venosa ou a cadeia de frio para conservação e transporte de amostras não estiverem disponíveis (GUARNER, 2017; SMIT et al., 2014). 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.



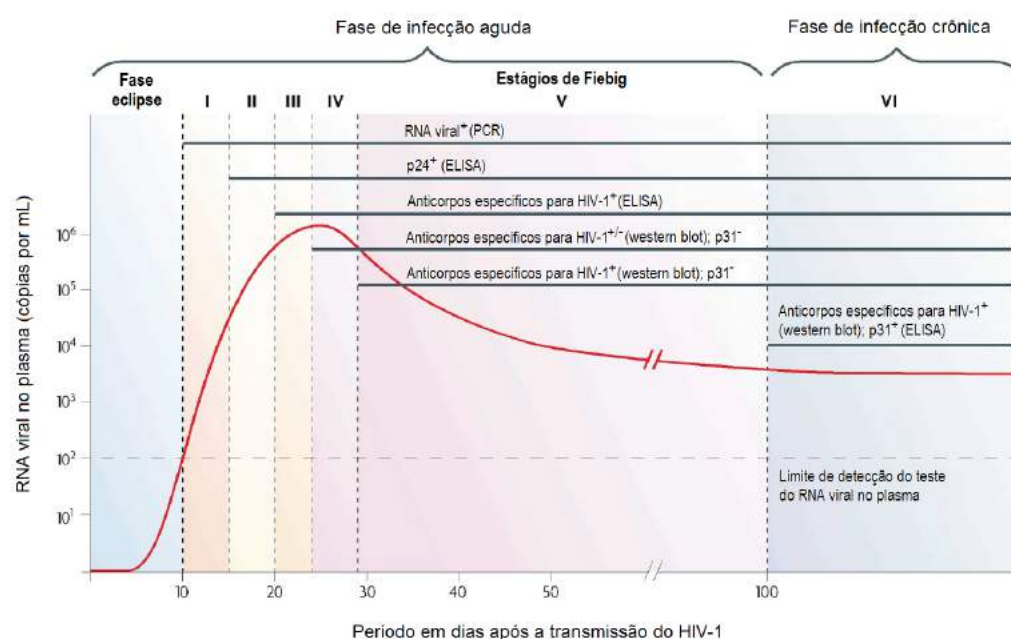


5. SISTEMA DE ESTAGIAMENTO LABORATORIAL DA INFECÇÃO RECENTE PELO HIV – CLASSIFICAÇÃO DE FIEBIG

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, imunoenensaio (IE) de terceira geração e western blot (WB) (Figura 13) (FIEBIG et al., 2003).

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



Fonte: Adaptado 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 (FIEBIG et al., 2003; COHEN et al., 2010).

Esse sistema classifica em detalhe as fases iniciais da infecção e facilita o entendimento sobre qual teste ou fluxograma é mais indicado para realizar o diagnóstico da infecção pelo HIV em diferentes situações. Segue a descrição de cada um desses estágios (Tabela 4) (FIEBIG et al., 2003; COHEN et al., 2010):

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

Estágio	Marcador				IC 95%	
	RNA	p24 Ag	IE (3ªG)	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 de 3ª geração. A duração média desse estágio é de cinco dias;
- › Estágio III: o RNA, o antígeno p24 e o 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 três 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 (pól). 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), avides 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 (MCMICHAEL et al., 2010; COHEN et al., 2010). Da mesma forma, os TR de terceira geração podem detectar amostras no estágio III ou IV, dependendo do fabricante do TR (COHEN et al., 2010).

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

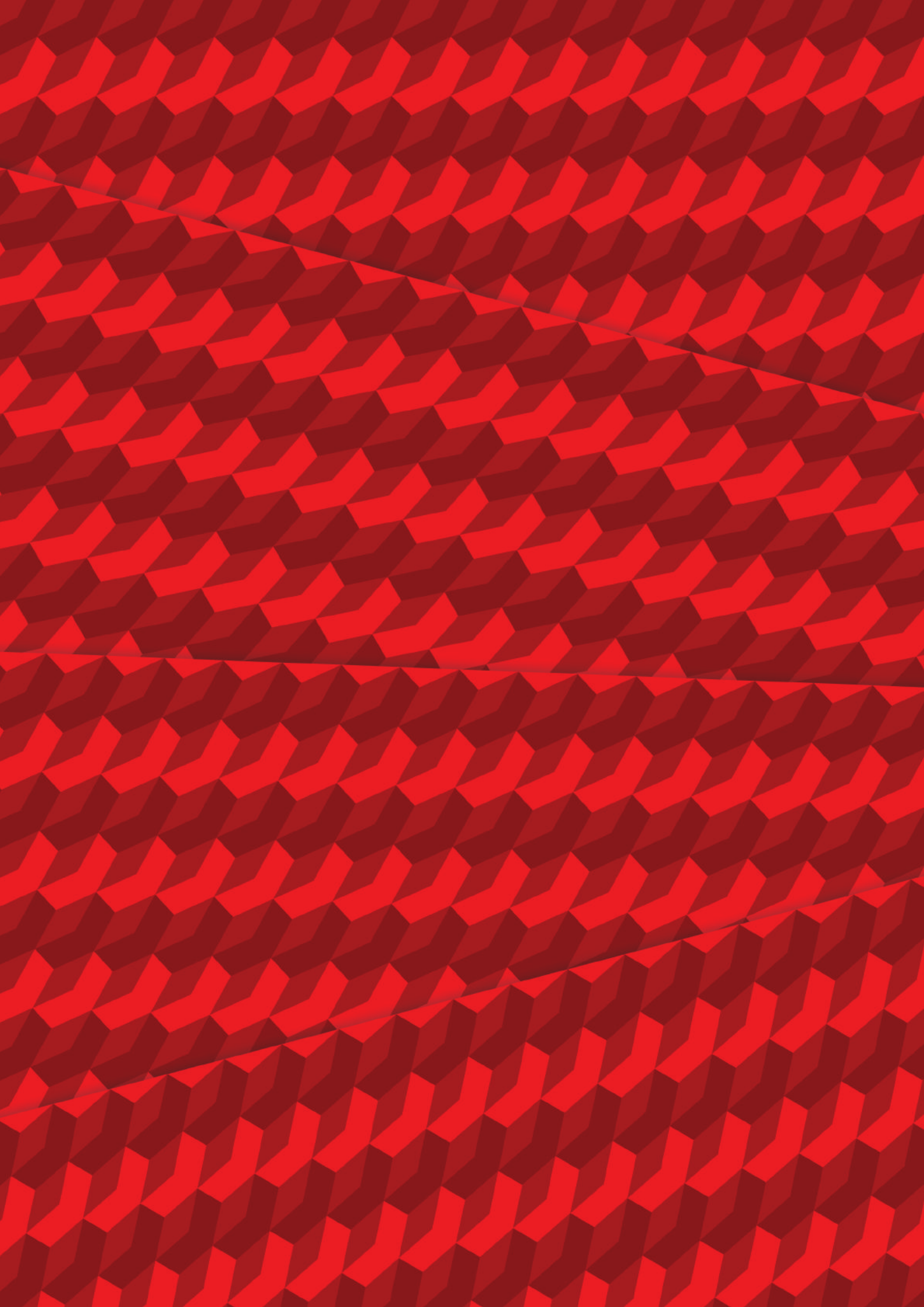
5.2 Limitações do modelo de Fiebig

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 (FIEBIG et al., 2003).

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, o qual pode durar entre três e seis meses, não se enquadrando no padrão de estagiamento proposto por Fiebig e colaboradores, que considera uma janela de soroconversão de, aproximadamente, 25 dias. 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 re-troviral podem ter níveis mais elevados de viremia e diferente ritmo de progressão da soroconversão, em comparação com os doadores de plasma (FIEBIG et al., 2003).

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 (FIEBIG et al., 2003).

Com essas ressalvas, o sistema de estagiamento laboratorial proposto fornece um quadro de referência para saber quanto tempo esperar até que os marcadores virais se tornem 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 de falhas e erros. Além do período de janela diagnóstica, anteriormente discutido, existem outras causas de falhas que podem ocorrer quando se realiza o diagnóstico da infecção pelo HIV, entre elas: (a) limitações do próprio ensaio, tais como sensibilidade e especificidade; (b) fatores relacionados a equipamentos/insumos, por ex., armazenamento inadequado de reagentes e falta de calibração ou de manutenção dos equipamentos, (c) algoritmos sub-ótimos para o diagnóstico – por isso a importância de seguir rigorosamente os fluxogramas definidos neste manual; e (d) fatores operacionais, incluindo interpretação equivocada do resultado, realização incorreta dos testes, erros na identificação e contaminação cruzada entre as amostras, utilização de volumes (de amostra ou de reagentes) distintos do preconizados pelo fabricante do conjunto diagnóstico, treinamento inadequado dos executores e falta de supervisão e atualização dos conhecimentos.

Deve-se ainda levar em consideração a existência de indivíduos “**imunossilenciosos**”⁶ (do inglês *immunosilent*) que possuem níveis baixos ou mesmo ausência de anticorpos específicos, nos quais, dessa forma, os testes sorológicos não conseguem detectar a presença de anticorpos anti-HIV (KOPKO; CALHOUN; PETZ, 1999). 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, durante o curso da infecção, apresentam viremia indetectável, denominados controladores de elite (do inglês *elite controllers*), não sendo possível, nestes, a detecção do genoma viral por meio de testes moleculares (O’CONNELL; BAILEY; BLANKSON, 2009; GONZALO-GIL; IKEDIOBI; SUTTON, 2017; SAAG; DEEKS, 2010). Os controladores de elite, no entanto, possuem resposta imune humoral intacta e a presença de anticorpos anti-HIV pode ser detectada por testes sorológicos, sendo o western blot o teste mais indicado para a confirmação do diagnóstico nesse grupo.

Dentre os fatores importantes para redução do erro no processo de testagem, podemos destacar: (a) utilização de etiquetas com código de barras para a identificação das amostras; (b) uso de tubos primários na testagem; (c) automação dos testes; (d) integração entre os equipamentos e o sistema informatizado do serviço de saúde (interfaceamento); (e) 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). É importante, ainda, interpretar o resultado de qualquer teste diagnóstico em conjunto com informações obtidas na anamnese do paciente.

6.1 Fatores relacionados à obtenção de resultados falso-reagentes

Os imunoenaios, sejam rápidos ou convencionais, podem apresentar resultados falso-reagentes. Dados da literatura identificaram alguns fatores que podem interferir no resultado. São eles:

- › Doenças autoimunes tais como a artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico, Síndrome de Stevens-Johnson (reação alérgica exacerbada), inflamação da tireoide autoimune (ESTEVA et al., 1992; GÜL et al., 1996; JINDAL; SOLOMON; BURROWS, 1993; LI et al.; 2014; RANKI et al., 1992). Entretanto, é importante destacar que tais doenças acometem uma parcela mínima da população mundial;
- › Hepatopatias causadas por uso de medicamentos, álcool ou outras drogas; e outras doenças crônicas do fígado (NOVICK et al., 1988);
- › Pacientes hemodialisados e em terapia com interferon (CHOU; SUN; WU, 2007; MONOS et al., 1989; UJHELYI et al., 1989);
- › Pacientes que sofreram múltiplas transfusões de sangue (MONOS et al., 1989);
- › Vacinação recente contra influenza A-H1N1 (ERICKSON; MCNIFF; KLAUSNER, 2006; MACKENZIE et al., 1992);
- › Aquisição passiva de anticorpos anti-HIV (de mãe para filho). Por esse motivo, o diagnóstico da infecção pelo HIV em crianças menores de 18 meses de idade não deve ser realizado por métodos baseados na detecção de anticorpos (GUARNER, 2017; CELLETTI; SHERMAN; MAZANDERANI, 2017);
- › Gravidez (SHIMA-SANO et al., 2010; MAGEE; MURPHY; VON DADELSZEN, 1999; DORAN; PARRA, 2000; CHAO et al., 2012).

6.2 Fatores relacionados à obtenção de resultados falso-não reagentes

Por outro lado, os imunoenaios podem apresentar resultados falso-não reagentes em algumas situações, como:

- › Durante uso de terapia antirretroviral, não sendo, portanto, indicado o uso de TR em pessoas em TARV (PIWOWAR-MANNING et al., 2014; DELANEY et al., 2011);
- › Infecção aguda pelo HIV (ver item 10.1) (FIEBIG et al., 2003; BOTTONE; BARTLETT, 2017);
- › Indivíduos imunossilenciosos (KOPKO; CALHOUN; PETZ, 1999);



- › Indivíduos com sistema imunológico comprometido PIWOWAR-MANNING, et al., 2014; DELANEY et al., 2011);
- › Realização do teste anterior à soroconversão.

6.3 Falhas na execução de testes rápidos

As causas de falhas podem estar relacionadas a diversos fatores, que incluem desde a baixa qualidade do teste até falhas diretamente geradas pelo 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:

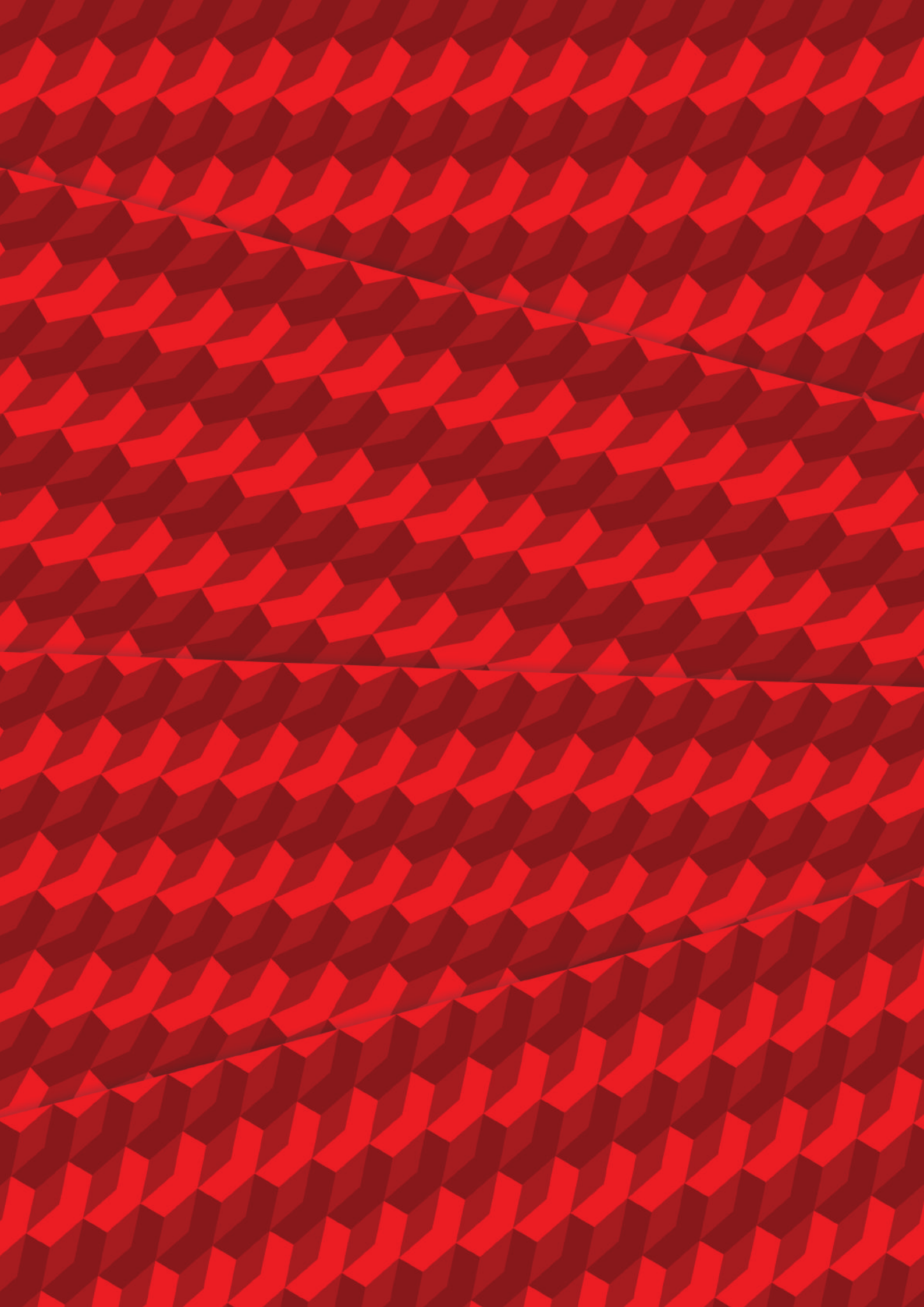
- › Erro na identificação, transcrição dos dados do paciente ou do resultado do teste;
- › Troca de amostras;
- › Erro na execução do procedimento do teste;
- › Utilização do volume incorreto de tampão ou amostra;
- › Leitura do resultado do teste no momento incorreto;
- › Interpretação incorreta do resultado;
- › Dificuldade na interpretação de bandas fracamente reagentes;
- › Uso de dispositivos de TR danificados ou fora do prazo de validade;
- › Uso do tampão/reagente, pipetas/capilares/alças coletoras de outro conjunto diagnóstico de testagem rápida;
- › Transporte e/ou armazenamento inadequado dos conjuntos diagnósticos.

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, para evitar a hidratação da membrana do dispositivo;
2. Não realizar vários TR ao mesmo tempo;
3. Cronometrar o tempo de corrida e de leitura do teste e não ultrapassar o tempo máximo de leitura estipulado pelo fabricante;

4. Usar o dispositivo de coleta da amostra (alça, capilar ou pipeta) especificado pelo fabricante e fornecido juntamente com os testes. Esses dispositivos de coleta aspiram volumes diferentes de amostra e não devem ser trocados entre kits distintos. Realizar o teste com o capilar ou a pipeta incorreta pode gerar resultados falso-reagentes ou falso-não reagentes;
5. Não tocar ou bater a ponta da alça, do capilar ou da pipeta de coleta na membrana do dispositivo de teste. Essas ações podem causar danos à membrana e provocar um resultado errôneo;
6. Usar o tampão/reagente especificado pelo fabricante e fornecido juntamente com os testes. Dispensar apenas o volume de amostra e tampão determinados pelo fabricante, conforme consta nas instruções de uso (bula) do produto;
7. Para a liberação de laudo com resultado reagente, é imprescindível a realização sequencial de dois TR de antígenos diferentes;
8. Em função da alta sensibilidade dos testes rápidos, laudos de amostras reagentes para HIV devem explicitar a importância da realização imediata do exame de quantificação da carga viral, cujo resultado confirma a presença do vírus;
9. Os responsáveis pela padronização do manuseio, do armazenamento e das etapas e tempos para a 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 DIAHV, disponíveis em www.telelab.aids.gov.br.

Atenção: caso o serviço opte por realizar a testagem a partir do sangue coletado por punção venosa, deve-se, obrigatoriamente, verificar as orientações contidas nas instruções de uso quanto aos tipos de anticoagulantes que podem ser utilizados. Além disso, é necessário verificar o volume de amostra estabelecido para a execução do teste, o qual pode ser específico para cada tipo de amostra (sangue total, soro ou plasma).





7. TECNOVIGILÂNCIA

A Tecnovigilância tem por objetivo monitorar a segurança sanitária e o desempenho de produtos para saúde (equipamentos, materiais, artigos médico-hospitalares, implantes e produtos para diagnóstico de uso *in vitro*) após a autorização de comercialização. No Brasil, o órgão responsável por essa atuação é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) do Ministério da Saúde (MS).

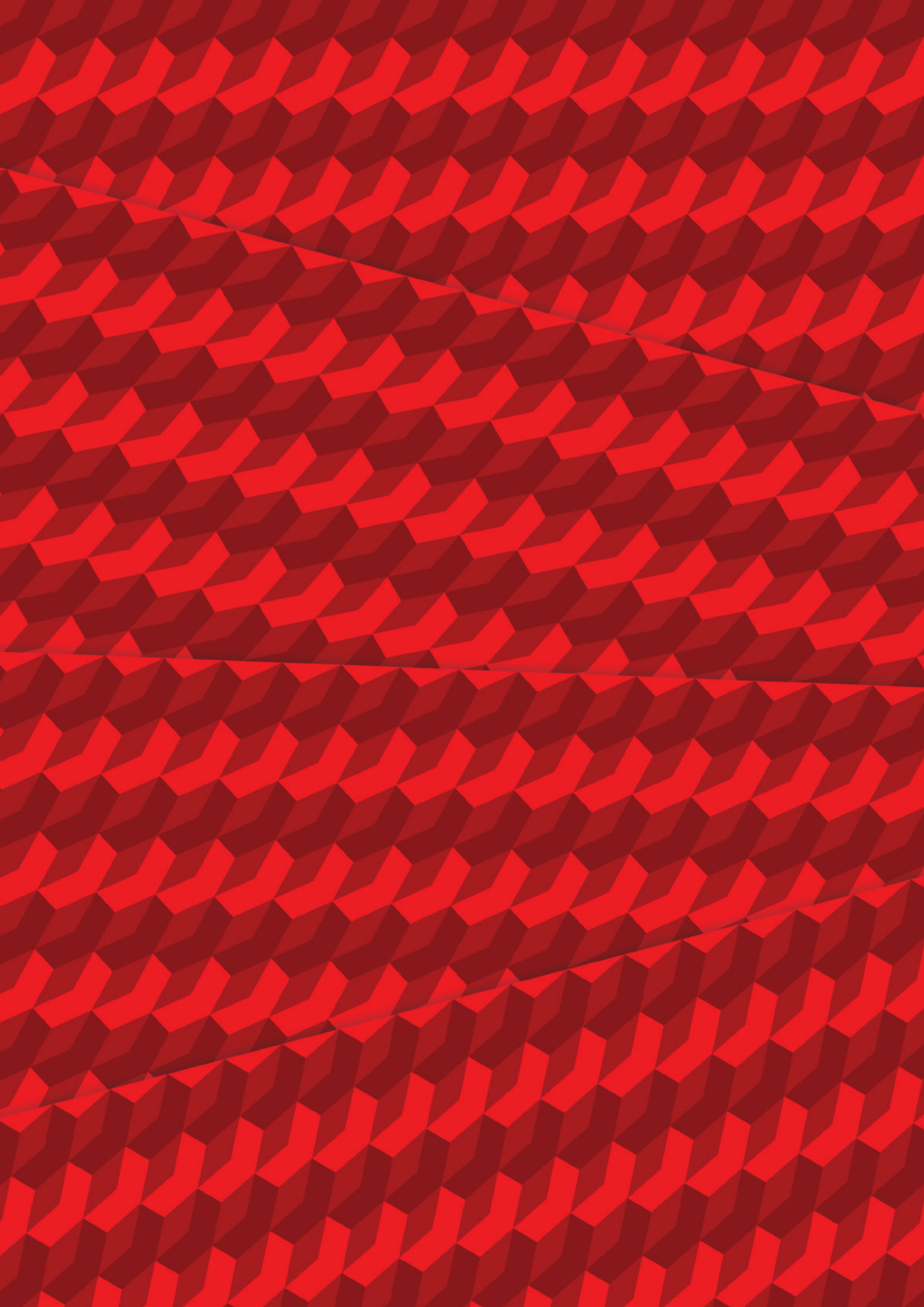
A Portaria nº 593, de 25 de agosto de 2000, e a Portaria nº 406, de 14 de outubro de 2005, descrevem as competências da Anvisa no tocante à identificação de eventos e desvios da qualidade que produzem ou potencialmente podem produzir resultados inesperados ou indesejáveis, passíveis de afetar a segurança do paciente.

A Anvisa disponibiliza um sistema para a notificação de eventos adversos (EA) e queixas técnicas (QT) de produtos para a saúde na fase de pós-comercialização, previsto pela Portaria nº 1.660, de 22 de julho de 2009, do Ministério da Saúde. Entende-se por EA o evento que causou danos à saúde de um usuário. Se, até o momento da notificação, o problema observado no produto não tiver causado nenhum dano à saúde, este deverá ser notificado como QT (por exemplo, avarias na embalagem).

Qualquer profissional de saúde vinculado a instituições públicas ou privadas pode efetuar a notificação via Notivisa – Sistema de Notificações em Vigilância Sanitária. Cidadãos comuns também podem registrar as reclamações via sistema. O sistema de tecnovigilância da Anvisa está disponível para profissionais de saúde em: <http://portal.anvisa.gov.br/tecnovigilancia>, e a notificação avulsa, ou seja, para cidadãos comuns, em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/notivisa/index.htm>.

A Anvisa exige também que os fabricantes de produtos para a saúde disponibilizem um canal de comunicação entre os usuários de seus produtos e suas respectivas assessorias técnicas. Nas embalagens dos produtos há a descrição do SAC – Serviço de Atendimento ao Cliente. A comunicação via SAC pode se dar por meio de ligação telefônica (0800) ou e-mail.

É de extrema importância que os usuários de produtos para a saúde notifiquem as ocorrências de Eventos Adversos ou Queixa Técnica por meio do Notivisa ou SAC do fabricante do produto.





8. FLUXOGRAMAS PARA A TESTAGEM DA INFECÇÃO PELO HIV

Desde o início da epidemia do HIV, o diagnóstico sorológico da infecção é realizado com pelo menos dois testes, um inicial e um segundo, mais específico, para complementar o resultado do **teste inicial**⁶.

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. Na maioria das situações, o fluxograma mais comumente utilizado inclui o emprego de testes em série ou sequenciais (fluxograma em série).

O fluxograma em série é lógico e custo-efetivo. O primeiro teste a ser realizado deve ser o mais sensível, seguido por um segundo teste mais específico, a fim de eliminar resultados falso-reagentes. Dessa forma, é importante selecionar a correta combinação de testes para garantir o diagnóstico preciso (WHO, 2015).

O constante aperfeiçoamento dos ensaios de laboratório e a consequente elevação da sensibilidade dos testes iniciais utilizados atualmente pela maioria dos serviços, e, ainda, a entrada dos testes moleculares no mercado, fez com que os testes complementares que detectam anticorpos (WB, IB, IBR) não sejam considerados os mais adequados para confirmar a infecção em um indivíduo com infecção recente pelo HIV. O ideal é que esta seja confirmada com testes moleculares (ROSENBERG et al., 2015; YERLY; HIRSCHL, 2012).

Cabe destacar ainda o surgimento de ensaios que permitem a utilização de outros fluidos corporais, como o fluido oral, que é uma importante alternativa para a ampliação do diagnóstico da infecção pelo HIV, principalmente em locais que não dispõem de estrutura laboratorial, em populações privadas de liberdade, ou outras populações-chave que não buscam os serviços de saúde convencionais (PASCOM et al., 2016).

Ao definirmos o fluxograma como “um método para resolver um problema utilizando um número definido de etapas”, é necessário considerar a diversidade de testes disponíveis e os diferentes cenários nos quais se realiza o diagnóstico da infecção pelo HIV (WHO, 2015). Devido a isso, é necessário mais de um fluxograma para cobrir todas as necessidades de triagem e confirmação da infecção pelo HIV, segundo as diferentes configurações de testes e perfis de pacientes que esse diagnóstico envolve.

Apresentamos a seguir seis fluxogramas recomendados para o diagnóstico da infecção pelo HIV, considerando as diversas situações nas quais se faz necessária a realização do diagnóstico da infecção, além dos esclarecimentos e fundamentação de cada um desses fluxogramas.

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 maior resolutividade e, por esses motivos, o DIAHV os indica como sendo os de primeira escolha nas situações nas quais está recomendada 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 (PEELING; MABEY, 2010; MOHD HANAFIAH; GARCIA; ANDERSON, 2013). A infecção pelo HIV é definida com dois resultados reagentes em testes rápidos (TR1 e TR2) contendo antígenos diferentes, usados sequencialmente. Recomenda-se, ainda, que a presença do vírus seja confirmada com o teste de quantificação da carga viral do HIV, o qual, além de descartar a ocorrência de um possível duplo falso-reagente, já consiste no primeiro exame de monitoramento. Caberá ao profissional de saúde habilitado avaliar a oportunidade de início de terapia logo após o resultado obtido em dois testes rápidos distintos.

A sensibilidade de um determinado fluxograma para o diagnóstico da infecção pelo HIV é igual à sensibilidade do primeiro ensaio utilizado. Por isso, o primeiro teste utilizado deve ser sempre o que apresenta maior sensibilidade. Conforme apresentado na Tabela 2, os testes devem ter sensibilidade mínima de 99,5% e especificidade mínima de 99,0%. 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.

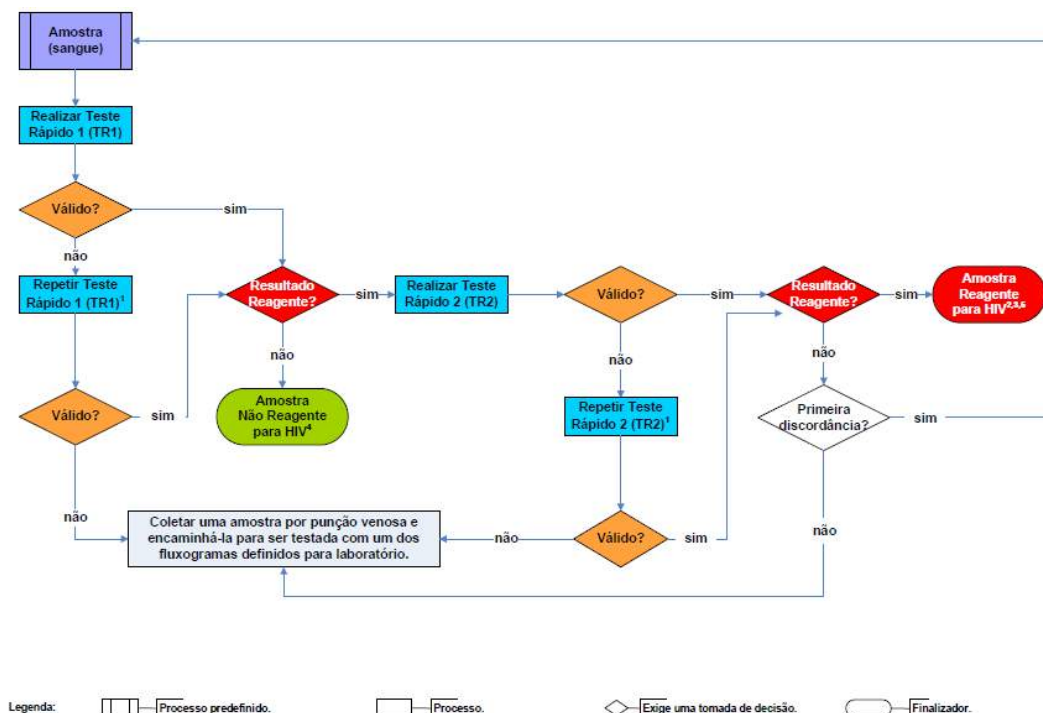
Os dois fluxogramas a seguir deverão utilizar testes capazes de detectar anticorpos anti-HIV-1, incluindo o grupo O, e anticorpos anti-HIV-2.

8.1.1 Fluxograma 1 – Dois testes rápidos (TR1 e TR2) realizados em sequência com amostras de sangue

O Fluxograma 1 (Figura 14) emprega dois testes rápidos (TR1 e TR2) que contêm antígenos diferentes, usados sequencialmente em amostras de sangue, as quais podem ser obtidas por punção da polpa digital ou por punção venosa. A testagem com TR deve ser realizada preferencialmente de forma presencial (**teste realizado na presença do indivíduo ou presencial⁶**), eliminando a possibilidade de troca de amostra. Caso não seja possível a testagem presencial, deve-se atentar para mudanças na seção “Procedimento”, a seguir. Esse fluxograma é indicado para as situações definidas no item 4.2.1 – Situações e locais nos quais o DIAHV recomenda a utilização de TR.



Figura 14. Fluxograma 1 – Dois testes rápidos (TR1 e TR2) realizados em sequência com amostras de sangue



Fonte: DIAHV/SVS/MS.

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

²Nas situações em que o fluxograma for realizado com uma única amostra obtida por venopunção, coletar uma segunda amostra e repetir o TR1 para concluir o resultado.

³Encaminhar o paciente para realizar o teste de Quantificação de Carga Viral e contagem de linfócitos T-CD4+.

⁴Se persistir a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.

⁵Amostras com resultados reagentes para HIV-2 (nos conjuntos diagnósticos que discriminam a reatividade para HIV-2 em linha de teste distinta do HIV-1) só terão seu diagnóstico de infecção por HIV-2 concluído após seguidas as instruções descritas no item 10.2 deste manual.

Todos os indivíduos que apresentarem resultados reagentes em dois testes rápidos devem realizar imediatamente o exame de quantificação da carga viral, cujo resultado confirma a presença do vírus, 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.

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

O Fluxograma 1 não é adequado para o diagnóstico da infecção aguda pelo HIV-1. Se houver suspeita de infecção aguda, siga as orientações contidas no item 10.1 deste manual.

Fundamentação

No Fluxograma 1, dois TR de antígenos diferentes são realizados 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) e que o TR2 tenha especificidade igual ou superior ao TR1. 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 inicial (TR1). Os TR devem detectar anticorpos anti-HIV-1, incluindo o grupo O, e anticorpos anti-HIV-2.

Procedimento

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.

O Fluxograma 1 não é adequado para o diagnóstico da infecção aguda pelo HIV-1. Se houver suspeita de infecção aguda, siga as orientações contidas no item 10.1 deste manual.

Testagem presencial

A amostra com resultado não reagente no TR1 será definida como **“Amostra não reagente para HIV”**. O laudo deverá ser emitido com as seguintes ressalvas:

- › Resultado obtido com a utilização do Fluxograma 1, realizado presencialmente em amostra coletada por punção digital, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.
- › 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 realizados presencialmente será definida como **“Amostra reagente para HIV”**, e o laudo deverá incluir as ressalvas a seguir:

- › Resultado obtido com a utilização do Fluxograma 1, realizado presencialmente em amostras coletadas por punção digital, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.
- › A oportunidade de início de terapia antirretroviral imediata, baseada no resultado reagente obtido com dois testes rápidos, deverá ser avaliada por um profissional de saúde habilitado. Ressalta-se que a coleta da amostra para a realização do exame de quantificação da carga viral do HIV deve ser sempre realizada antes do início do tratamento.

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. Em caso de primeira discordância, deve-se repetir o fluxograma com os mesmos conjuntos diagnósticos utilizados anteriormente e na mesma ordem. Em caso de segunda discordância, uma amostra deverá ser coletada por punção venosa e encaminhada para ser testada com um dos fluxogramas definidos para utilização em laboratório.

Testagem não presencial

A amostra com resultado não reagente no TR1 será definida como **“Amostra não reagente para HIV”**. O laudo deverá ser emitido com as seguintes ressalvas:

- › Resultado obtido com a utilização do Fluxograma 1, realizado não presencialmente com amostra obtida por punção venosa, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.
- › 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 será definida como **“Amostra reagente para HIV”**. Para os testes realizados não presencialmente, com amostras obtidas por punção venosa, deve-se coletar uma segunda amostra e realizar o TR1 para eliminar a possibilidade de troca de amostra. Portanto, o laudo deverá incluir as ressalvas a seguir.

- › Resultado definido com o Fluxograma 1, realizado não presencialmente com amostra obtida por punção venosa, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.
- › 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.

A segunda amostra deve ser submetida ao TR1 do fluxograma utilizado com a primeira amostra. A amostra com resultado reagente no TR1 será definida como **“Amostra reagente para HIV”**. O laudo deverá ser emitido com as seguintes ressalvas:

- › Resultado obtido com a utilização do Fluxograma 1, realizado não presencialmente com segunda amostra obtida por punção venosa, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.
- › A oportunidade de início de terapia antirretroviral imediata, baseada no resultado reagente obtido com dois testes rápidos, deverá ser avaliada por um profissional de saúde habilitado. Ressalta-se que a coleta da amostra para a realização do exame de quantificação da carga viral do HIV deve ser sempre realizada antes do início do tratamento.

É importante ressaltar que, devido ao risco de contaminação, a segunda amostra obtida por venopunção utilizada para realização do TR1 não pode ser aproveitada para realização da quantificação da carga viral, a qual requer um tubo de amostra exclusivo para essa finalidade.

Se a segunda amostra apresentar resultado não reagente no TR1, o serviço de saúde deve considerar a possibilidade de troca de amostra e repetir o Fluxograma 1 com uma terceira amostra. Essa terceira amostra deverá ser colhida o mais rapidamente possível e testada preferencialmente no mesmo local em que se realizaram os testes com as amostras anteriores.

Desdobramentos do Fluxograma 1

O Fluxograma 1, com a utilização de dois TR, permite a rápida investigação da infecção pelo HIV. A realização do teste de quantificação da carga viral do HIV-1, que confirma a infecção pelo HIV, e do teste de contagem de linfócitos T-CD4+, deve ser imediata. Essa solicitação pode ser feita pelo médico, pelo enfermeiro ou por outros profissionais de saúde que possuam essa atribuição, possibilitando 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 fluxograma laboratorial que inclua como teste complementar o western blot (WB), o imunoblot (IB) ou o imunoblot rápido (IBR) para esclarecer se se trata, de fato, de um resultado falso-reagente ou de um indivíduo controlador de elite. Vale ressaltar que a combinação de teste sorológico reagente e WB ou teste molecular (TM) não reagente, sempre que houver um elo epidemiológico com países endêmicos para HIV-2, é considerada indício de infecção por HIV-2. Para informações sobre o diagnóstico da infecção pelo HIV-2 ou a confirmação de um caso suspeito, siga as orientações contidas no item 10.2 deste manual.

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

TESTES REALIZADOS PRESENCIALMENTE				
TR1*	TR2*	RESULTADO	OBSERVAÇÕES	DESDOBRAMENTOS
Não reagente	-	"Amostra não reagente para HIV"	Resultado obtido com a utilização do Fluxograma 1, realizado presencialmente em amostra coletada por punção digital, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.	
Reagente	-			Realizar TR2
Reagente	Reagente	"Amostra reagente para HIV"	Resultado obtido com a utilização do Fluxograma 1, realizado presencialmente em amostras coletadas por punção digital, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. A oportunidade de início de terapia antirretroviral imediata, baseada no resultado reagente obtido com dois testes rápidos, deverá ser avaliada por um profissional de saúde habilitado. Ressalta-se a importância da coleta de amostra para a realização do exame de quantificação da carga viral do HIV anterior ao início do tratamento.	Orientar sobre a necessidade de realização imediata do exame de quantificação da carga viral.
Reagente	Não reagente			Repetir o Fluxograma 1 com os mesmos conjuntos diagnósticos utilizados anteriormente, na mesma ordem. Tratando-se de segunda discordância, uma amostra deverá ser coletada por punção venosa e encaminhada para ser testada com um dos fluxogramas definidos para utilização em laboratório.

continuação



continuação

TESTES UTILIZANDO AMOSTRAS OBTIDAS POR PUNÇÃO VENOSA (NÃO PRESENCIAIS)					
AMOSTRA 1		AMOSTRA 2	RESULTADO	OBSERVAÇÕES	DESDOBRAMENTOS
ENSAIOS REALIZADOS		ENSAIOS REALIZADOS			
TR1*	TR2*	TR1*			
Não reagente	-	-	"Amostra não reagente para HIV"	Resultado obtido com a utilização do Fluxograma 1, realizado não presencialmente com amostra obtida por punção venosa, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.	
Reagente	-	-			Realizar TR2
Reagente	Reagente	-	"Amostra reagente para HIV"	Resultado obtido com a utilização do Fluxograma 1, realizado não presencialmente em amostra coletada por punção venosa, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. 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.	Coletar segunda amostra para realização do TR1.
Reagente	Reagente	Reagente	"Amostra reagente para HIV"	Resultado obtido com a utilização do Fluxograma 1, realizado não presencialmente em segunda amostra coletada por punção venosa, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. A oportunidade de início de terapia antirretroviral imediata, baseada no resultado reagente obtido com dois testes rápidos, deverá ser avaliada por um profissional de saúde habilitado. Ressalta-se a importância da coleta de amostra para a realização do exame de quantificação da carga viral do HIV anterior ao início do tratamento.	Orientar sobre a necessidade de realização imediata do exame de quantificação da carga viral.
Reagente	Reagente	Não reagente			Considerar a possibilidade de troca de amostra e repetir o Fluxograma 1 com uma terceira amostra.

Fonte: DIAHV/SVS/MS.

*Caso o resultado do teste rápido 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.



Todos os indivíduos que apresentarem resultados reagentes em dois testes rápidos devem realizar imediatamente o exame de quantificação da carga viral, cujo resultado confirma a presença do vírus, e a 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.

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

O Fluxograma 2 não é adequado para o diagnóstico da infecção aguda pelo HIV-1. Se houver suspeita de infecção aguda, siga as orientações contidas no item 10.1 deste manual.

Fundamentação

O Fluxograma 2 é uma variação do Fluxograma 1. Permite a utilização de uma amostra obtida de forma não invasiva, em que o primeiro TR é realizado com uma 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 inicial (TR1-FO).

Procedimento

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

Os TR escolhidos pelos serviços devem ser capazes de detectar anticorpos anti-HIV-1, incluindo o grupo O, e anticorpos anti-HIV-2. Adicionalmente, TR1-FO e TR2 devem obrigatoriamente empregar diferentes antígenos.

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 emitido com as seguintes ressalvas:

- › Resultado obtido com a utilização do Fluxograma 2, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.
- › Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.

O Fluxograma 2 não é adequado para o diagnóstico da infecção aguda pelo HIV-1. Se houver suspeita de infecção aguda, siga as orientações contidas no item 10.1 deste manual.

A amostra com resultado reagente no TR1-FO deverá ser submetida ao TR2. A amostra com resultados reagentes no TR1-FO e no TR2 será definida como: **“Amostra reagente para HIV”**. O laudo deverá ser emitido com as seguintes ressalvas:

- › Resultado obtido com a utilização do Fluxograma 2, realizado presencialmente em amostras de fluido oral e de sangue total coletada por punção digital, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.
- › A oportunidade de início de terapia antirretroviral imediata, baseada no resultado reagente obtido com dois testes rápidos, deverá ser avaliada por um profissional de saúde habilitado. Ressalta-se que a coleta da amostra para a realização do exame de quantificação da carga viral do HIV deve ser sempre realizada antes do início do tratamento.

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. Em caso de primeira discordância, deve-se repetir o fluxograma com os mesmos conjuntos diagnósticos utilizados anteriormente, na mesma ordem. Tratando-se de segunda discordância, uma amostra deverá ser coletada por punção venosa e encaminhada para ser testada com um dos fluxogramas definidos para utilização em laboratório.



Desdobramentos do Fluxograma 2

O Fluxograma 2, com a utilização de dois TR, permite a rápida investigação da infecção pelo HIV. A solicitação do teste de quantificação da carga viral do HIV-1, que confirma a infecção pelo HIV, e do teste de contagem de linfócitos T CD4+, deve ser imediata. Essa solicitação pode ser feita pelo médico, enfermeiro ou outros profissionais de saúde que possuam essa atribuição, possibilitando 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 fluxograma laboratorial que inclua como teste complementar o western blot (WB), o imunoblot (IB) ou o imunoblot rápido (IBR) para esclarecer se se trata, de fato, de um resultado falso-reagente ou de um indivíduo controlador de elite. Vale ressaltar que a combinação de teste sorológico reagente e WB ou teste molecular (TM) não reagente, sempre que houver um elo epidemiológico com países endêmicos para HIV-2, é considerada indício de infecção por HIV-2. Para informações sobre o diagnóstico da infecção pelo HIV-2 ou confirmação de um caso suspeito, siga as orientações contidas no item 10.2 deste manual.

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

ENSAIOS REALIZADOS		RESULTADO	OBSERVAÇÕES	DESDOBRAMENTOS
TR1-FO*	TR2*			
Não reagente		"Amostra não reagente para HIV"	Resultado obtido com a utilização do Fluxograma 2, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.	
Reagente	-			Realizar TR2
Reagente	Reagente	"Amostra reagente para HIV"	Resultado obtido com a utilização do Fluxograma 2, realizado presencialmente em amostras de fluido oral e de sangue total coletada por punção digital, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. A oportunidade de início de terapia antirretroviral imediata, baseada no resultado reagente obtido com dois testes rápidos, deverá ser avaliada por um profissional de saúde habilitado. Ressalta-se a importância da coleta de amostra para a realização do exame de quantificação da carga viral do HIV anterior ao início do tratamento.	Orientar sobre a necessidade de realização imediata do exame de quantificação da carga viral.
Reagente	Não reagente			Repetir o Fluxograma 2 com os mesmos conjuntos diagnósticos utilizados anteriormente e na mesma ordem. Tratando-se de segunda discordância, uma amostra deverá ser coletada por punção venosa e encaminhada para ser testada com um dos fluxogramas definidos para utilização em laboratório.

Fonte: DIAHV/SVS/MS.

*Se o resultado for inválido, o teste deverá ser repetido com o mesmo conjunto diagnóstico, se possível com um lote distinto do que foi utilizado inicialmente.



8.2 Estratégias para o diagnóstico da infecção pelo HIV em laboratórios

O diagnóstico da infecção pelo HIV em ambiente laboratorial é realizado por meio da utilização de testes iniciais e complementares, sendo também empregado para a confirmação diagnóstica das amostras que apresentaram resultados discordantes quando da utilização de fluxogramas que empregam testes rápidos (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.

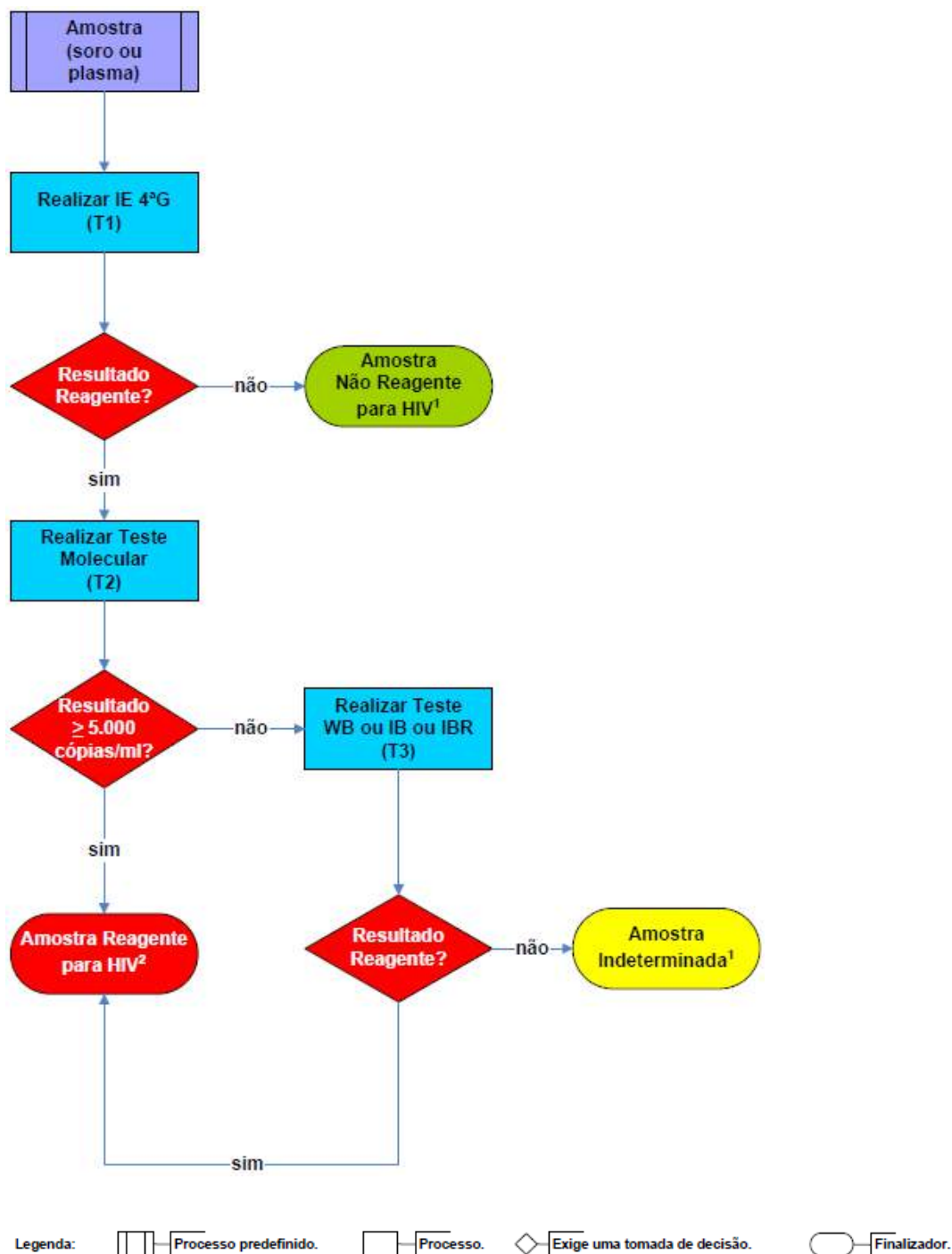
Os quatro fluxogramas a seguir deverão utilizar testes capazes de detectar anticorpos anti-HIV-1, incluindo o grupo O, e anticorpos anti-HIV-2.

8.2.1 Fluxograma 3 – Imunoensaio de 4ª geração seguido de teste molecular como teste complementar

O Fluxograma 3 emprega um imunoensaio de 4ª geração (IE4ªG) como teste inicial e um teste molecular (TM) como teste complementar para amostras reagentes no teste inicial (Figura 16). O IE4ªG deve ser capaz de detectar anticorpos anti-HIV-1, incluindo o grupo O, e anticorpos anti-HIV-2, além de antígeno p24 do HIV-1.

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

Figura 16. Fluxograma 3 – Imunoensaio de 4ª geração seguido de teste molecular como teste complementar



Fonte: DIAHV/SVS/MS.

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

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



O Fluxograma 3 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.

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

Quadro 1. Sensibilidade clínica do Fluxograma 3 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	∞
Inicial (T1)	IE4 ^a G						
Complementar (T2)	TM						
Complementar (T3)	WB, IB ou IBR						

Legendas:

-  Resultado reagente ou detectável
-  Resultado indeterminado

Fonte: DIAHV/SVS/MS.

Fundamentação

O Fluxograma 3 utiliza um IE4^aG como teste inicial e um TM como teste complementar para amostras reagentes no primeiro teste. Esse fluxograma aumenta a probabilidade de diagnosticar infecção aguda pelo HIV. Entretanto, em caso de suspeita de infecção aguda, siga as orientações contidas no item 10.1 deste manual. O emprego de um IE 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.

Procedimento

A amostra deverá ser submetida ao ensaio inicial IE4^aG. Aquela com resultado não reagente no IE4^aG será definida como: **“Amostra não reagente para HIV”**. O laudo deverá ser emitido com a seguinte ressalva: **“Resultado obtido conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra”**.

O Fluxograma 3 aumenta a probabilidade de diagnosticar infecção aguda pelo HIV. Entretanto, em caso de suspeita de infecção aguda, siga as orientações contidas no item 10.1 deste manual.

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 será definida como **“Amostra reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Para a 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”**.

A 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.

A segunda amostra deverá ser submetida ao ensaio inicial IE4^aG. A amostra com resultado reagente no IE será definida como **“Amostra reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado obtido com a segunda amostra, utilizando o Fluxograma 3, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**.

Na eventualidade de o resultado da segunda amostra ser não reagente no IE4^aG, o serviço de saúde deve considerar a possibilidade de troca de amostra ou resultado falso-reagente no primeiro IE realizado e repetir o Fluxograma 3 com uma terceira amostra. Essa terceira amostra deverá ser colhida o mais rapidamente possível e testada preferencialmente no mesmo local em que se realizaram os testes com as amostras anteriores. É responsabilidade do profissional de saúde que atender essa pessoa solicitar e identificar o pedido do exame como terceira 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.

A amostra com resultado reagente no IE4^aG e com número de cópias inferior a 5.000 cópias/mL ou abaixo do **limite de detecção⁶** no TM deverá ser submetida ao ensaio WB, IB ou IBR. Se o teste complementar escolhido pelo serviço de saúde for o IBR, este somente poderá 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, a amostra será definida como **“Amostra indeterminada para HIV”**. O laudo laboratorial deverá ser emitido com a seguinte ressalva: **“Resultado obtido utilizando o Fluxograma 3, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. 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 WB, IB ou IBR será definida 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 as seguintes ressalvas: **“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”**.

A 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.

A segunda amostra deverá ser submetida ao ensaio inicial IE4^aG. A amostra com resultado reagente no IE será definida como **“Amostra reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado obtido com a segunda amostra, utilizando o Fluxograma 3, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**.

Na eventualidade de o resultado da segunda amostra ser não reagente no IE4^aG, o serviço de saúde deve considerar a possibilidade de troca de amostra ou resultado falso-reagente no primeiro IE4^aG realizado e repetir o Fluxograma 3 com uma terceira amostra. Essa terceira amostra deverá ser colhida o mais rapidamente possível e testada preferencialmente no mesmo local em que se realizaram os testes com as amostras anteriores. É responsabilidade do profissional de saúde que atender essa pessoa solicitar e identificar o pedido do exame como terceira 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.

A amostra com resultado não reagente ou indeterminado no WB ou IB ou IBR será definida como **“Amostra indeterminada 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: **“Resultado obtido utilizando o Fluxograma 3, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. 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. Se o resultado com a nova amostra permanecer indeterminado, considerar a possibilidade de infecção pelo HIV-2. Nesse caso, deve-se contatar o DIAHV para obter orientação 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 (CO, do inglês *cut-off*) e a unidade de medição do método utilizado, excetuando-se os resultados obtidos por testes cuja leitura é visual. Os TM quantitativos devem ser expressos por meio do número de cópias por mL de plasma e da escala logarítmica em base 10, indicando os limites superior e inferior de detecção, conforme orientado pelo fabricante. 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. A especificidade de um TM varia de acordo com o conjunto diagnóstico utilizado. Em sua maioria, resultados falso-reagentes 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 DIAHV sugere cautela na interpretação de resultados de TM inferiores a 5.000 cópias/mL. Nesses casos, deve-se realizar WB ou IB ou IBR.
2. A ocorrência de resultado reagente no IE 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/CO⁶** baixa, ao passo que indivíduos controladores de elite apresentam uma resposta imune humoral normal e uma relação DO/CO alta.
3. Existem três situações nas quais esse fluxograma implica a necessidade da realização de testes adicionais (WB, IB ou IBR) para a definição do diagnóstico:
 - » Resultado falso-reagente no T1 (IE4[®]G);
 - » Controladores de elite: desenvolvem anticorpos normalmente, mas podem apresentar TM inferior a 5.000 cópias/mL;
 - » Suspeita de infecção pelo HIV-2: embora os IE 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, deve-se contatar o DIAHV para obter orientação quanto aos procedimentos visando o envio da amostra ao Laboratório de Referência Nacional para HIV-2 (ver item 10.2);



4. Os diversos TM 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 TM.

A Tabela 7 resume as principais informações do Fluxograma 3.

Tabela 7. Resumo do Fluxograma 3 – Imunoensaio de 4ª geração seguido de teste molecular como teste complementar

AMOSTRA 1			AMOSTRA 2			RESULTADO	OBSERVAÇÕES	DESDOBRAMENTOS
ENSAIOS REALIZADOS			ENSAIOS REALIZADOS					
IE4ªG	TM	WB/IB/IBR*	IE4ªG	TM	WB/IB/IBR			
Não reagente						"Amostra não reagente para HIV"	Resultado obtido conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.	
Reagente								Realizar TM
Reagente	Igual ou superior 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 nº 29, de 17 de dezembro de 2013.	Coletar segunda amostra
Reagente	Igual ou superior a 5.000 cópias/mL		Reagente			"Amostra reagente para HIV"	Resultado obtido com a segunda amostra, utilizando o Fluxograma 3, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.	

continuação



continuação

AMOSTRA 1			AMOSTRA 2			RESULTADO	OBSERVAÇÕES	DESDOBRA- -MENTOS
ENSAIOS REALIZADOS			ENSAIOS REALIZADOS					
IE4ºG	TM	WB/IB/IBR*	IE4ºG	TM	WB/ IB/ IBR			
Reagente	Igual ou superior a 5.000 cópias/mL		Não reagente					Considerar a possibilidade de troca de amostra e repetir o fluxograma com uma terceira amostra.
Reagente	Inferior a 5.000 cópias/mL ou abaixo do limite de detecção							Realizar WB, IB ou IBR
Reagente	Inferior a 5.000 cópias/mL ou abaixo do limite de detecção	Reagente				“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 nº 29, de 17 de dezembro de 2013.	Coletar segunda amostra
Reagente	Inferior a 5.000 cópias/mL ou abaixo do limite de detecção	Reagente	Reagente			“Amostra reagente para HIV”	Resultado obtido com a segunda amostra, utilizando o Fluxograma 3, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.	
Reagente	Inferior a 5.000 cópias/mL ou abaixo do limite de detecção	Reagente	Não reagente					Considerar a possibilidade de troca de amostra e repetir o fluxograma com uma terceira amostra.

continuação

continuação

AMOSTRA 1			AMOSTRA 2			RESULTADO	OBSERVAÇÕES	DESDOBRAMENTOS
ENSAIOS REALIZADOS			ENSAIOS REALIZADOS					
IE4 ^a G	TM	WB/IB/IBR*	IE4 ^a G	TM	WB/IB/IBR			
Reagente	Inferior a 5.000 cópias/mL ou abaixo do limite de detecção	Não reagente ou indeterminado				"Amostra indeterminada para HIV"	Resultado obtido utilizando o Fluxograma 3, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.	Se o resultado com a nova amostra permanecer indeterminado, considerar a possibilidade de infecção pelo HIV-2. Nesse caso, contatar o DIAHV para obter orientação quanto aos procedimentos visando o envio da amostra ao Laboratório de Referência Nacional para HIV-2.

Fonte: DIAHV/SVS/MS.

*Se o teste complementar escolhido pelo serviço de saúde for o IBR, este somente poderá 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.

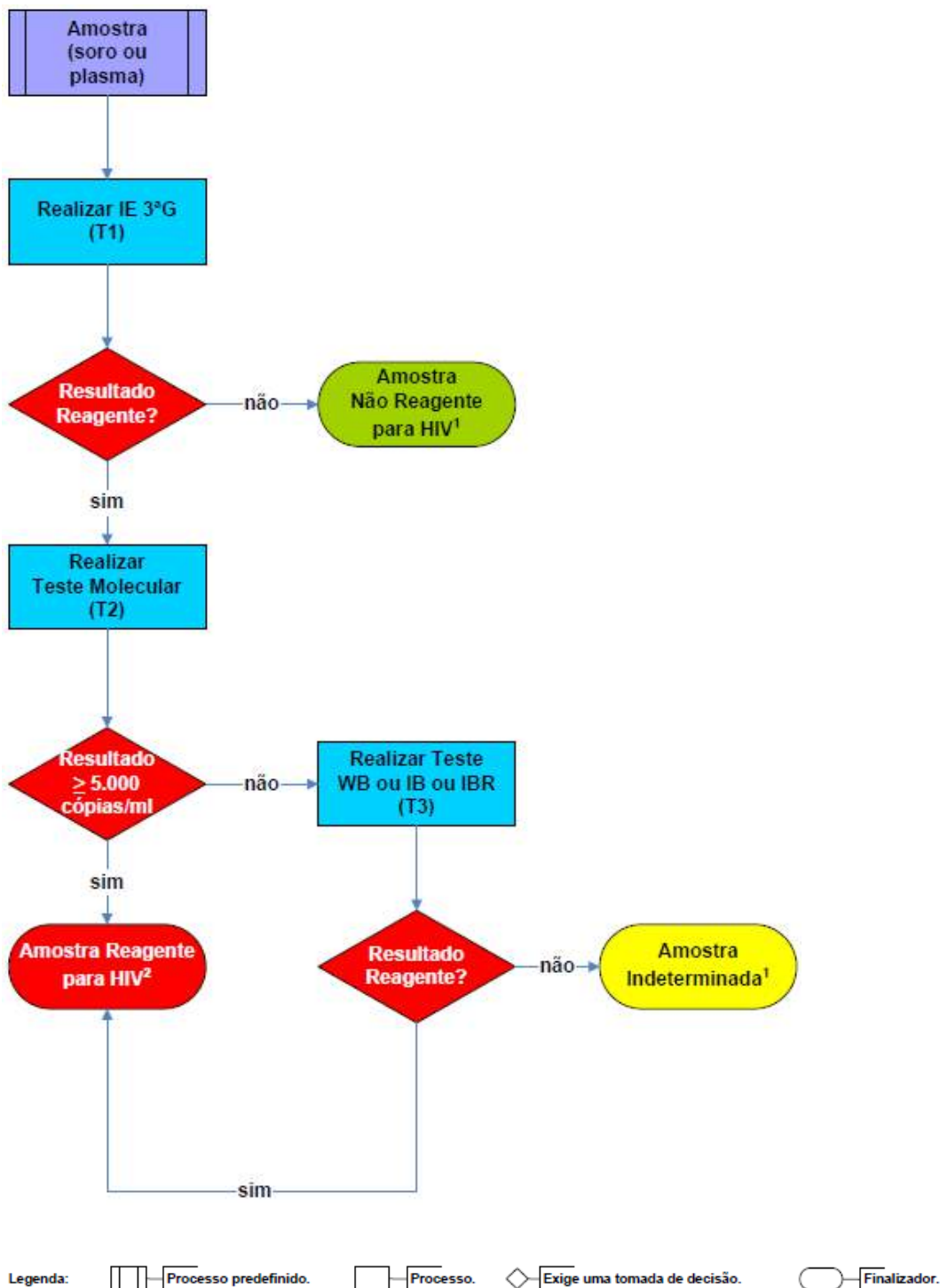
8.2.2 Fluxograma 4 – Imunoensaio de 3ª geração seguido de teste molecular como teste complementar

O Fluxograma 4 emprega um imunoensaio de 3ª geração (IE3^aG) como teste inicial e um teste molecular (TM) como teste complementar para amostras reagentes no teste inicial (Figura 17). O IE3^aG deve ser capaz de detectar anticorpos anti-HIV-1, incluindo o grupo O, e anticorpos anti-HIV-2.

Os Fluxogramas 3 e 4 diferem na geração do imunoensaio (IE) utilizado na etapa inicial.



Figura 17. Fluxograma 4 – Imunoensaio de 3ª geração seguido de teste molecular como teste complementar



Fonte: DIAHV/SVS/MS.

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 3ºG para concluir o resultado.

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.

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

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	∞
Inicial (T1)	IE3 ^a G						
Complementar (T2)	TM						
Complementar (T3)	WB, IB ou IBR						

Legendas:

 Resultado reagente ou detectável
 Resultado indeterminado

Fonte: DIAHV/SVS/MS.

Fundamentação

O Fluxograma 4 utiliza um IE3^aG como teste inicial e um TM como teste complementar para amostras reagentes no primeiro teste. O emprego de um IE inicial 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. O Fluxograma 4 não é apropriado para o diagnóstico de infecção aguda pelo HIV. Em caso de suspeita de infecção aguda, siga as orientações contidas no item 10.1 deste manual.

Procedimento

A amostra deverá ser submetida ao ensaio inicial IE3^aG. A amostra com resultado não reagente no IE3^aG será definida como: **“Amostra não reagente para HIV”**. O laudo deverá ser emitido com a seguinte ressalva: **“Resultado obtido conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. 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 será definida 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”**.

A 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.

A segunda amostra deverá ser submetida ao ensaio inicial IE3^aG. A amostra com resultado reagente no IE será definida como **“Amostra reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado obtido com a segunda amostra, utilizando o Fluxograma 4, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**.

Na eventualidade de o resultado da segunda amostra ser não reagente no IE3^aG, o serviço de saúde deve considerar a possibilidade de troca de amostra ou resultado falso-reagente no primeiro IE realizado e repetir o Fluxograma 4 com uma terceira amostra. Essa terceira amostra deverá ser colhida o mais rapidamente possível e testada preferencialmente no mesmo local em que se realizaram os testes com as amostras anteriores. É responsabilidade do profissional de saúde que atender essa pessoa solicitar e identificar o pedido do exame como terceira 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.

A amostra com resultado reagente no IE3^aG e com número de cópias inferior a 5.000 cópias/mL ou abaixo do limite de detecção no TM deverá ser submetida ao ensaio WB, IB ou IBR. Se o teste complementar escolhido pelo serviço de saúde for o IBR, este somente poderá 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, o resultado deverá ser liberado como **“Amostra indeterminada para HIV”**. O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado obtido utilizando Fluxograma 4, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. 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 WB, IB ou IBR será definida 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 4, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**.

A 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.

A segunda amostra deverá ser submetida ao ensaio inicial IE3^aG. A amostra com resultado reagente no IE será definida como **“Amostra reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá ser emitido com a seguinte ressalva: **“Resultado obtido com a segunda amostra, utilizando Fluxograma 4, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**.

Na eventualidade de o resultado da segunda amostra ser não reagente no IE3^aG, o serviço de saúde deve considerar a possibilidade de troca de amostra ou resultado falso-reagente no primeiro IE3^aG realizado e repetir o Fluxograma 4 com uma terceira amostra. Essa terceira amostra deverá ser colhida o mais rapidamente possível e testada preferencialmente no mesmo local em que se realizaram os testes com as amostras anteriores. É responsabilidade do profissional de saúde que atender essa pessoa solicitar e identificar o pedido do exame como terceira 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.

A amostra com resultado não reagente ou indeterminado no WB ou IB ou IBR será definida como **“Amostra indeterminada 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: **“Resultado obtido utilizando o Fluxograma 4, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. 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. Se o resultado com a nova amostra permanecer indeterminado, considerar a possibilidade de infecção pelo HIV-2. Nesse caso, deve-se contatar o DIAHV para obter orientação 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 (CO, do inglês *cut-off*) e a unidade de medição do método utilizado, excetuando-se os resultados obtidos por testes cuja leitura é visual. Os TM quantitativos devem ser expressos por meio do número de cópias por mL de plasma e da escala logarítmica em base 10, indicando os limites superior e inferior de detecção, conforme orientado pelo fabricante. 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. A especificidade de um TM varia de acordo com o conjunto diagnóstico utilizado. Em sua maioria, resultados falso-reagentes 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 DIAHV sugere cautela na interpretação de resultados de TM inferiores a 5.000 cópias/mL. Nesses casos, deve-se realizar WB ou IB ou IBR.
2. A ocorrência de resultado reagente no IE 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, ao passo que indivíduos controladores de elite apresentam uma resposta imune humoral normal e uma relação DO/CO alta.
3. Existem três situações nas quais esse fluxograma implica a necessidade de realização de testes adicionais (WB, IB ou IBR) para a definição do diagnóstico:
 - » Resultado falso-reagente no T1 (IE3^aG);
 - » Controladores de elite: desenvolvem anticorpos normalmente, mas podem apresentar TM inferior a 5.000 cópias/mL;
 - » Suspeita de infecção pelo HIV-2: embora os IE 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, deve-se contatar o DIAHV para obter orientação quanto aos procedimentos visando o envio da amostra ao Laboratório de Referência Nacional para HIV-2 (ver o item 10.2);

4. Os diversos TM 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 TM.

A Tabela 8 resume as principais informações do Fluxograma 4.

Tabela 8. Resumo do Fluxograma 4 – Imunoensaio de 3ª geração seguido de teste molecular como teste complementar

AMOSTRA 1			AMOSTRA 2			RESULTADO	OBSERVAÇÕES	DESDOBRAMENTOS
ENSAIOS REALIZADOS			ENSAIOS REALIZADOS					
IE3ºG	TM	WB/IB/IBR*	IE3ºG	TM	WB/IB/IBR			
Não reagente						"Amostra não reagente para HIV"	Resultado obtido conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.	
Reagente								Realizar TM
Reagente	Igual ou superior 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 nº 29, de 17 de dezembro de 2013.	Coletar segunda amostra
Reagente	Igual ou superior a 5.000 cópias/mL		Reagente			"Amostra reagente para HIV"	Resultado obtido com a segunda amostra, utilizando o Fluxograma 4, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.	

continuação



continuação

AMOSTRA 1			AMOSTRA 2			RESULTADO	OBSERVAÇÕES	DESDOBRA- -MENTOS
ENSAIOS REALIZADOS			ENSAIOS REALIZADOS					
IE3ºG	TM	WB/IB/IBR*	IE3ºG	TM	WB/ IB/ IBR			
Reagente	Igual ou superior a 5.000 cópias/mL		Não reagente					Considerar a possibilidade de troca de amostra e repetir o fluxograma com uma terceira amostra.
Reagente	Inferior a 5.000 cópias/mL ou abaixo do limite de detecção							Realizar WB, IB ou IBR
Reagente	Inferior a 5.000 cópias/mL ou abaixo do limite de detecção	Reagente				“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 no 29, de 17 de dezembro de 2013.	Coletar segunda amostra.
Reagente	Inferior a 5.000 cópias/mL ou abaixo do limite de detecção	Reagente	Reagente			“Amostra reagente para HIV”	Resultado obtido com a segunda amostra, utilizando o Fluxograma 4, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.	
Reagente	Inferior a 5.000 cópias/mL ou abaixo do limite de detecção	Reagente	Não reagente					Considerar a possibilidade de troca de amostra e repetir o fluxograma com uma terceira amostra.

continuação

continuação

AMOSTRA 1			AMOSTRA 2			RESULTADO	OBSERVAÇÕES	DESDOBRA- -MENTOS
ENSAIOS REALIZADOS			ENSAIOS REALIZADOS					
IE3ªG	TM	WB/IB/ IBRa	IE3ªG	TM	WB/ IB/ IBR			
Reagente	Inferior a 5.000 cópias/mL ou abaixo do limite de detecção	Não reagente ou Indeterminado				"Amostra indeterminada para HIV"	Resultado obtido utilizando o Fluxograma 4, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.	Se o resultado com a nova amostra permanecer indeterminado, considerar a possibilidade de infecção pelo HIV-2. Nesse caso, contatar o DIAHV para obter orientação quanto aos procedimentos visando o envio da amostra ao Laboratório de Referência Nacional para HIV-2.

Fonte: DIAHV/SVS/MS.

*Se o teste complementar escolhido pelo serviço de saúde for o IBR, este somente poderá 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.

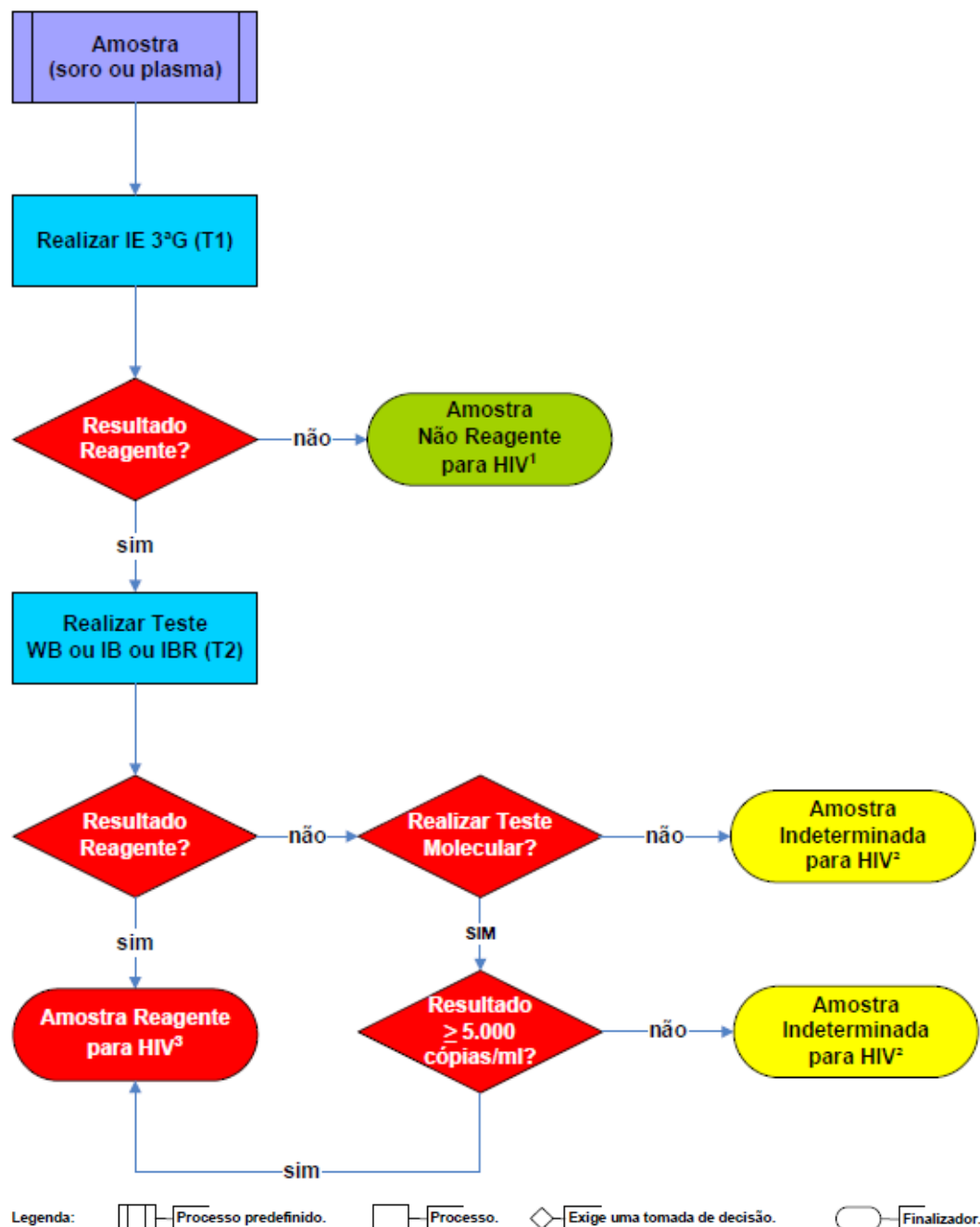
8.2.3 Fluxograma 5 – Imunoensaio de 3ª geração seguido de western blot, imunoblot ou imunoblot rápido como teste complementar

O Fluxograma 5 emprega um imunoensaio de 3ª geração (IE3^aG) como teste inicial e um western blot (WB), imunoblot (IB) ou imunoblot rápido (IBR) como teste complementar para amostras reagentes no teste inicial (Figura 18). O IE deve ser capaz de detectar anticorpos anti-HIV-1, incluindo o grupo O, e anticorpos anti-HIV-2.

O DIAHV recomenda aos serviços de saúde que utilizam este fluxograma que considerem a adoção do Fluxograma 3, devido aos benefícios diagnósticos anteriormente apresentados.



Figura 18. Fluxograma 5 – Imunoensaio de 3ª geração seguido de western blot, imunoblot ou imunoblot rápido como teste complementar



Fonte: DIAHV/SVS/MS.

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.

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.

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

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	∞
Inicial (T1)	IE3 ^a G						
Complementar (T2)	WB, IB ou IBR						
Complementar (T3)	TM						

Legendas:

 Resultado reagente ou detectável
 Resultado indeterminado

Fonte: DIAHV/SVS/MS.

Fundamentação

O Fluxograma 5 utiliza um IE3^aG como teste inicial e um WB, IB ou IBR como complementar para amostras reagentes no primeiro teste.

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

O Fluxograma 5 não é o mais apropriado para o diagnóstico de infecção aguda pelo HIV. Em caso de suspeita de infecção aguda, siga as orientações contidas no item 10.1 deste manual.

Procedimento

A amostra deverá ser submetida ao ensaio inicial IE3^aG. A amostra com resultado não reagente no IE3^aG será definida como: **“Amostra não reagente para HIV”**. O laudo deverá ser emitido com a seguinte ressalva: **“Resultado obtido conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra”**.



O Fluxograma 5 não é o mais apropriado para o diagnóstico de infecção aguda pelo HIV. Em caso de suspeita de infecção aguda, siga as orientações contidas no item 10.1 deste manual.

A amostra com resultado reagente no IE3^aG deverá ser submetida ao WB ou IB ou IBR. Se o teste complementar escolhido pelo serviço de saúde for o IBR, este somente poderá 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 e submetida ao primeiro teste do Fluxograma 5.

A amostra com resultados reagentes no IE3^aG e no WB ou IB ou IBR será definida 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”**.

A 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.

A segunda amostra deverá ser submetida ao ensaio inicial IE3^aG. A amostra com resultado reagente no IE3^aG será definida como **“Amostra reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado obtido com a segunda amostra, utilizando Fluxograma 5, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**.

Na eventualidade de o resultado da segunda amostra ser não reagente no IE3^aG, o serviço de saúde deve considerar a possibilidade de troca de amostra ou resultado falso-reagente no primeiro IE3^aG realizado e repetir o Fluxograma 5 com uma terceira amostra. Essa terceira amostra deverá ser colhida o mais rapidamente possível e testada preferencialmente no mesmo local em que se realizaram os testes com as amostras anteriores. É responsabilidade do profissional de saúde que atender essa pessoa solicitar e identificar o pedido do exame como terceira 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.

Caso o laboratório não disponha de tecnologia para a realização do TM, a amostra com resultado reagente no IE3^aG e resultado indeterminado ou não reagente no WB ou IB ou IBR será definida como **“Amostra indeterminada para HIV”**. O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado obtido utilizando o Fluxograma 5, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. 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 5, preferencialmente no mesmo local em que se realizou o teste com a primeira amostra. Se o resultado com a nova amostra permanecer indeterminado, considerar a possibilidade de resultado falso-reagente no IE3^aG ou de infecção pelo HIV-2. Nesse caso, deve-se contatar o DIAHV para obter orientação 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 IE3^aG e resultado indeterminado ou não reagente no WB ou IB ou IBR deverá ser submetida ao TM, caso o laboratório disponha dessa tecnologia. A amostra com resultado reagente no IE3^aG e submetida ao TM que apresentar resultado igual ou superior a 5.000 cópias/mL será definida 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”**.

A 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.

A segunda amostra deverá ser submetida ao ensaio inicial IE3^aG. A amostra com resultado reagente no IE3^aG será definida como **“Amostra reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado obtido com a segunda amostra, utilizando Fluxograma 5, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**.

Na eventualidade de o resultado da segunda amostra ser não reagente no IE3^aG, o serviço de saúde deve considerar a possibilidade de troca de amostra ou resultado falso-reagente no primeiro IE3^aG realizado, e repetir o Fluxograma 5 com uma terceira amostra. Essa terceira amostra deverá ser colhida o mais rapidamente possível e testada preferencialmente no mesmo local em que se realizaram os testes com as amostras anteriores. É responsabilidade do profissional de saúde que atender essa pessoa solicitar e identificar o pedido do exame como terceira 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.



A amostra com resultado reagente no IE3^aG e resultado indeterminado ou não reagente no WB ou IB ou IBR deverá ser submetida ao TM, caso o laboratório disponha dessa tecnologia. A amostra com resultado reagente no IE3^aG e submetida ao TM que apresentar resultado inferior a 5.000 cópias/mL será definida como **“Amostra indeterminada para HIV”**, e o laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado obtido utilizando o Fluxograma 5, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. 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 5, preferencialmente no mesmo local em que se realizou o teste com a primeira amostra. Se o resultado com a nova amostra permanecer indeterminado, considerar a possibilidade de resultado falso-reagente no IE3^aG ou de infecção pelo HIV-2. Nesse caso, deve-se contatar o DIAHV para obter orientação quanto aos procedimentos a serem seguidos visando o envio da amostra ao Laboratório de Referência Nacional para HIV-2.

Considerações para a utilização do Fluxograma 5

1. 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 acessível. O único avanço oferecido neste fluxograma é a indicação de que, quando possível, seja realizado um TM nas amostras que apresentarem resultado indeterminado ou discordante entre o IE e o WB ou IB ou IBR.
2. Os diversos TM 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 TM.

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 (CO, do inglês *cut-off*) 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 – Imunoensaio de 3ª geração seguido de western blot, imunoblot ou imunoblot rápido como teste complementar

LABORATÓRIO NÃO DISPÕE DE TECNOLOGIA PARA A REALIZAÇÃO DO TM						
AMOSTRA 1		AMOSTRA 2		RESULTADO	OBSERVAÇÕES	DESDOBRA- -MENTOS
ENSAIOS REALIZADOS		ENSAIOS REA- LIZADOS				
IE3ªG	WB/IB/IBR*	IE3ªG	WB/ IB/ IBR*			
Não reagente				“Amostra não reagente para HIV”	Resultado obtido conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.	
Reagente						Realizar WB/IB/IBR
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.	Coletar segunda amostra.
Reagente	Reagente	Reagente		“Amostra reagente para HIV”	Resultado obtido com a segunda amostra, utilizando Fluxograma 5, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.	
Reagente	Reagente	Não reagente				Considerar a possibilidade de troca de amostra e repetir o fluxograma com uma terceira amostra.
Reagente	Não reagente ou Indeterminado			“Amostra indeterminada para HIV”	Resultado obtido utilizando o Fluxograma 5, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.	Caso o resultado com a nova amostra permaneça indeterminado, considerar a possibilidade de resultado falso-reagente no IE3ªG ou de infecção pelo HIV-2.

continuação



continuação

LABORATÓRIO DISPÕE DE TECNOLOGIA PARA A REALIZAÇÃO DO TM								
AMOSTRA 1			AMOSTRA 2			RESULTADO	OBSERVAÇÕES	DESDOBRAMENTOS
ENSAIOS REALIZADOS			ENSAIOS REALIZADOS					
IE3ºG	WB/IB/IBR*	TM	IE3ºG	WB/IB/IBR*	TM			
Não reagente						“Amostra não reagente para HIV”	Resultado obtido conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.	
Reagente								Realizar WB/IB/IBR
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.	Coletar segunda amostra
Reagente	Reagente		Reagente			“Amostra reagente para HIV”	Resultado obtido com a segunda amostra, utilizando Fluxograma 5, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.	
Reagente	Reagente		Não reagente					Considerar a possibilidade de troca de amostra e repetir o fluxograma com uma terceira amostra.
Reagente	Não reagente ou Indeterminado							Realizar TM

continuação

continuação

continuação

AMOSTRA 1			AMOSTRA 2			RESUL- -TADO	OBSERVAÇÕES	DESDOBRAM- ENTOS
ENSAIOS REALIZADOS			ENSAIOS REALIZADOS					
IE3ªG	WB/IB/IBR*	TM	IE3ªG	WB/ IB/ IBR*	TM			
Reagente	Não rea- gente ou Indetermi- -nado	Igual ou superior a 5.000 cópias/ mL				"Amostra re- agente para HIV"	Para confirma- ção do diagnós- tico laboratorial, uma segunda amostra deverá ser coletada e submetida ao primeiro teste do Fluxograma 5, conforme es- tabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.	Coletar segunda amostra
Reagente	Não rea- gente ou Indetermi- -nado	Igual ou superior a 5.000 cópias/ mL	Reagente			"Amostra re- agente para HIV"	Resultado obtido com a segunda amostra, utilizan- do Fluxograma 5, conforme es- tabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.	
Reagente	Não rea- gente ou Indetermi- -nado	Igual ou superior a 5.000 cópias/ mL	Não reagente					Considerar a possibilida- de de troca de amostra e repetir o fluxograma com uma terceira amostra.
Reagente	Não rea- gente ou Indetermi- -nado	Inferior a 5.000 có- pias/mL				"Amostra indetermi- -nada para HIV"	Resultado obti- do utilizando o Fluxograma 5, conforme esta- belecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Persis- tindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.	Caso o resultado com a nova amostra permaneça indetermi- -nado, deve-se considerar a possibilida- de de resul- tado falso- -reagente no IE3ªG ou de infecção pelo HIV-2.

Fonte: DIAHV/SVS/MS.

continuação

*Se o teste complementar escolhido pelo serviço de saúde for o IBR, este somente poderá 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.



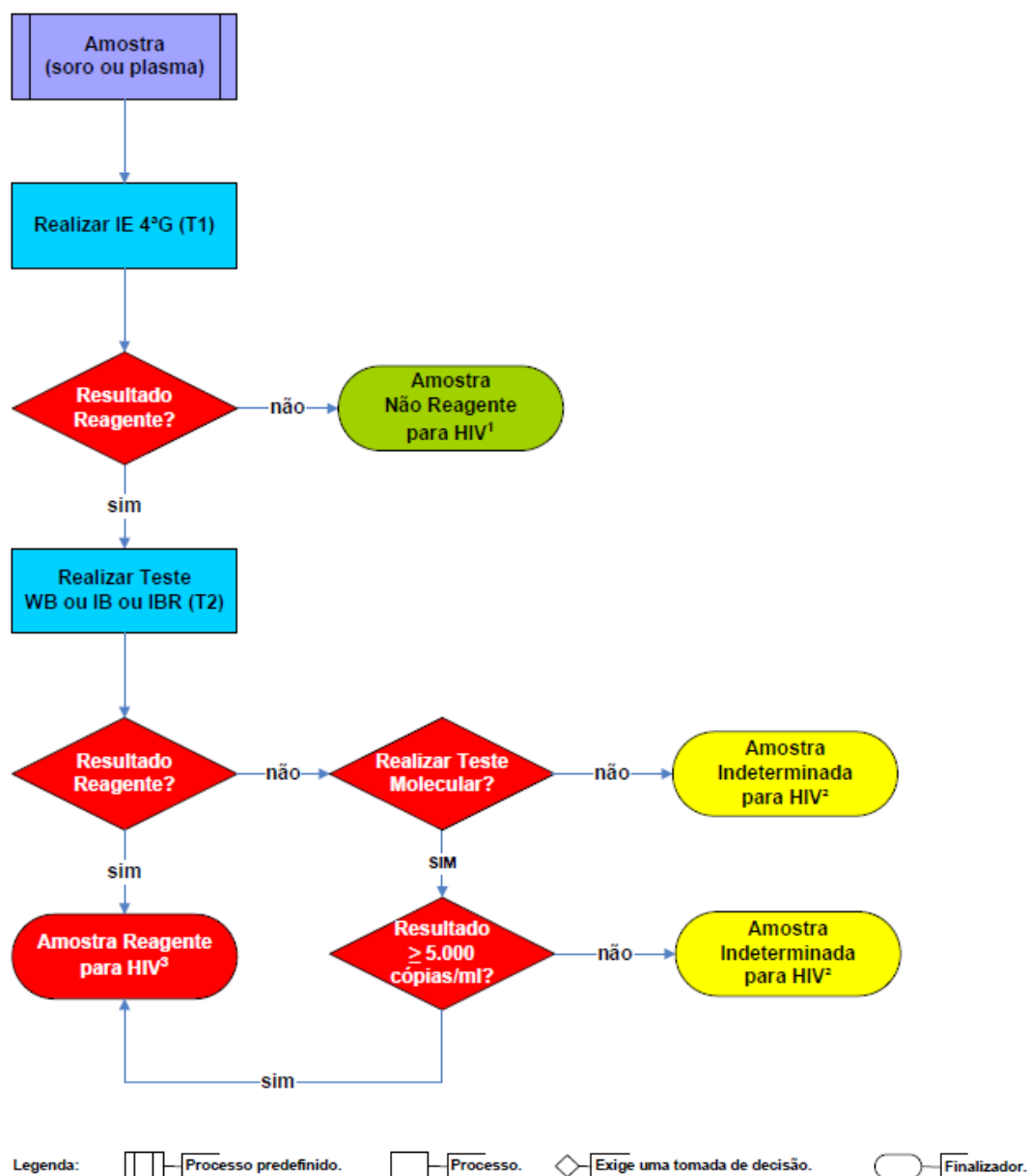
8.2.4 Fluxograma 6 – Imunoensaio de 4ª geração seguido de western blot, imunoblot ou imunoblot rápido como teste complementar

O Fluxograma 6 emprega um imunoensaio de 4ª geração (IE4ªG) como teste inicial e um western blot (WB), imunoblot (IB) ou imunoblot rápido (IBR) como teste complementar para amostras reagentes no teste inicial (Figura 19). O IE deve ser capaz de detectar anticorpos anti-HIV-1, incluindo o grupo O, e anticorpos anti-HIV-2.

O DIAHV recomenda aos serviços de saúde que utilizam este fluxograma que considerem a adoção do Fluxograma 3, devido aos benefícios diagnósticos anteriormente apresentados.

Os Fluxogramas 5 e 6 diferem quanto à geração do imunoensaio (IE) utilizado na etapa inicial.

Figura 19. Fluxograma 6 – Imunoensaio de 4ª geração seguido de western blot, imunoblot ou imunoblot rápido como teste complementar



Fonte: DIAHV/SVS/MS.

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

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

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



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.

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

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	∞
Inicial	IE4 ^a G						
Complementar (T2)	WB, IB ou IBR						
Complementar (T3)	TM						

Legendas:

-  Resultado reagente ou detectável
-  Resultado indeterminado

Fonte: DIAHV/SVS/MS.

Fundamentação

O Fluxograma 6 utiliza um IE4^aG como teste inicial e um WB, IB ou IBR como teste complementar para amostras reagentes no primeiro teste.

Diante dos avanços tecnológicos, este fluxograma apresenta limitações. Para que ele alcance desempenho comparável aos Fluxogramas 3 e 4, foi acrescentado um TM para os casos em que não tenha sido possível estabelecer o diagnóstico conclusivo com IE4^aG seguido de WB, IB ou IBR.

O Fluxograma 6 não é o mais apropriado para o diagnóstico de infecção aguda pelo HIV. Em caso de suspeita de infecção aguda, siga as orientações contidas no item 10.1 deste manual.

Procedimento

A amostra deverá ser submetida ao ensaio inicial IE4^aG. A amostra com resultado não reagente no IE4^aG será definida como: **“Amostra não reagente para HIV”**. O laudo deverá ser emitido com a seguinte ressalva: **“Resultado obtido conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra”**.

O Fluxograma 6 não é o mais apropriado para o diagnóstico de infecção aguda pelo HIV. Em caso de suspeita de infecção aguda, siga as orientações contidas no item 10.1 deste manual.

A amostra com resultado reagente no IE4^aG deverá ser submetida ao WB ou IB ou IBR. Se o teste complementar escolhido pelo serviço de saúde for o IBR, este somente poderá 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 e submetida ao primeiro teste do Fluxograma 6.

A amostra com resultados reagentes no IE4^aG e no WB ou IB ou IBR será definida 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 6, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**.

A 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.

A segunda amostra deverá ser submetida ao ensaio inicial IE4^aG. A amostra com resultado reagente no IE4^aG será definida como **“Amostra reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá ser emitido com a seguinte ressalva: **“Resultado obtido com a segunda amostra, utilizando o Fluxograma 6, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**.

Na eventualidade de o resultado da segunda amostra ser não reagente no IE4^aG, o serviço de saúde deve considerar a possibilidade de troca de amostra ou resultado falso-reagente no primeiro IE4^aG realizado e repetir o Fluxograma 6 com uma terceira amostra. Essa terceira amostra deverá ser colhida o mais rapidamente possível e testada preferencialmente no mesmo local em que se realizaram os testes com as amostras anteriores. É responsabilidade do profissional de saúde que atender essa pessoa solicitar e identificar o pedido do exame como terceira 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.



A amostra com resultado reagente no IE4^aG e resultado indeterminado ou não reagente no WB ou IB ou IBR, caso o laboratório não disponha de tecnologia para a realização do TM, será definida como **“Amostra indeterminada para HIV”**. O laudo laboratorial deverá ser emitido com a seguinte ressalva: **“Resultado obtido utilizando o Fluxograma 6, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. 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 6, 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 IE4^aG ou de infecção pelo HIV-2. Nesse segundo caso, deve-se contatar o DIAHV para obter orientação quanto aos procedimentos a serem seguidos visando o envio da amostra ao Laboratório de Referência Nacional para HIV-2.

Caso o laboratório disponha de tecnologia para a realização do TM, a amostra com resultado reagente no IE4^aG e resultado indeterminado ou não reagente no WB ou IB ou IBR deverá ser submetida ao TM. A amostra com resultado reagente no IE4^aG e submetida ao TM que apresentar resultado igual ou superior a 5.000 cópias/mL será definida como: **“Amostra reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá ser emitido com 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”**.

A 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.

A segunda amostra deverá ser submetida ao ensaio inicial IE4^aG. A amostra com resultado reagente no IE4^aG será definida como **“Amostra reagente para HIV”**. O laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado obtido com a segunda amostra, utilizando o Fluxograma 6, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013”**.

Na eventualidade de o resultado da segunda amostra ser não reagente no IE4^aG, o serviço de saúde deve considerar a possibilidade de troca de amostra ou resultado falso-reagente no primeiro IE4^aG realizado e repetir o Fluxograma 6 com uma terceira amostra. Essa terceira amostra deverá ser colhida o mais rapidamente possível e testada preferencialmente no mesmo local em que se realizaram os testes com as amostras anteriores. É responsabilidade do profissional de saúde que atender essa pessoa solicitar e identificar o pedido do exame como terceira 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.

A amostra com resultado reagente no IE4^aG e resultado indeterminado ou não reagente no WB ou IB ou IBR, caso o laboratório disponha de tecnologia para a realização do TM, deverá ser submetida ao TM. A amostra com resultado reagente no IE4^aG e submetida ao TM que apresentar resultado inferior a 5.000 cópias/mL será definida como **“Amostra indeterminada para HIV”**, e o laudo laboratorial deverá incluir a seguinte ressalva: **“Resultado obtido utilizando o Fluxograma 6, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. 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 6, preferencialmente no mesmo local em que se realizou o teste com a primeira amostra. Se o resultado com a nova amostra permanecer indeterminado, considerar a possibilidade de resultado falso-reagente no IE4^aG ou de infecção pelo HIV-2. Nesse segundo caso, deve-se contatar o DIAHV para obter orientação quanto aos procedimentos a serem seguidos visando o envio da amostra ao Laboratório de Referência Nacional para HIV-2.

Considerações para a utilização do Fluxograma 6

1. 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 acessível. O único avanço oferecido neste fluxograma é a indicação de que, quando possível, seja realizado um TM nas amostras que apresentarem resultado indeterminado ou discordante entre o IE e o WB ou IB ou IBR.
2. Os diversos TM 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 TM.

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 (CO, do inglês *cut-off*) 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 – Imunoensaio de 4ª geração seguido de western blot, imunoblot ou imunoblot rápido como teste complementar

LABORATÓRIO NÃO DISPÕE DE TECNOLOGIA PARA A REALIZAÇÃO DO TM						
AMOSTRA 1		AMOSTRA 2		RESULTADO	OBSERVAÇÕES	DESDOBRAMENTOS
ENSAIOS REALIZADOS		ENSAIOS REALIZADOS				
IE4ªG	WB/IB/IBR*	IE4ªG	WB/IB/IBR*			
Não reagente				“Amostra não reagente para HIV”	Resultado obtido conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.	
Reagente						Realizar WB/IB/IBR
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.	Coletar segunda amostra
Reagente	Reagente	Reagente		“Amostra reagente para HIV”	Resultado obtido com a segunda amostra, utilizando Fluxograma 5, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.	
Reagente	Reagente	Não reagente				Considerar a possibilidade de troca de amostra e repetir o fluxograma com uma terceira amostra.
Reagente	Não reagente ou Indeterminado			“Amostra indeterminada para HIV”	Resultado obtido utilizando o Fluxograma 6, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.	Caso o resultado com a nova amostra permaneça indeterminado, deve-se considerar a possibilidade de resultado falso-reagente no IE4ªG ou de infecção pelo HIV-2.

continuação

Continuação

LABORATÓRIO DISPÕE DE TECNOLOGIA PARA A REALIZAÇÃO DO TM								
AMOSTRA 1			AMOSTRA 2			RESULTADO	OBSERVAÇÕES	DESDOBRA- -MENTOS
ENSAIOS REALIZADOS			ENSAIOS REALIZADOS					
IE4ºG	WB/IB/IBR*	TM	IE4ºG	WB/ IB/ IBR*	TM			
Não reagente						"Amostra não reagente para HIV"	Resultado obtido conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.	
Reagente								Realizar WB/IB/IBR
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.	Coletar segunda amostra
Reagente	Reagente		Reagente			"Amostra reagente para HIV"	Resultado obtido com a segunda amostra, utilizando Fluxograma 5, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.	
Reagente	Reagente		Não reagente					Considerar a possibilidade de troca de amostra e repetir o fluxograma com uma terceira amostra.
Reagente	Não reagente ou Indeterminado							Realizar TM

continuação



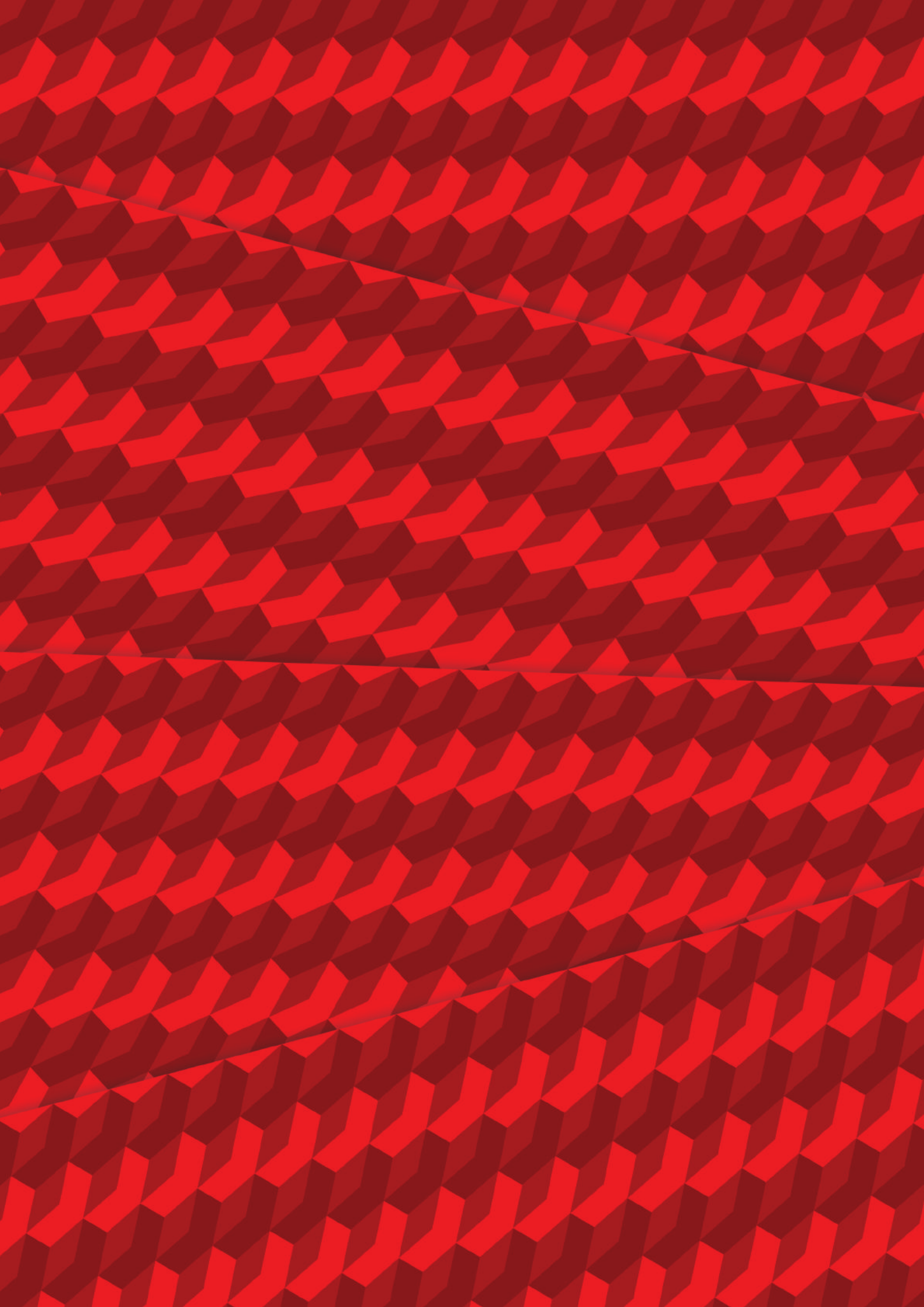
continuação

AMOSTRA 1			AMOSTRA 2			RESULTADO	OBSERVAÇÕES	DESDOBRAMENTOS
ENSAIOS REALIZADOS			ENSAIOS REALIZADOS					
IE4 ^a G	WB/IB/IBRa	TM	IE4 ^a G	WB/IB/IBRa	TM			
Reagente	Não reagente ou Indeterminado	Igual ou superior 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 6, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.	Coletar segunda amostra
Reagente	Não reagente ou Indeterminado	Igual ou superior a 5.000 cópias/mL	Reagente			“Amostra Reagente para HIV”	Resultado obtido com a segunda amostra, utilizando Fluxograma 5, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.	
Reagente	Não reagente ou Indeterminado	Igual ou superior a 5.000 cópias/mL	Não reagente					Considerar a possibilidade de troca de amostra e repetir o fluxograma com uma terceira amostra.
Reagente	Não reagente ou Indeterminado	Inferior a 5.000 cópias/mL				“Amostra Indeterminada para HIV”	Resultado obtido utilizando o Fluxograma 6, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.	Caso o resultado com a nova amostra permaneça indeterminado, deve-se considerar a possibilidade de resultado falso-reagente no IE4 ^a G ou de infecção pelo HIV-2.

Fonte: DIAHV/SVS/MS.

*Se o teste complementar escolhido pelo serviço de saúde for o IBR, este somente poderá 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.

continuação



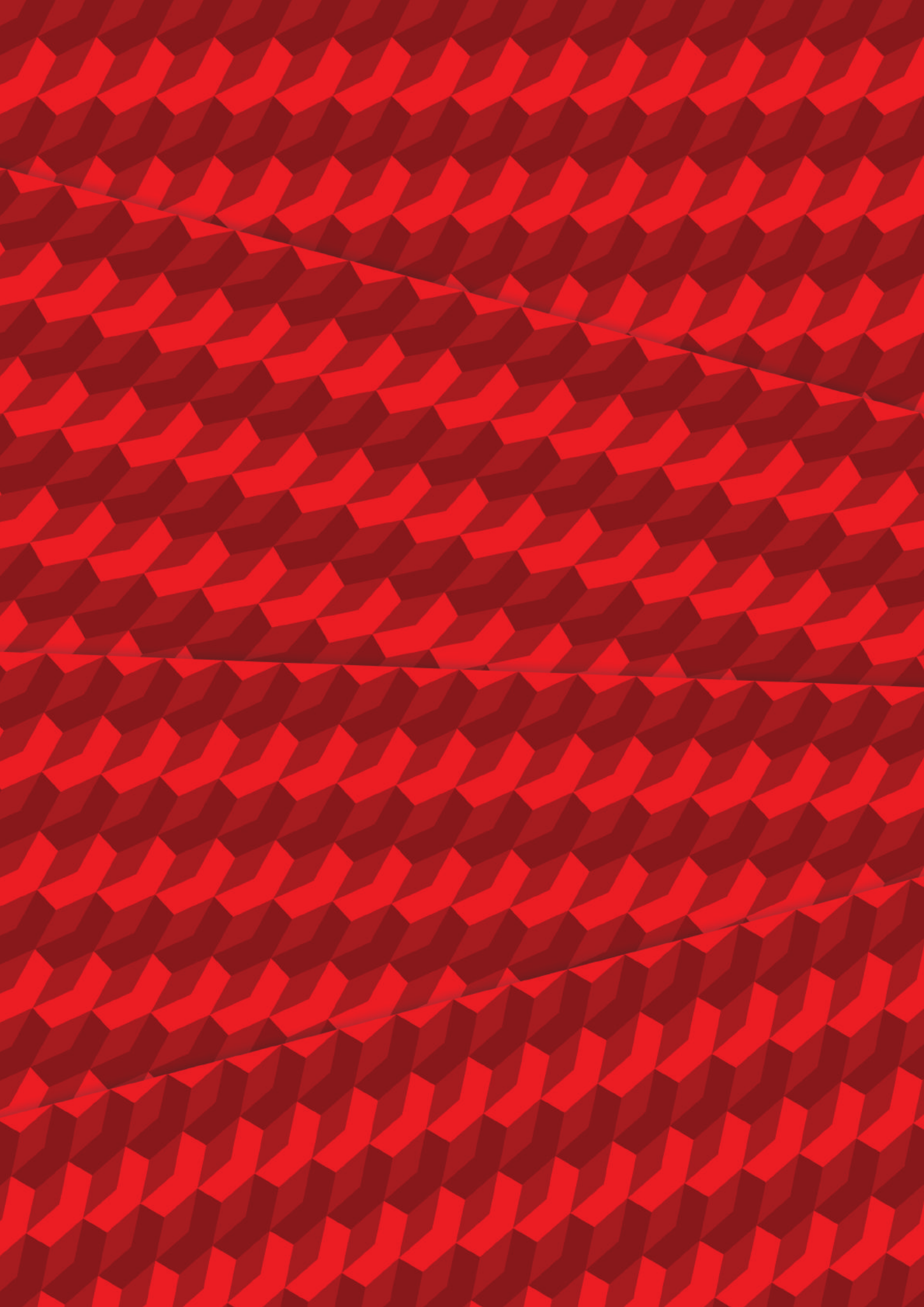


9. ESTRATÉGIAS PARA IDENTIFICAÇÃO PRECOCE DA INFECÇÃO PELO HIV EM CRIANÇAS MENORES DE 18 MESES

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 (CELLETTI; SHERMAN; MAZANDERANI, 2017).

A passagem transplacentária de anticorpos maternos do tipo IgG anti-HIV, principalmente no terceiro trimestre de gestação, interfere no diagnóstico sorológico da infecção por transmissão 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 a quantificação do RNA viral (carga viral – CV), disponibilizada pelo DIAHV (CDC, 2014; CELLETTI; SHERMAN; MAZANDERANI, 2017).

O exame de carga viral, para fins diagnósticos em crianças com idade inferior a 18 meses, deve ser realizado considerando as indicações do “Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Crianças e Adolescentes” disponível em: <http://aids.gov.br/pcdt>.





10. SITUAÇÕES ESPECIAIS DO DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO HIV

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

Essa recomendação se aplica aos casos em que 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 (TARV) deve basear-se no resultado do TM e nos dados clínicos e anamnese do indivíduo (FIEBIG et al., 2003; CDC, 2014; BOTTONE; BARTLETT, 2017). É importante ressaltar que a prescrição imediata da TARV tem o potencial de evitar a disseminação do HIV, além de preservar o sistema imune (CDC, 2014).

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 incluir a seguinte observação: **“Resultado de quantificação da carga viral igual ou superior a 5.000 cópias/mL é presuntivo de infecção pelo HIV. 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 incluir a seguinte observação: **“Amostra indeterminada para HIV. Persistindo a suspeita de infecção aguda pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 7 (sete) dias após a data da coleta desta amostra e submetida a um teste molecular”**.

c) Resultado inferior ao limite de detecção do TM.

Emitir o laudo informando o resultado obtido. O laudo deverá incluir a seguinte observação: **“Amostra com carga viral do HIV-1 não detectável. Persistindo a suspeita de infecção aguda pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 7 (sete) dias após a data da coleta desta amostra e submetida a um teste molecular”**.

10.2 Recomendações para o diagnóstico da infecção pelo HIV-2

Desde 2010, o Ministério da Saúde monitora o risco de infecção pelo HIV-2, a despeito de a infecção pelo HIV-1 ser a mais prevalente no Brasil. Essa medida se faz necessária tendo em vista o fluxo intenso de pessoas entre o Brasil e as áreas endêmicas para o HIV-2. A distinção entre HIV-1 e HIV-2 é fundamental para a administração correta do tratamento.

A seguir descrevem-se as circunstâncias de suspeita de infecção pelo HIV-2.

10.2.1 Testagem para HIV-2 em caso de suspeita epidemiológica

A testagem para HIV-2 deve ser sempre considerada nos casos em que um indivíduo apresente suspeita epidemiológica de risco pelo HIV-2, como (NICOLÁS et al., 2015):

- › Indivíduo proveniente de países em que o HIV-2 é endêmico;
- › Parcerias sexuais provenientes de países em que o HIV-2 é endêmico;
- › Parcerias sexuais sabidamente infectadas pelo HIV-2;
- › Transfusão de sangue ou injeções com agulhas não estéreis em países em que o HIV-2 é endêmico;
- › Compartilhamento de agulhas com pessoas provenientes de países em que o HIV-2 é endêmico ou com uma pessoa reconhecidamente infectada com HIV-2;
- › Filhos de mulheres que têm fatores de risco para o HIV-2 ou são sabidamente infectadas pelo HIV-2.

10.2.2 Outros casos de suspeita de HIV-2

Também se deve suspeitar de infecção pelo HIV-2 nos seguintes casos (NICOLÁS et al., 2015):

- › Suspeita clínica de aids, na ausência de um teste reagente para anticorpos anti-HIV-1, ou um WB/IB/IBR para HIV-1 com os padrões indeterminados incomuns, tais como presença de bandas de *gag* (p55, p24 ou p17) e da polimerase (p66, p51 ou p31) na ausência de *env* (gp160, gp120 ou gp41);
- › Pacientes com carga viral (CV) indetectável, com sintomatologia ou contagem de linfócitos T-CD4+ decrescente;

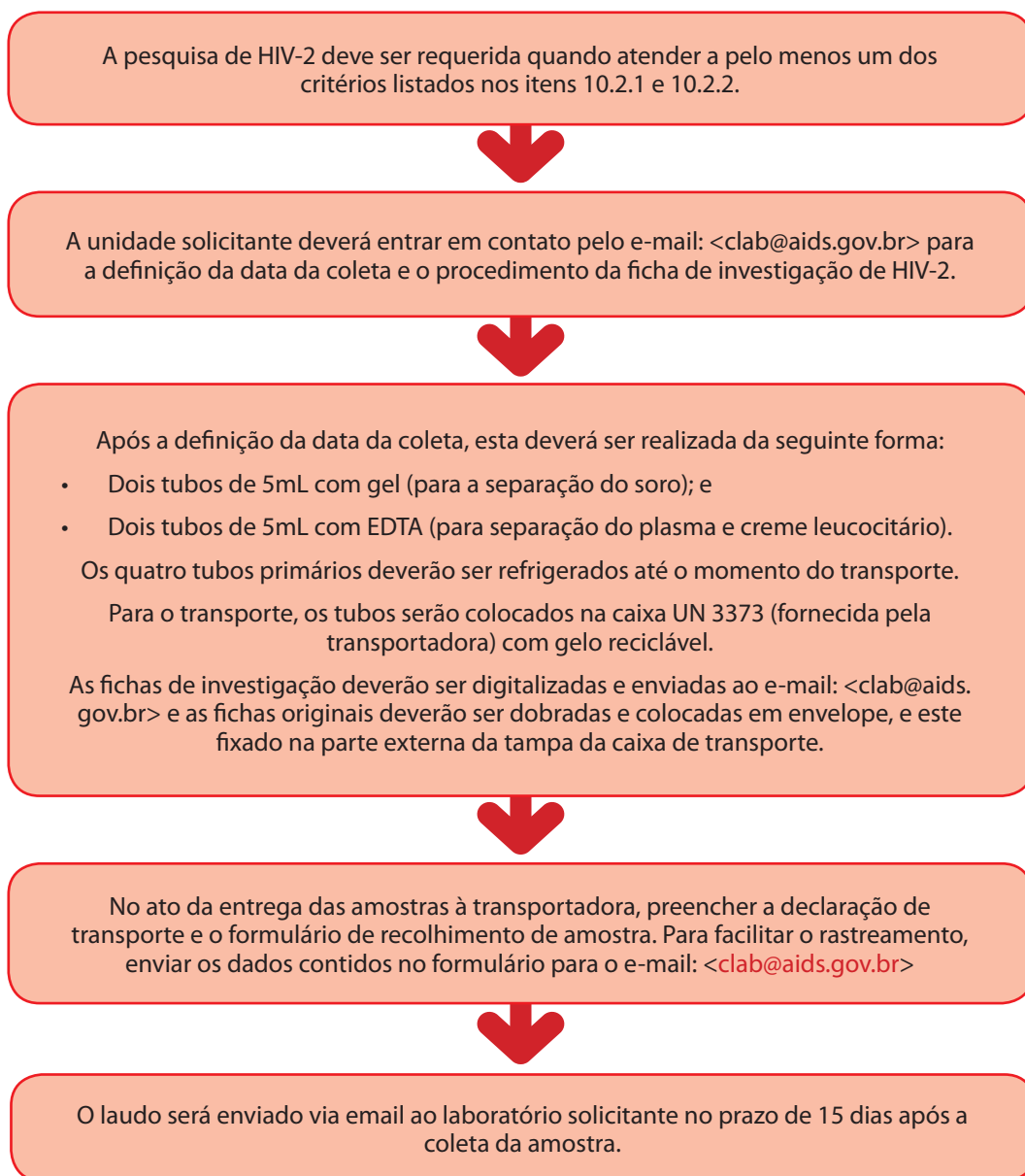


- › Imunoensaio reagente e WB/IB/IBR ou teste molecular (TM) não reagente, sempre que houver um elo epidemiológico com países endêmicos para HIV-2;
- › Testes sorológicos que indiquem reatividade para a proteína gp36 ou gp105 do HIV-2.

Em qualquer desses casos, deve-se contatar o DIAHV para obter orientação 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 20 – Procedimento para envio de amostra com suspeita de HIV-2 para laboratório de referência



Fonte: DIAHV/SVS/MS.

Laudos

Os laudos devem conter os resultados de todos os testes realizados, devendo ser expressos o resultado numérico da amostra, o ponto de corte (CO, do inglês *cut-off*) e a unidade de medição do método utilizado, excetuando-se os resultados obtidos por testes cuja leitura é visual. Os TM quantitativos devem ser expressos por meio do número de cópias por mL de plasma e da escala logarítmica em base 10, indicando os limites superior e inferior de detecção, conforme orientado pelo fabricante. 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.

- › 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 observação: **“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:

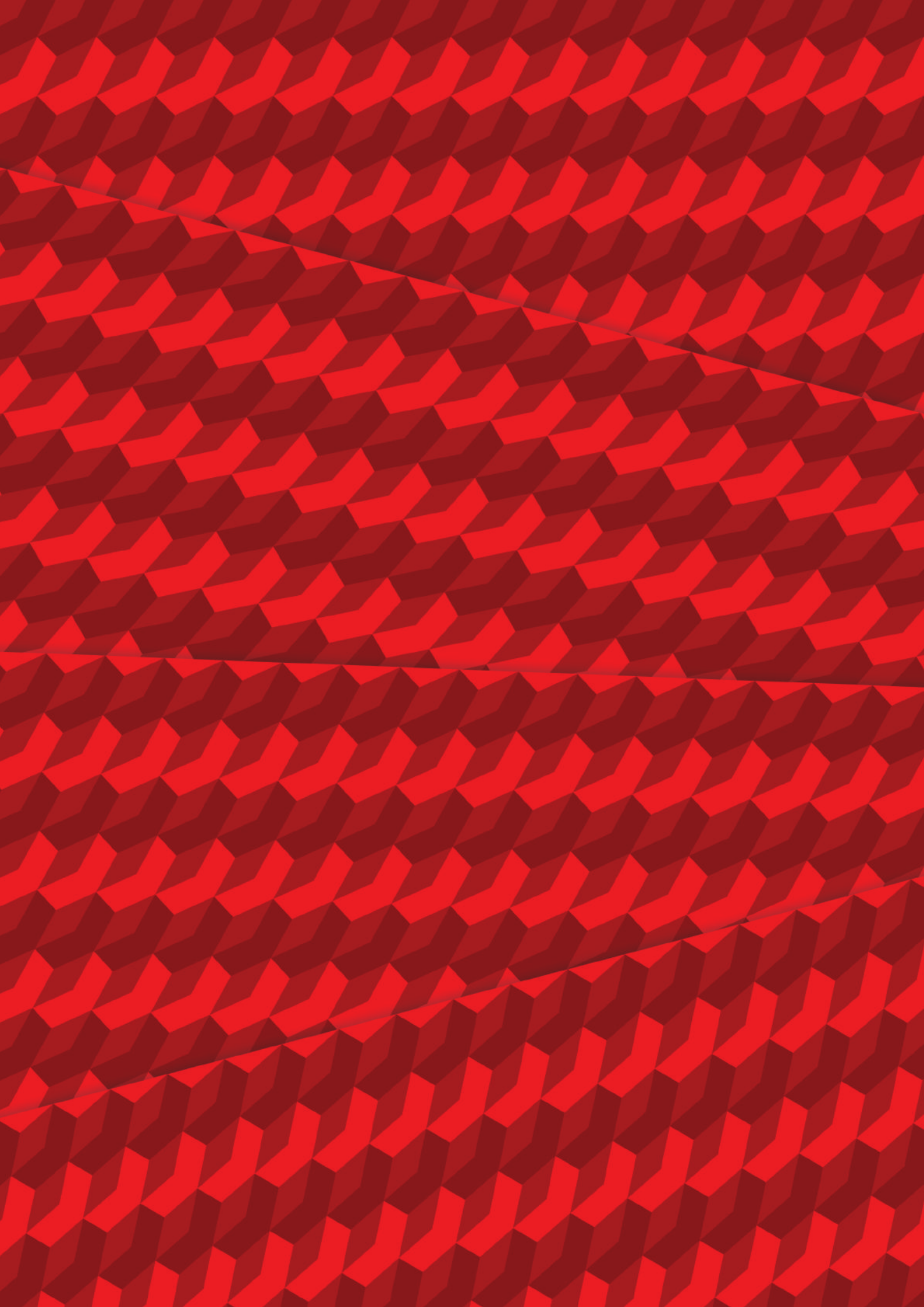
Caso ocorra reatividade para HIV-2 nos testes laboratoriais (WB, IB ou IBR), o laudo laboratorial deverá incluir a seguinte observação: **“Amostra com suspeita de HIV-2. Para confirmação do diagnóstico, uma amostra de sangue obtida por punção venosa deverá ser encaminhada ao Laboratório de Referência 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 ensejar ocorrência de resultados falso-reagentes em ensaios que empregam a detecção de anticorpos para o diagnóstico da infecção pelo HIV. Alguns estudos sugerem que pode haver uma incidência maior de resultados falso-reagentes em gestantes, devido à produção de aloanticorpos, como acontece em pacientes com histórico de transfusão sanguínea. A aloimunização muitas vezes leva à produção de anticorpos que podem reagir de forma cruzada com os antígenos empregados nos ensaios utilizados para o diagnóstico da infecção pelo HIV (HECHT et al., 2002; NATUKUNDA et al., 2010).

Dessa forma, em caso de amostras de gestantes com resultado reagente ou indeterminado, após a conclusão do fluxograma, **recomenda-se a realização imediata da quantificação da carga viral do HIV-1, 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/pcdt>.





REFERÊNCIAS

ALEXANDER, T. S. Human Immunodeficiency Virus Diagnostic Testing: 30 Years of Evolution. **Clin Vaccine Immunol**, [S.l.], v. 23, n. 4, p. 249-53, abr. 2016. ISSN 1556-679X. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26936099>>. Acesso em: 25 maio 2018.

AL-JOUDI, F. S. et al. Expression of human mammaglobin and clinicopathologic correlations in breast cancer: the findings in Malaysia. **Indian J Pathol Microbiol**, [S.l.], v. 54, n. 2, p. 284-9, abr./jun. 2011. ISSN 0974-5130. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21623075>>. Acesso em: 26 maio 2018.

BOTTONE, P. D.; BARTLETT, A. H. Diagnosing Acute HIV Infection. **Pediatr Ann**, [S.l.], v. 46, n. 2, p. e47-e50, fev. 2017. ISSN 1938-2359. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28192577>>. Acesso em: 25 maio 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **HIV: Estratégias para Diagnóstico no Brasil**. Brasília, 2010a. 82 p. Série Telelab.

_____. Ministério da Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos Bio-Manguinhos. **Bula Imunoblot rápido DPP HIV-1/2: Ensaio qualitativo para detecção de anticorpos específicos para a confirmação da infecção pelo HIV 1/2 em amostras de sangue total, soro ou plasma humano**. Rio de Janeiro: Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos Bio-Manguinhos/Fiocruz, 2010b.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico HIV e Aids**. Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

BRÍGIDO, L. F. et al. HIV type 1 subtype C and CB Pol recombinants prevail at the cities with the highest AIDS prevalence rate in Brazil. **AIDS Res Hum Retroviruses**, [S.l.], v. 23, n. 12, p. 1579-86, dez. 2007. ISSN 0889-2229. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18160017>>. Acesso em: 25 maio 2018.

BUTTÒ, S. et al. Laboratory diagnostics for HIV infection. **Ann Ist Super Sanita**, [S.l.], v. 46, n. 1, p. 24-33, 2010. ISSN 0021-2571. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20348616>>. Acesso em: 25 maio 2018.

CABRAL, V. P. et al. Human immunodeficiency virus type-1 subtypes of infected patients in Espírito Santo, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, [S.l.], v. 101, n. 8, p. 881-5, dez. 2006. ISSN 0074-0276. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17293983>>. Acesso em: 25 maio 2018.

CAPPELLO, J. M. et al. A multicenter performance evaluation of the DPP(®) HIV-1/2 assay for the detection of HIV antibodies in various HIV testing algorithms. **J Clin Virol**, [S.l.], v. 58 Suppl 1, p. e59-64, dez. 2013. ISSN 1873-5967. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24342478>>. Acesso em: 25 maio 2018.

CDC (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION). **Laboratory testing for the diagnosis of HIV infection:** updated recommendations [On-line]. Centers for Disease Control and Prevention, 27 jun. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.15620/cdc.23447>>. Acesso em: 25 maio 2018.

CELLETTI, F.; SHERMAN, G.; MAZANDERANI, A. H. Early infant diagnosis of HIV: review of current and innovative practices. **Curr Opin HIV AIDS**, [S.l.], v. 12, n. 2, p. 112-116, mar. 2017. ISSN 1746-6318. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27941493>>. Acesso em: 25 maio 2018.

CHAO, T. T. et al. Risk factors associated with false positive HIV test results in a low-risk urban obstetric population. **J Pregnancy**, [S.l.], v. 2012, n. 841979, 2012. ISSN 2090-2735. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21860798>>. Acesso em: 26 maio 2018.

CHOU, C. C.; SUN, C. Y.; WU, M. S. Human immunodeficiency virus (HIV) infection screening in a dialysis unit. **Ren Fail**, [S.l.], v. 29, n. 4, p. 459-61, 2007. ISSN 0886-022X. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17497469>>. Acesso em: 25 maio 2018.

CLSI (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE). **M53-A Criteria for Laboratory Testing and Diagnosis of Human Immunodeficiency Virus Infection:** Approved Guideline. 1st. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011.

COHEN, M. S. et al. The detection of acute HIV infection. **J Infect Dis**, [S.l.], v. 202 Suppl 2, p. S270-7, out. 2010. ISSN 1537-6613. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20846033>>. Acesso em: 25 maio 2018.

DELANEY, K. P. et al. Evaluation of the performance characteristics of 6 rapid HIV antibody tests. **Clin Infect Dis**, [S.l.], v. 52, n. 2, p. 257-63, jan. 2011. ISSN 1537-6591. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21288853>>. Acesso em: 26 maio 2018.

_____. Performance of an oral fluid rapid HIV-1/2 test: experience from four CDC studies. **AIDS**, [S.l.], v. 20, n. 12, p. 1655-60, ago. 2006. ISSN 0269-9370. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16868447>>. Acesso em: 25 maio 2018.

DORAN, T. I.; PARRA, E. False-positive and indeterminate human immunodeficiency virus test results in pregnant women. **Arch Fam Med**, [S.l.], v. 9, n. 9, p. 924-9, 2000 set./out. 2000. ISSN 1063-3987. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11031402>>. Acesso em: 26 maio 2018.



ENGELMAN, A.; CHEREPANOV, P. The structural biology of HIV-1: mechanistic and therapeutic insights. **Nat Rev Microbiol**, [S.l.], v. 10, n. 4, p. 279-90, 16 mar. 2012. ISSN 1740-1534. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22421880>>. Acesso em: 22 maio 2018.

ERICKSON, C. P.; MCNIFF, T.; KLAUSNER, J. D. Influenza vaccination and false positive HIV results. **N Engl J Med**, [S.l.], v. 354, n. 13, p. 1422-3, mar. 2006. ISSN 1533-4406. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16571889>>. Acesso em: 25 maio 2018.

ESTEVA, M. H. et al. False positive results for antibody to HIV in two men with systemic lupus erythematosus. **Ann Rheum Dis**, [S.l.], v. 51, n. 9, p. 1071-3, Sep 1992. ISSN 0003-4967. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1417140>>. Acesso em: 25 maio 2018.

FANALES-BELASIO, E. et al. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. **Ann Ist Super Sanita**, [S.l.], v. 46, n. 1, p. 5-14, 2010. ISSN 0021-2571. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20348614>>. Acesso em: 22 maio 2018.

FERREIRA JUNIOR, O. C. et al. Evaluation of rapid tests for anti-HIV detection in Brazil. **AIDS**, [S.l.], v. 19 Suppl 4, p. S70-5, out. 2005. ISSN 0269-9370. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16249658>>. Acesso em: 25 maio 2018.

FIEBIG, E. W. et al. Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. **AIDS**, [S.l.], v. 17, n. 13, p. 1871-9, set. 2003. ISSN 0269-9370. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12960819>>. Acesso em: 25 maio 2018.

FIOTEC (Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Saúde). Bula do Teste Rápido para Detecção de Anticorpos Anti-HIV 1/2 OraQuick Advance, Orasute Technologies. Rio de Janeiro: Fiotec, 2014.

FONSECA, M. G.; BASTOS, F. I. Twenty-five years of the AIDS epidemic in Brazil: principal epidemiological findings, 1980-2005. **Cad Saude Pública**, [S.l.], v. 23 Suppl 3, p. S333-44, 2007. ISSN 0102-311X. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17992340>>. Acesso em: 25 maio 2018.

GADELHA, S. R. et al. Molecular epidemiology of human immunodeficiency virus-1 in the state of Ceará, Northeast, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, [S.l.], v. 98, n. 4, p. 461-3, jun. 2003. ISSN 0074-0276. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12937754>>. Acesso em: 25 maio 2018.

GANDHI, R. T.; WALKER, B. D. Immunologic control of HIV-1. **Annu Rev Med**, [S.l.], v. 53, p. 149-72, 2002. ISSN 0066-4219. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11818468>>. Acesso em: 25 maio 2018.

GERETTI, A. M. HIV-1 subtypes: epidemiology and significance for HIV management. **Curr Opin Infect Dis**, [S.l.], v. 19, n. 1, p. 1-7, fev. 2006. ISSN 0951-7375. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16374210>>. Acesso em: 25 maio 2018.

GONZALO-GIL, E.; IKEDIOBI, U.; SUTTON, R. E. Mechanisms of Virologic Control and Clinical Characteristics of HIV+ Elite/Viremic Controllers. **Yale J Biol Med**, [S.l.], v. 90, n. 2, p. 245-259, jun. 2017. ISSN 1551-4056. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28656011>>. Acesso em: 25 maio 2018.

GRANADE, T. C. et al. Detection of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 in oral fluids: a large-scale evaluation of immunoassay performance. **Clin Diagn Lab Immunol**, [S.l.], v. 5, n. 2, p. 171-5, mar. 1998. ISSN 1071-412X. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9521138>>. Acesso em: 25 maio 2018.

GUARNER, J. Human immunodeficiency virus: Diagnostic approach. **Semin Diagn Pathol**, [S.l.], v. 34, n. 4, p. 318-324, jul. 2017. ISSN 0740-2570. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28502523>>. Acesso em: 25 maio 2018.

GÜL, A. et al. Antibodies reactive with HIV-1 antigens in systemic lupus erythematosus. **Lupus**, [S.l.], v. 5, n. 2, p. 120-2, abr. 1996. ISSN 0961-2033. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8743124>>. Acesso em: 25 maio 2018.

GUYADER, M. et al. Genome organization and transactivation of the human immunodeficiency virus type 2. **Nature**, [S.l.], v. 326, n. 6114, p. 662-9, 16-22 abr. 1987. ISSN 0028-0836. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3031510>>. Acesso em: 23 maio 2018.

HECHT, F. M. et al. Use of laboratory tests and clinical symptoms for identification of primary HIV infection. **AIDS**, [S.l.], v. 16, n. 8, p. 1119-29, maio 2002. ISSN 0269-9370. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12004270>>. Acesso em: 26 maio 2018.

HEMELAAR, J. et al. Global and regional distribution of HIV-1 genetic subtypes and recombinants in 2004. **AIDS**, [S.l.], v. 20, n. 16, p. W13-23, Oct 2006. ISSN 0269-9370. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17053344>>. Acesso em: 25 maio 2018.

_____. Global trends in molecular epidemiology of HIV-1 during 2000-2007. **AIDS**, [S.l.], v. 25, n. 5, p. 679-89, mar. 2011. ISSN 1473-5571. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21297424>>. Acesso em: 25 maio 2018.



ICTV (INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES). **Virus Taxonomy:** The Classification and Nomenclature of Viruses. The Online (10th) Report of the ICTV, 2017. Disponível em: <https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/>. Acesso em: 22 maio 2018.

IWEALA, O. I. HIV diagnostic tests: an overview. **Contraception**, [S.l.], v. 70, n. 2, p. 141-7, ago. 2004. ISSN 0010-7824. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15288219>>. Acesso em: 25 maio 2018.

JINDAL, R.; SOLOMON, M.; BURROWS, L. False positive tests for HIV in a woman with lupus and renal failure. **N Engl J Med**, [S.l.], v. 328, n. 17, p. 1281-2, abr. 1993. ISSN 0028-4793. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8464453>>. Acesso em: 25 maio 2018.

KAHN, J. O.; WALKER, B. D. Acute human immunodeficiency virus type 1 infection. **N Engl J Med**, [S.l.], v. 339, n. 1, p. 33-9, jul. 1998. ISSN 0028-4793. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9647878>>. Acesso em: 25 maio 2018.

KEELE, B. F. et al. Identification and characterization of transmitted and early founder virus envelopes in primary HIV-1 infection. **Proc Natl Acad Sci USA**, [S.l.], v. 105, n. 21, p. 7552-7, maio 2008. ISSN 1091-6490. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18490657>>. Acesso em: 25 maio 2018.

KOPKO, P.; CALHOUN, L.; PETZ, L. Distinguishing immunosilent AIDS from the acute retroviral syndrome in a frequent blood donor. **Transfusion**, [S.l.], v. 39, n. 4, p. 383-6, abr. 1999. ISSN 0041-1132. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10220264>>. Acesso em: 25 maio 2018.

LANL (LOS ALAMOS NATIONAL LABORATORY). **HIV Sequence database: HIV and SIV nomenclature** [On-line]. Última atualização: 8 ago. 2017. Disponível em: <<https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HelpDocs/subtypes-more.html>>. Acesso em: 25 maio 2018.

LEVY, J. A.; SCOTT, I.; MACKEWICZ, C. Protection from HIV/AIDS: the importance of innate immunity. **Clin Immunol**, [S.l.], v. 108, n. 3, p. 167-74, set. 2003. ISSN 1521-6616. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14499239>>. Acesso em: 25 maio 2018.

LI, Y. C. et al. False human immunodeficiency virus test results associated with rheumatoid factors in rheumatoid arthritis. **Chin Med Sci J**, [S.l.], v. 29, n. 2, p. 103-6, jun. 2014. ISSN 1001-9294. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24998232>>. Acesso em: 25 maio 2018.

MACKENZIE, W. R. et al. Multiple false-positive serologic tests for HIV, HTLV-1, and hepatitis C following influenza vaccination, 1991. **JAMA**, [S.l.], v. 268, n. 8, p. 1015-7, ago. 1992. ISSN 0098-7484. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1501307>>. Acesso em: 26 maio 2018.

MAGEE, L. A.; MURPHY, K. E.; VON DADELSZEN, P. False-positive results in antenatal HIV screening. **CMAJ**, [S.l.], v. 160, n. 9, p. 1285, maio 1999. ISSN 0820-3946. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10333826>>. Acesso em: 26 maio 2018.

MCMICHAEL, A. J. et al. The immune response during acute HIV-1 infection: clues for vaccine development. **Nat Rev Immunol**, [S.l.], v. 10, n. 1, p. 11-23, jan. 2010. ISSN 1474-1741. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20010788>>. Acesso em: 25 maio 2018.

MELONI, S. T. et al. Distinct human immunodeficiency virus type 1 subtype A virus circulating in West Africa: sub-subtype A3. **J Virol**, [S.l.], v. 78, n. 22, p. 12438-45, nov. 2004. ISSN 0022-538X. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15507630>>. Acesso em: 25 maio 2018.

MILLER, L. E. Laboratory Diagnosis of HIV Infection. In: STEVENS, C. D. (Ed.). **Clinical immunology and serology: a laboratory perspective**. 3. ed. Philadelphia: F.A. Davis Company, 2010, cap. 23.

MOHD HANAFIAH, K.; GARCIA, M.; ANDERSON, D. Point-of-care testing and the control of infectious diseases. **Biomark Med**, [S.l.], v. 7, n. 3, p. 333-47, jun. 2013. ISSN 1752-0371. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23734795>>. Acesso em: 25 maio 2018.

MONOS, D. S. et al. Delineation of false-positive HIV antibody response in patients with renal failure and history of multiple transfusions. **Transfusion**, [S.l.], v. 29, n. 2, p. 119-23, fev. 1989. ISSN 0041-1132. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2537545>>. Acesso em: 25 maio 2018.

MONTEIRO, J. P. et al. Genetic variability of human immunodeficiency virus-1 in Bahia state, Northeast, Brazil: high diversity of HIV genotypes. **J Med Virol**, v. 81, n. 3, p. 391-9, mar. 2009. ISSN 1096-9071. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19152417>>. Acesso em: 25 maio 2018.

MORGADO, M. G.; GUIMARÃES, M. L.; GALVÃO-CASTRO, B. HIV-1 polymorphism: a challenge for vaccine development – a review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, [S.l.], v. 97, n. 2, p. 143-50, mar. 2002. ISSN 0074-0276. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12016434>>. Acesso em: 25 maio 2018.



MOTTA, L. R. da et al. Evaluation of five simple rapid HIV assays for potential use in the Brazilian national HIV testing algorithm. **J Virol Methods**, [S.l.], v. 194, n. 1-2, p. 132-7, dez. 2013. ISSN 1879-0984. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23994148>>. Acesso em: 25 maio 2018.

NATUKUNDA, B. et al. Prevalence and specificities of red blood cell alloantibodies in transfused Ugandans with different diseases. **Vox Sang**, [S.l.], v. 98, n. 2, p. 167-71, fev. 2010. ISSN 1423-0410. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19708889>>. Acesso em: 26 maio 2018.

NICOLÁS, D. et al. Infection with human retroviruses other than HIV-1: HIV-2, HTLV-1, HTLV-2, HTLV-3 and HTLV-4. **Expert Rev Anti Infect Ther**, [S.l.], v. 13, n. 8, p. 947-63, Aug 2015. ISSN 1744-8336. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26112187>>. Acesso em: 23 maio 2018.

NOVICK, D. M. et al. Specificity of antibody tests for human immunodeficiency virus in alcohol and parenteral drug abusers with chronic liver disease. **Alcohol Clin Exp Res**, [S.l.], v. 12, n. 5, p. 687-90, out. 1988. ISSN 0145-6008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3067617>>. Acesso em: 25 maio 2018.

O'CONNELL, K. A.; BAILEY, J. R.; BLANKSON, J. N. Elucidating the elite: mechanisms of control in HIV-1 infection. **Trends Pharmacol Sci**, [S.l.], v. 30, n. 12, p. 631-7, dec 2009. ISSN 1873-3735. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19837464>>. Acesso em: 25 maio 2018.

OLIVEIRA, C. M. de et al. High frequency of BF mosaic genomes among HIV-1-infected children from Sao Paulo, Brazil. **Arch Virol**, [S.l.], v. 153, n. 10, p. 1799-806, 2008. ISSN 1432-8798. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18716710>>. Acesso em: 25 maio 2018.

OLIVEIRA, T. de et al. An automated genotyping system for analysis of HIV-1 and other microbial sequences. **Bioinformatics**, [S.l.], v. 21, n. 19, p. 3797-800, out. 2005. ISSN 1367-4803. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16076886>>. Acesso em: 25 maio 2018.

OSMANOV, S. et al. Estimated global distribution and regional spread of HIV-1 genetic subtypes in the year 2000. **J Acquir Immune Defic Syndr**, [S.l.], v. 29, n. 2, p. 184-90, fev. 2002. ISSN 1525-4135. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11832690>>. Acesso em: 25 maio 2018.

OWEN, S. M. Testing for acute HIV infection: implications for treatment as prevention. **Curr Opin HIV AIDS**, [S.l.], v. 7, n. 2, p. 125-30, mar. 2012. ISSN 1746-6318. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22314506>>. Acesso em: 25 maio 2018.

PASCOM, A. R. et al. Point-of-care HIV tests done by peers, Brazil. **Bull World Health Organ**, [S.l.], v. 94, n. 8, p. 626-30, ago. 2016. ISSN 1564-0604. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27516641>>. Acesso em: 25 maio 2018.

PEELING, R. W.; MABEY, D. Point-of-care tests for diagnosing infections in the developing world. **Clin Microbiol Infect**, [S.l.], v. 16, n. 8, p. 1062-9, ago. 2010. ISSN 1469-0691. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20670288>>. Acesso em: 25 maio 2018.

PEETERS, M. Recombinant HIV sequences: their role in the global epidemic. In: KUIKEN, C. L.; FOLEY, B., et al (Ed.). **HIV Sequence Compendium**: Los Alamos: Los Alamos National Laboratory 2000. p.1-39–1-54.

PIRES, I. L. et al. Prevalence of human immunodeficiency virus drug resistance mutations and subtypes in drug-naive, infected individuals in the army health service of Rio de Janeiro, Brazil. **J Clin Microbiol**, [S.l.], v. 42, n. 1, p. 426-30, jna. 2004. ISSN 0095-1137. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14715797>>. Acesso em: 25 maio 2018.

PIWOWAR-MANNING, E. et al. Failure to identify HIV-infected individuals in a clinical trial using a single HIV rapid test for screening. **HIV Clin Trials**, [S.l.], v. 15, n. 2, p. 62-8, mar./abr. 2014. ISSN 1528-4336. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24710920>>. Acesso em: 26 maio 2018.

PLANTIER, J. C. et al. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. **Nat Med**, [S.l.], v. 15, n. 8, p. 871-2, ago. 2009. ISSN 1546-170X. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19648927>>. Acesso em: 25 maio 2018.

RANKI, A. et al. Antibodies to retroviral proteins in autoimmune connective tissue disease. Relation to clinical manifestations and ribonucleoprotein autoantibodies. **Arthritis Rheum**, [S.l.], v. 35, n. 12, p. 1483-91, dez. 1992. ISSN 0004-3591. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1472125>>. Acesso em: 25 maio 2018.

ROSENBERG, N. E. et al. How can we better identify early HIV infections? **Curr Opin HIV AIDS**, [S.l.], v. 10, n. 1, p. 61-8, jan. 2015. ISSN 1746-6318. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25389806>>. Acesso em: 25 maio 2018.

SAAG, M.; DEEKS, S. G. How do HIV elite controllers do what they do? **Clin Infect Dis**, [S.l.], v. 51, n. 2, p. 239-41, jul. 2010. ISSN 1537-6591. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20550453>>. Acesso em: 25 maio 2018.

SÁEZ-CIRIÓN, A.; PANCINO, G. HIV controllers: a genetically determined or inducible phenotype? **Immunol Rev**, [S.l.], v. 254, n. 1, p. 281-94, jul. 2013. ISSN 1600-065X. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23772626>>. Acesso em: 25 maio 2018.



SA-FILHO, D. J. de et al. HIV type 1 diversity from newly diagnosed patients in Santos metropolitan area/Brazil. **AIDS Res Hum Retroviruses**, [S.l.], v. 25, n. 9, p. 925-9, set. 2009. ISSN 1931-8405. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19689200>>. Acesso em: 25 maio 2018.

SALAZAR-GONZALEZ, J. F. et al. Genetic identity, biological phenotype, and evolutionary pathways of transmitted/founder viruses in acute and early HIV-1 infection. **J Exp Med**, [S.l.], v. 206, n. 6, p. 1273-89, jun. 2009. ISSN 1540-9538. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19487424>>. Acesso em: 25 maio 2018.

SHIMA-SANO, T. et al. A human immunodeficiency virus screening algorithm to address the high rate of false-positive results in pregnant women in Japan. **PLoS One**, [S.l.], v. 5, n. 2, p. e9382, fev. 2010. ISSN 1932-6203. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20186348>>. Acesso em: 26 maio 2018.

SMIT, P. W. et al. Systematic review of the use of dried blood spots for monitoring HIV viral load and for early infant diagnosis. **PLoS One**, [S.l.], v. 9, n. 3, p. e86461, mar. 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24603442>>. Acesso em: 25 maio 2018.

UJHELYI, E. et al. [False positive results of HIV virus tests in patients undergoing chronic hemodialysis]. **Orv Hetil**, [S.l.], v. 130, n. 2, p. 67-70, jan. 1989. ISSN 0030-6002. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2643779>>. Acesso em: 25 maio 2018.

VÉRAS, N. M. et al. High-resolution phylogenetics and phylogeography of human immunodeficiency virus type 1 subtype C epidemic in South America. **J Gen Virol**, [S.l.], v. 92, n. Pt 7, p. 1698-709, jul. 2011. ISSN 1465-2099. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21450946>>. Acesso em: 25 maio 2018.

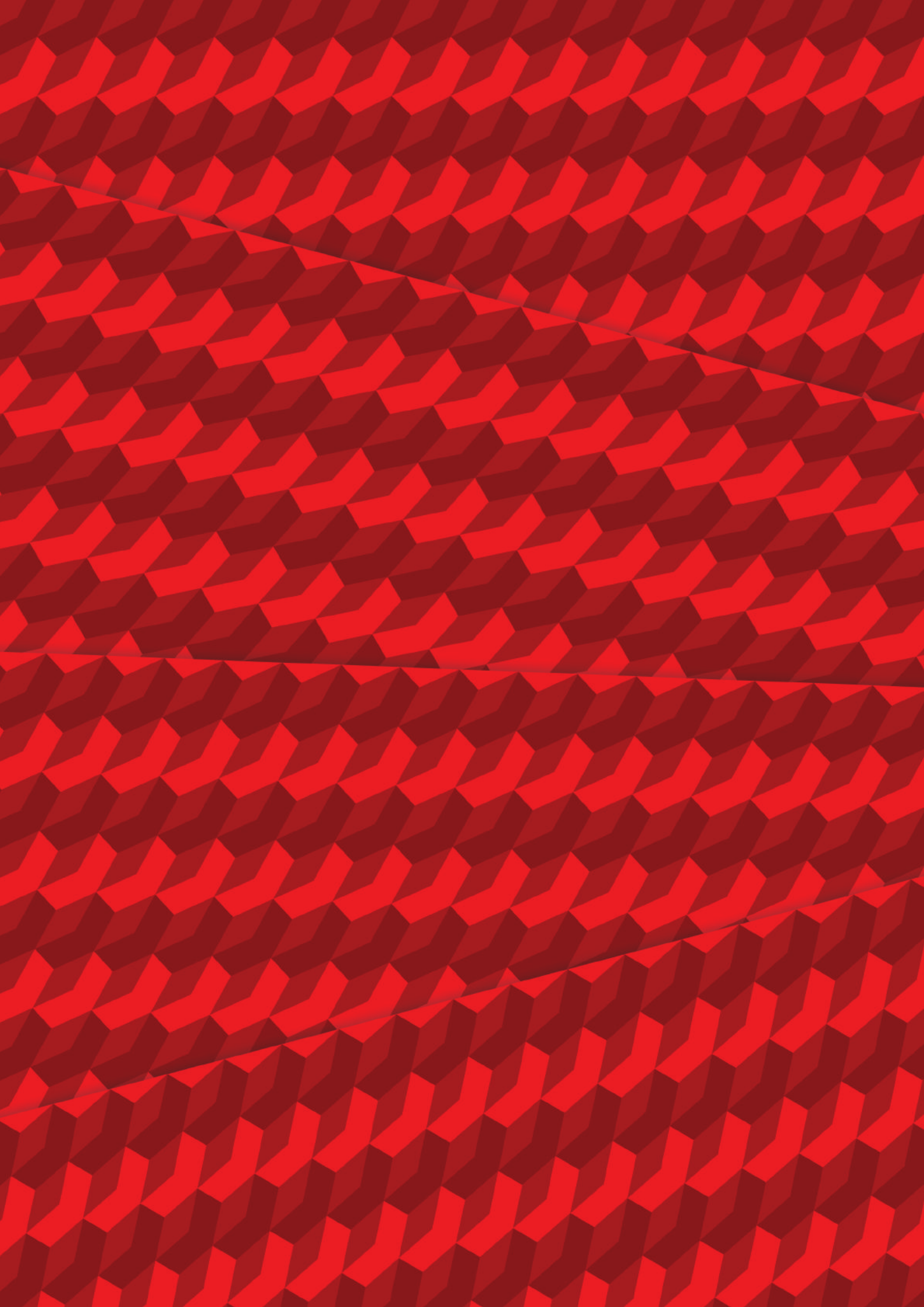
_____. HIV type 1 genetic variability in central Brazil. **AIDS Res Hum Retroviruses**, [S.l.], v. 23, n. 12, p. 1481-90, dez. 2007. ISSN 0889-2229. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18160005>>. Acesso em: 25 maio 2018.

VIDAL, N. et al. Identification and molecular characterization of subsubtype A4 in central Africa. **AIDS Res Hum Retroviruses**, [S.l.], v. 22, n. 2, p. 182-7, fev. 2006. ISSN 0889-2229. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16478401>>. Acesso em: 25 maio 2018.

WATTS, J. M. et al. Architecture and secondary structure of an entire HIV-1 RNA genome. **Nature**, [S.l.], v. 460, n. 7256, p. 711-6, 6 ago. 2009. ISSN 1476-4687. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19661910>>. Acesso em: 22 maio 2018.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). Consolidated Guidelines on HIV Testing Services. **5Cs: Consent, Confidentiality, Counselling, Correct Results and Connection**. Geneva: WHO Press, 2015.

YERLY, S.; HIRSCHL, B. Diagnosing acute HIV infection. **Expert Rev Anti Infect Ther**, [S.l.], v. 10, n. 1, p. 31-41, jan. 2012. ISSN 1744-8336. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22149612>>. Acesso em: 25 maio 2018.





GLOSSÁRIO

Todas as palavras presentes neste glossário aparecem 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.

Autoteste. Dispositivo de teste rápido que permite que o indivíduo faça sua própria testagem. Notas: i. O autoteste, em caso de resultado reagente, não define diagnóstico; nesse caso, o indivíduo deve procurar um serviço de saúde para conclusão do diagnóstico e inserção no cuidado contínuo, se necessário. ii) Em 2015, o autoteste para HIV foi disponibilizado para comercialização no Brasil (RDC Anvisa nº 52, de 27 de novembro de 2015).

Carga viral. Quantificação das partículas virais no plasma (HIV-RNA), também conhecida 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 pertençam a esse grupo.

Especificidade clínica ou especificidade diagnóstica. Capacidade de um ensaio de 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 de interesse quando a doença ou condição estão presentes.

Falso-reagente. Resultado reagente em um teste para uma doença ou condição de interesse quando a doença ou condição estão ausentes.

Fase eclipse. Intervalo de tempo entre a infecção pelo HIV e a primeira detecção por meio de um ensaio virológico ultrassensível.

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.

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

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

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

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 *immunosilent*). Pessoas infectadas pelo HIV que possuem níveis baixos ou mesmo ausência de anticorpos específicos e, dessa forma, não são detectadas nos testes sorológicos.

Infecção aguda. 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 teste de quantificação de carga viral do HIV-1 ou um ensaio de antígeno p24 utilizado para detectar a viremia e do teste de anticorpos utilizados para a detecção de soroconversão.

Infecção crônica. 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. Fase entre o surgimento de anticorpos em quantidade detectável por um teste sorológico até a completa maturação da resposta dos anticorpos.

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 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. 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.

Populações-chave. Pessoas que apresentam risco acrescido para a infecção pelo HIV, atribuindo as probabilidades de infecção não somente aos indivíduos e aos seus comportamentos, mas considerando todos os aspectos de seus contextos sociais e estruturais que os colocam em situações de maior vulnerabilidade para a infecção pelo HIV. Atualmente, as intervenções de prevenção no Brasil são focadas em cinco populações-chave: profissionais do sexo, pessoas que usam drogas, gays e homens que fazem sexo com homens, pessoas trans e pessoas em privação de liberdade.

Populações prioritárias. São definidas como as pessoas que também são afetadas desproporcionalmente pelo HIV/aids quando comparadas à população geral, em decorrência de dinâmicas sociais locais e que, portanto, variam de acordo com o território. Assim, alguns fatores preponderam sobre as situações de maior vulnerabilidade, tais como desigualdades sociais, empobrecimento, questões de gênero, raça, preconceito social e econômico, entre outros fatores de exclusão. Entre os grupos populacionais que se incluem nas populações prioritárias, podem-se destacar as pessoas em situação de rua e a população indígena.

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 as 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 de 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 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.

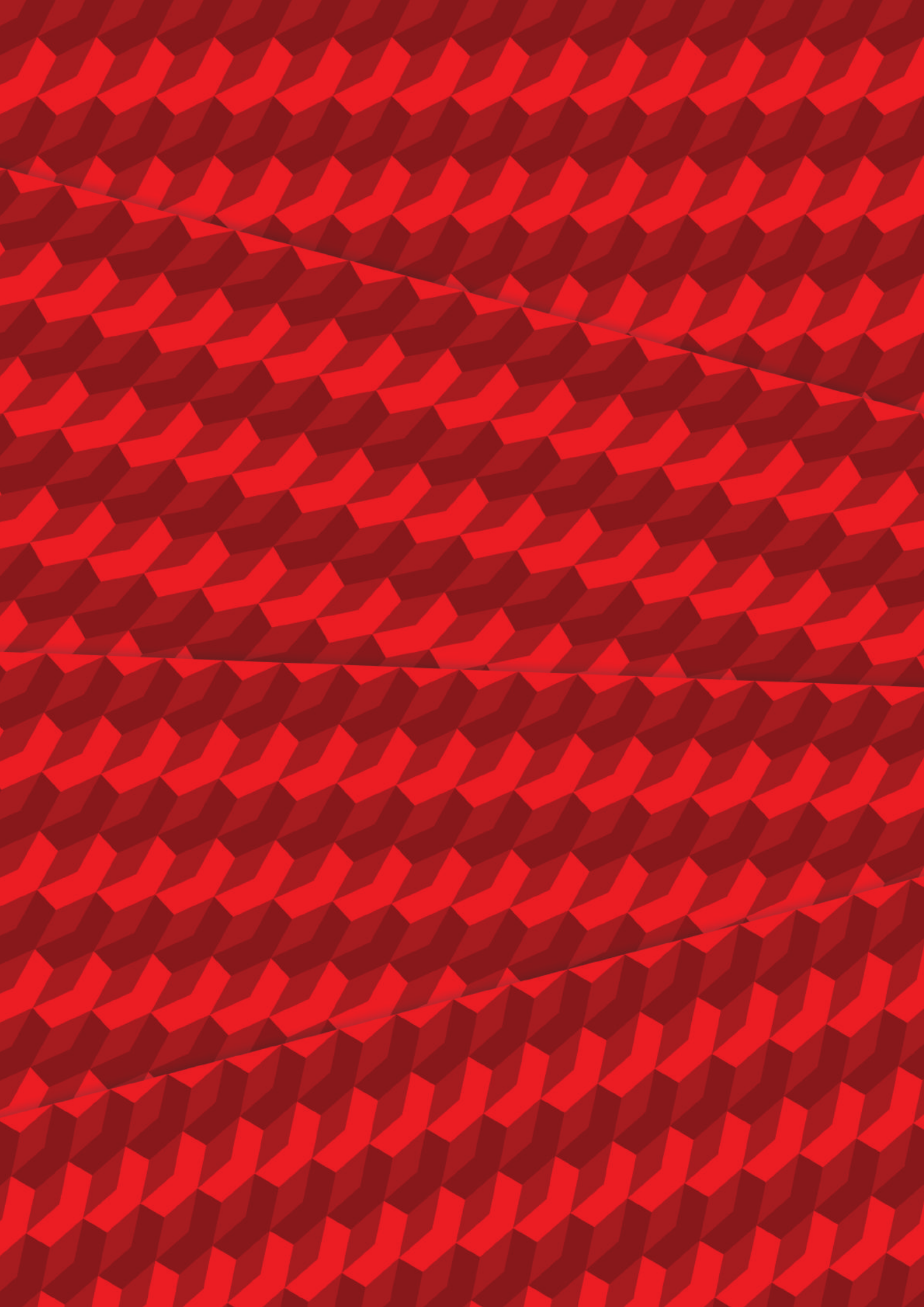
Teste realizado na presença do indivíduo ou presencial. Teste rápido realizado com amostra de sangue total obtida por punção digital ou amostra de fluido oral, cujo procedimento inicial (aplicação da amostra e tampão no cassete) é realizado na presença do indivíduo, com entrega imediata do resultado.

Testes rápidos. Dispositivos de teste de uso único, que não dependem de infraestrutura laboratorial e que produzem 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.

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.





ANEXOS – Modelos de Laudo

Identificação do Laboratório/Serviço de Saúde

Endereço e telefone

Nº do registro do Laboratório Clínico no respectivo conselho de classe profissional

Nome do Responsável Técnico – Nº do Registro no Conselho Profissional

MODELO DE LAUDO – TR não reagente

Nome do paciente: _____ Nº registro: _____
Data de nascimento: __/__/____ Sexo: _____
Unidade Solicitante: _____ Município/UF: _____/UF
Profissional Solicitante: _____ – CRM____/UF
Data da coleta: __/__/____ Data da emissão do laudo: __/__/____

HIV

Teste Rápido 1 (TR1)

Amostra: _____ (sangue total/soro/plasma/fluido oral)

Método: Imunocromatografia – Fabricante: _____

Resultado: Não Reagente

Conclusão: Amostra Não Reagente para HIV

Observações:

- Resultado definido conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.
- Persistindo a suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.

(assinatura)

Nome do Responsável – Nº do registro no Conselho Profissional

Identificação do Laboratório/Serviço de Saúde

Endereço e telefone

Nº do registro do Laboratório Clínico no respectivo conselho de classe profissional

Nome do Responsável Técnico – Nº do Registro no Conselho Profissional

MODELO DE LAUDO – TR reagente (presencial)

Nome do paciente: _____ Nº registro: _____
Data de nascimento: __/__/____ Sexo: _____
Unidade Solicitante: _____ Município/UF: _____/UF
Profissional Solicitante: _____ – CRM____/UF
Data da coleta: __/__/____ Data da emissão do laudo: __/__/____

HIV

Teste Rápido 1 (TR1)

Amostra: _____ (sangue total obtido por punção digital/fluido oral)

Método: Imunocromatografia – Fabricante: _____

Resultado: Reagente

Teste Rápido 2 (TR2)

Amostra: _____ (sangue total obtido por punção digital)

Método: Imunocromatografia – Fabricante: _____

Resultado: Reagente

Conclusão: Amostra Reagente para HIV

Observações:

- Resultado definido com o Fluxograma __ (1 ou 2, de acordo com o tipo de amostra utilizada), realizado presencialmente com amostras obtidas por __ (punção digital ou fluido oral), conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.
- A oportunidade de início de terapia com dois testes rápidos reagentes deverá ser avaliada pelo profissional de saúde habilitado. Ressalta-se que a coleta da amostra para a realização do exame de quantificação da carga viral do HIV deve ser sempre realizada antes do início do tratamento.

(assinatura)

Nome do Responsável – Nº do registro no Conselho Profissional



Identificação do Laboratório/Serviço de Saúde

Endereço e telefone

Nº do registro do Laboratório Clínico no respectivo conselho de classe profissional

Nome do Responsável Técnico – Nº do Registro no Conselho Profissional

MODELO DE LAUDO – TR reagente (não presencial)

Nome do paciente: _____

Nº registro: _____

Data de nascimento: __/__/____

Sexo: _____

Unidade Solicitante: _____

Município/UF: _____/UF

Profissional Solicitante: _____ – CRM____/UF

Data da coleta: __/__/____

Data da emissão do laudo: __/__/____

HIV

Teste Rápido 1 (TR1)

Amostra: _____ (sangue total obtido por punção venosa/soro/plasma)

Método: Imunocromatografia – Fabricante: _____

Resultado: Reagente

Teste Rápido 2 (TR2)

Amostra: _____ (sangue total obtido por punção venosa/soro/plasma)

Método: Imunocromatografia – Fabricante: _____

Resultado: Reagente

Conclusão: Amostra Reagente para HIV

Observações:

- Resultado definido com o Fluxograma 1, realizado não presencialmente com amostra obtida por punção venosa, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.
- 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.

(assinatura)

Nome do Responsável – Nº do registro no Conselho Profissional

Identificação do Laboratório/Serviço de Saúde

Endereço e telefone

Nº do registro do Laboratório Clínico no respectivo conselho de classe profissional

Nome do Responsável Técnico – Nº do Registro no Conselho Profissional

MODELO DE LAUDO – TR reagente (não presencial – 2ª ou 3ª amostra)

Nome do paciente: _____ Nº registro: _____
Data de nascimento: __/__/____ Sexo: _____
Unidade Solicitante: _____ Município/UF: _____/UF
Profissional Solicitante: _____ – CRM____/UF
Data da coleta: __/__/____ Data da emissão do laudo: __/__/____

HIV

Teste Rápido 1 (TR1)

Amostra: _____ (sangue total obtido por punção venosa/soro/plasma)

Método: Imunocromatografia – Fabricante: _____

Resultado: Reagente

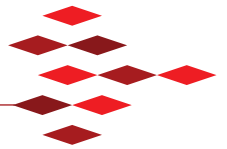
Conclusão: Amostra Reagente para HIV

Observações:

- Resultado definido com o Fluxograma 1, realizado não presencialmente com segunda/terceira amostra obtida por punção venosa, conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.
- A oportunidade de início de terapia com dois testes rápidos reagentes deverá ser avaliada pelo profissional de saúde habilitado. Ressalta-se que a coleta da amostra para a realização do exame de quantificação da carga viral do HIV deve ser sempre realizada antes do início do tratamento.

(assinatura)

Nome do Responsável – Nº do registro no Conselho Profissional



Identificação do Laboratório/Serviço de Saúde

Endereço e telefone

Nº do registro do Laboratório Clínico no respectivo conselho de classe profissional

Nome do Responsável Técnico – Nº do Registro no Conselho Profissional

MODELO DE LAUDO – Teste Rápido HIV-2

Nome do paciente: _____ Nº registro: _____
Data de nascimento: __/__/____ Sexo: _____
Unidade Solicitante: _____ Município/UF: _____/UF
Profissional Solicitante: _____ – CRM____/UF
Data da coleta: __/__/____ Data da emissão do laudo: __/__/____

HIV

Teste Rápido 1 (TR1)

Amostra: _____ (sangue total/soro/plasma/fluido oral)

Método: Imunocromatografia – Fabricante: _____

Resultado: Reagente

Teste Rápido 2 (TR2)

Amostra: _____ (sangue total/soro/plasma)

Método: Imunocromatografia – Fabricante: _____

Resultado: Reagente

Conclusão: Amostra Reagente para HIV

Observações:

- **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.
- Resultado definido com o Fluxograma __ (1 ou 2, de acordo com o tipo de amostra utilizada), conforme estabelecido pela Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013.

(assinatura)

Nome do Responsável – Nº do registro no Conselho Profissional

ESPECIFICAÇÕES TÉCNICAS DA PUBLICAÇÃO

Capa:

Formato: A4 – 4 pg

Cor: 4/4

Papel: Supremo Couchê Fosco 320 g

Encadernação: Lombada quadrada

Acabamento: BOPP

Miolo:

Formato: A4 – 216 pg

Cor: 4/4

Papel: Off set 90 g/m²

Gráfica:

Tiragem: 2.000

DISQUE SAÚDE



Ouvidoria Geral do SUS.
www.saude.gov.br

Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde
www.saude.gov.br/bvs



MINISTÉRIO DA
SAÚDE