

---

## MÉTODOS LABORATORIAIS PARA O DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO POR HIV

Natália Graciana Biatto<sup>1</sup>  
Diego Lima Petenuci<sup>2</sup>  
Rosália H. Fernandes Vivan<sup>3</sup>

### RESUMO

A infecção Vírus da Imunodeficiência Humana representa uma pandemia de saúde pública. Desde o primeiro caso identificado, testes são projetados para minimizar resultados incorretos. A evolução dos testes de diagnóstico sorológico é informalmente denominada de gerações, cada geração subsequente demonstra vantagens no nível de especificidade e sensibilidade diagnóstica. Além dos testes sorológicos, o diagnóstico é realizado através de testes rápidos, através das metodologias de imunocromatografia e imunoconcentração. Uma grande vantagem dos testes rápidos é facilidade na execução, que não requer equipamentos e ambiente laboratorial, além de mão de obra qualificada. A confirmação dos resultados é realizada em duas etapas. A partir de um teste de triagem imunológico positivo, é realizada a pesquisa viral através das metodologias de Western-Blot, ImunoBlot, reação em cadeia da polimerase (PCR) e teste de ácidos nucleicos (NAT). A eficácia da terapia antirretroviral e da terapia profilática pré-exposição traz novas dificuldades ao diagnóstico pois, o início precoce destas terapias pode alterar a resposta biológica e presença de biomarcadores, o que afeta diretamente os resultados laboratoriais.

**Palavras-chave:** HIV. Testes sorológicos. Western-Blot. ImunoBlot.

### ABSTRACT

Infection with the Human Immunodeficiency Virus represents a public health pandemic. Since the first case identified, tests are considered to minimize incorrect results. The evolution serological diagnostic tests is informally nominated generations, each subsequent generation presenting advantages in terms of specificity and diagnostic sensitivity. In addition to serological tests, the diagnosis is performed through rapid tests, using the immunochromatography and immunoconcentration methodologies. A great advantage of rapid tests is ease of execution which does not require equipment and a laboratory, in addition to qualified labor. The results are confirmed in two times. From a positive immunological screening test, viral research is carried out using Western-Blot, ImmunoBlot, polymerase chain reaction (PCR) and nucleic acid test (NAT) method. Efficacy in antiretroviral and pre-exposure prophylactic therapy carry new difficulties in

---

<sup>1</sup> Discente do Curso de Farmácia – UniFil

<sup>2</sup> Professor orientado do Curso de Farmácia – UniFil

<sup>3</sup> Professora banca do Curso de Farmácia - UniFil

diagnosis because, the early initiation of these therapies can alter the biological response and the presence of biomarkers, which directly affects laboratory results.

**Keywords:** HIV. Serological tests. Western-Blot. ImmunoBlot

## 1 INTRODUÇÃO

A infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) é um grave problema de saúde pública presente em todo o mundo, sendo causador da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Segundo o UNAIDS (Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS) em 2018, aproximadamente 37,9 milhões [32,7 milhões – 44,0 milhões] de pessoas estavam infectadas pelo HIV em todo o mundo. Estima-se que quase quatro em cada cinco pessoas que convivem com o HIV conhecem seu status sorológico (UNAIDS, 2019).

No Brasil, o número crescente de novos casos é evidenciado na região nordeste do país, sendo menor nas regiões sul e sudeste. Atualmente, a AIDS ocupa a quinta causa mais comum de morte entre adultos, principalmente entre mulheres de 15 a 49 anos de idade (LOPES *et.al.*, 2019). A terapia antirretroviral altamente ativa (TARV), assim como os inibidores de protease, foram responsáveis pelo aumento da sobrevivência de pacientes soropositivos devido à supressão da replicação viral, melhorando a qualidade de vida. (LOPES *et.al.*, 2019). No entanto, a falta de conhecimento dos indivíduos a respeito da doença, principalmente relacionada às formas de transmissão, prevenção, diagnóstico e tratamento, representam um desafio para o Ministério da Saúde no enfrentamento do HIV (SOUZA, 2018).

O diagnóstico precoce e preciso da infecção pode melhorar o prognóstico da doença e a qualidade de vida do indivíduo portador do vírus HIV, além de minimizar a chance de novas infecções (LOPES *et.al.*, 2019) visto que a eficácia da terapia tornou-se cada vez mais evidente (BRANSON, 2019).

O objetivo deste estudo é analisar os testes diagnósticos mais utilizados atualmente e o impacto positivo dos testes rápidos, de resultados confiáveis de fácil execução, que permitem detectar os marcadores da infecção em um curto espaço de

tempo após o contágio, através de uma revisão de literatura sobre a evolução dos métodos diagnósticos da infecção pelo HIV.

## **2 METODOLOGIA**

O presente trabalho é uma revisão bibliográfica, cuja pesquisa baseou-se na consulta da bibliografia, com base nos dados fornecidos pelo Ministério da Saúde e de artigos publicados nos idiomas Inglês e Português. Na estratégia da busca, foram consultadas as bases de dados de publicações científicas indexadas: SciELO, PubMed. Foram pesquisados os temas: “HIV, AIDS, diagnóstico, teste rápido, controladores de elite, bem como a combinação variada de dois ou três, destes termos de busca.

## **3 ASPECTOS GERAIS DO HIV**

O Vírus da Imunodeficiência Humana é um retrovírus, classificado em dois tipos, de acordo com suas características genômicas e filogenéticas: HIV-1 e HIV-2. O HIV-1 é responsável pela pandemia da infecção, apresentando viremia mais elevada, caracterizado pela replicação viral com redução das células de defesa e profunda imunossupressão, associado à infecções oportunistas, tumores malignos e manifestações neurológicas. O HIV-2 possui características similares ao anterior, diferindo quanto à transmissibilidade, virulência e distribuição geográfica, sendo praticamente restrito ao oeste da África e a maioria dos indivíduos não progredem para AIDS. (PAULA, 2018).

O HIV infecta diferentes células de defesa, como: linfócitos T CD4+, macrófagos e células dendríticas. (RODRIGUES, 2017). Na fase inicial da infecção, a interação viral ocorre em maior afinidade com os macrófagos, que são menos eficientes para produção de novos vírus, tornando lenta a progressão da doença. Durante a fase de latência clínica, há maior afinidade entre o vírus e as células T CD4+, que são mais eficientes na produção de novos vírus. Nesta etapa há indução da resposta imune, de maneira ineficiente pois, a elevada produção de linfócitos T CD4+ acaba sendo útil para maior propagação da infecção (LAZZAROTO *et al.*, 2010).

A transmissão do HIV ocorre a partir do contato com secreções fisiológicas, principalmente sangue, sêmen, secreção vaginal, leite materno, saliva, exsudatos de lesões, ou lesões de peles e mucosas, que contenham células infectadas ou HIV livres. Altos níveis de vírions tornam mais provável a transmissão. Esta situação ocorre principalmente durante a infecção primária, mesmo quando o indivíduo transmissor ainda é assintomático. A transmissão por perdigotos, tosse ou saliva, embora possível, é extremamente improvável de ocorrer (CACHAY, 2018).

A infecção pelo HIV possui três fases clínicas distintas, de acordo com o curso da doença (RODRIGUES, 2017). Em indivíduos não tratados, o tempo médio entre a infecção e o aparecimento dos sintomas específicos é estimado, em média, em dez anos, na ausência de terapia antirretroviral. Período conhecido como latência clínica (ARYA *et al.*, 2015).

A fase aguda da doença é o primeiro estágio da infecção pelo HIV e ocorre nas primeiras semanas de contágio caracterizado por uma síndrome transitória sintomática ou não, devido à elevada viremia e diminuição na contagem de células T CD4+. Neste período, a carga viral do HIV se encontra elevada, acompanhada de níveis decrescentes de linfócitos T CD4+ (RODRIGUES, 2017). As manifestações clínicas deste período não são reconhecidas como indicadores da doença pois, são semelhantes à uma síndrome viral aguda. A maior parte destes sinais e sintomas desaparecem em 1 a 2 semanas (HOENIGL *et al.*, 2016).

A soroconversão ocorre em geral, de duas a seis semanas após o contágio. Neste período conhecido como “janela imunológica”, os testes imunológicos para detecção de anticorpos podem ser negativos. A resposta imune é capaz de controlar parcialmente a infecção e a replicação viral, e os sintomas são autolimitantes (RODRIGUES, 2017).

Após a manifestação inicial, a fase crônica assintomática é estabelecida. Este período pode durar vários meses ou anos, sendo também conhecido como fase de latência. A replicação viral se mantém nos órgãos linfoides porém, há um processo de equilíbrio entre a destruição das células de linfócitos T CD4+ (CARVALHO, 2011). Ocorre a diminuição progressiva dos linfócitos T CD4+, macrófagos e células dendríticas, que é parcialmente contrabalanceada pela sua produção. A medida que o sistema imune se torna mais debilitado, a infecção progride (ARYA *et al.*, 2015).

A duração da fase de latência, na ausência de terapia antiretroviral classifica os portadores de HIV em 4 diferentes subtipos: progressores típicos, progressores rápidos, não progressores de longo termo e controladores de elite. De modo geral, progressores rápidos têm declínio de células T CD4+ e evolução da imunodeficiência severa em um período entre dois a três anos. Progressores típicos desenvolvem imunodeficiência severa em um período de oito a dez anos. Não progressores de longo prazo (LNTPs) apresentam progressão bastante lenta da infecção, não apresentando sintomas e com níveis de células T CD4+ elevados por mais de dez anos. Dentro do grupo dos LNTPs, existem os controladores de elite, capazes de suprimir a replicação do HIV de forma que a carga viral permaneça indetectável mesmo com a ausência de terapia antiretroviral (SANTOS, 2017).

O aparecimento de infecções oportunistas e neoplasias é o definidor da AIDS (ARYA *et al.*, 2015).

205

#### **4 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL**

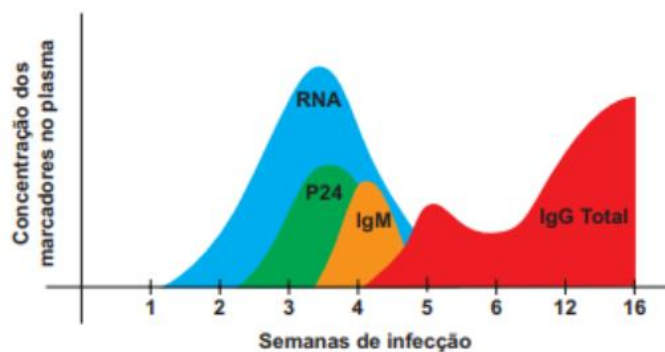
Os testes de diagnóstico são empregados de acordo com a finalidade para detecção do HIV, sendo estes: para triagem sorológica de doadores, para o diagnóstico de infecção do HIV e para o controle epidemiológico e estudo de vigilâncias (OMS, 2015).

Os métodos de detecção visam melhorar a qualidade, acessibilidade e rapidez do diagnóstico para que a terapia antiretroviral seja iniciada, evitando a progressão da doença (DANTAS *et.al.*, 2015). No entanto, o início precoce da terapia antiretroviral, além da profilaxia pré-exposição, pode alterar a evolução dos marcadores sorológicos do HIV e, por sua vez, a reatividade dos imunoenaios, podendo levar à resultados ambíguos (BRANSON, 2019).

As estratégias dos testes empregados visam melhorar a qualidade do diagnóstico da infecção, além de fornecer um diagnóstico seguro e rapidamente conclusível. Para isto, em indivíduos com idade superior a 18 meses, os testes devem ser realizados, obrigatoriamente, em duas etapas: uma de triagem e uma complementar (OMS, 2015).

Após a infecção pelo HIV-1, marcadores específicos podem ser detectados na seguinte ordem cronológica: RNA HIV-1, antígeno P24, Anticorpo HIV-1 IgM, Anticorpo HIV-1 IgG, conforme demonstrado na figura 1 (BRANSON, 2019).

**Figura 1** - Sequência do aparecimento de marcadores laboratoriais para infecção HIV-1



Fonte: adaptado de Brasil (2018)

206

Ao longo do processo infeccioso a avidéz do anticorpo pelo antígeno é gradativamente aumentada, devido às mutações em regiões dos genes codificadores das imunoglobulinas. Este aumento de afinidade leva ao aumento da concentração de anticorpos específicos anti-HIV na fase inicial da resposta imune humoral, que permite a detecção através de testes diagnósticos. Os testes diagnósticos são classificados de acordo com a evolução das metodologias empregadas, utilizando além dos marcadores de resposta imune, a detecção do material genético do vírus (RNA viral ou DNA próviral) e do antígeno p24 (BRASIL, 2018).

#### 4.1 Testes Rápidos

Os testes rápidos para detecção do HIV foram utilizados inicialmente nos bancos de sangue para a triagem de doadores. O baixo custo aliado à fácil execução, impulsionou a implementação desta metodologia. No entanto, o volume diário de análises para HIV em doadores de sangue é extremamente elevado, o que inviabilizou a realização de testes rápidos para esta finalidade (SOUZA, 2018).

Atualmente, os testes rápidos são fundamentais para melhorar o acesso ao diagnóstico, principalmente quando há necessidade de avaliar e decidir rapidamente sobre a utilização de profilaxia medicamentosa (ROCHA *et al.*, 2016), sendo utilizados nos serviços de saúde sem infraestrutura laboratorial pois, dispensam o uso de equipamentos. No entanto, quando comparado à testes sorológicos, a baixa sensibilidade de alguns testes rápidos pode levar à resultados falso-negativos, principalmente em infecções recentes (CASTEJON, 2020).

Para realização dos testes rápidos são empregadas as metodologias de imunocromatografia e imunoconcentração (SOUZA, 2018). São classificados como testes rápidos, aqueles realizados preferencialmente na presença do paciente, com resultados disponíveis em até trinta minutos, com amostra de sangue obtida por punção digital ou amostra de fluído oral (BRASIL, 2018).

A técnica de imunocromatografia é baseada na adição de amostra na região analítica de uma membrana de nitrocelulose. Juntamente à amostra, é adicionada uma solução tampão que permite um fluxo contínuo do analito por toda a membrana. Os anticorpos presentes na amostra ao migrarem pela membrana se aderem à uma área contendo conjugado, o complexo antígeno/anticorpo é visualizado através de reagentes sensíveis à cor, como o ouro coloidal, formando uma linha colorida. O conjugado não ligado continua a migração pela membrana, chegando à área de controle, que contém anticorpos anti-imunoglobulina, formando outra linha colorida, o que valida o teste. A ausência de uma linha colorida da área de controle, invalida o teste. (SOUZA, 2018).

O teste de imunoconcentração também é realizado em uma membrana de nitrocelulose, ou de nylon, onde os antígenos de HIV-1 e HIV-2 estão imobilizados. A amostra é colocada sobre a membrana e ao passar pela área onde estão imobilizados os antígenos, os anticorpos da amostra formam um complexo antígeno/anticorpo que será visualizado por uma reação colorimétrica a partir da presença de ouro coloidal. A reação é válida apenas quando houver a presença de um ponto colorido na área de controle (BRASIL, 2018).

## 4.2 Imunoensaios

Os testes sorológicos para detecção do HIV foram agrupados informalmente em gerações de ensaios, baseado no princípio do teste. Cada geração subsequente levou a uma janela sorológica mais curta para resultados falso-negativos (ALEXANDER, 2016).

O princípio da metodologia é baseado na detecção de anticorpos por meio de uma ligação com antígenos de um lisado viral fixado em fase sólida. Quando há presença de anticorpos específicos ao HIV na amostra teste, estes se ligam à fase sólida, sendo detectados por um anticorpo complementar, anti-imunoglobulina humana, marcado por uma enzima, capaz de reagir com um substrato cromogênico. O resultado é mensurado por espectrofotometria, onde a intensidade da coloração é diretamente proporcional à presença de anticorpos na amostra (SOUZA, 2018).

Nos testes de primeira geração, os antígenos do lisado viral são obtidos a partir de cultura do HIV em linhagens celulares humanas. O vírus é obtido do sobrenadante, concentrado por centrifugação e lisado, a fim de expor as proteínas virais. No entanto, as diferentes proteínas virais não são obtidas com a mesma eficiência e algumas sofrem degradação. Além disso, proteínas de origem celular e outras impurezas provenientes da cultura podem estar presentes na preparação antigênica final. Nesta geração, ocorre apenas a detecção dos anticorpos de classe IgG, o que torna o teste menos sensível, quando comparado às gerações subsequentes. Em média, a janela de soroconversão dos ensaios de primeira geração é de 8 a 10 semanas. Atualmente, estes testes não são mais utilizados na rotina de diagnóstico (BRASIL, 2018).

Os imunoensaios de segunda geração apresentam o mesmo formato indireto de diagnóstico, mas utilizam antígenos e peptídeos sintéticos derivados de proteínas do HIV ligados à fase sólida, o que aumenta a especificidade do teste. Isto porque, esta geração de testes foi desenvolvida a partir da detecção de regiões antigênicas, denominados de epítomos dominantes, presentes em algumas moléculas do vírus, que são alvos preferenciais da resposta imuno humoral. Neste caso, quanto maior a presença de epítomos dominantes no ensaio, maior é a sua sensibilidade. Tal condição, permitiu diminuir a janela imunológica de 4 a 5 semanas em média além, da detecção de anticorpos IgG anti-HIV1 e anti-HIV2. (BRASIL, 2018; SOUZA, 2018).



Os imunoenaios de terceira geração são caracterizados por uma metodologia em formato de “sanduíche”, onde os peptídeos sintéticos ou proteínas recombinantes, estão presentes tanto na fase sólida quanto na forma de conjugado, o que permite detectar simultaneamente anticorpos anti-HIV de classe IgM e IgG, aumentando a sensibilidade e especificidade (BRASIL, 2018).

A imunoglobulina G possui estrutura bivalente, ou seja, possui dois sítios de ligação ao antígeno. A imunoglobulina M possui estrutura pentavalente. Estes sítios se ligam ao antígeno adsorvido à fase sólida e ainda, há sítios livres para posteriormente se ligarem aos mesmos antígenos solúveis, adicionados na forma de conjugado. Desta forma, o anticorpo permeia entre estes dois antígenos e, qualquer classe de imunoglobulina anti-HIV pode ser detectada (IgG, IgM, IgA ou IgE) (BRASIL, 2018).

A possibilidade de detecção de anticorpos anti-IgM torna este ensaio mais sensível, quando comparado as gerações anteriores, além do aumento de especificidade pois, os antígenos se ligam apenas na valência livre do anticorpo que está aderido à fase sólida. Em média, a janela imunológica de soroconversão dos ensaios de terceira geração é de 3 semanas (SOUZA, 2018).

Os ensaios de quarta geração permitem a detecção simultânea dos anticorpos IgM e IgG anti-HIV-1, anti-HIV-2 e do grupo O, bem como do antígeno p24. O que trouxe grande vantagem em níveis de especificidade e sensibilidade diagnóstica, sendo possível reduzir a janela imunológica para aproximadamente duas semanas (SOUZA, 2018). A metodologia desta geração se baseia no formato de “sanduíche”, onde há detecção dos anticorpos contra proteínas recombinantes ou peptídeos sintéticos derivados das glicoproteínas gp41 e gp120/160. A detecção do antígeno p24 ocorre através da presença de anticorpo monoclonal fixado à fase sólida e de um conjugado constituído por um anticorpo poliespecífico para a proteína p24 (SOUZA, 2018)

Os ensaios de quinta geração foram aprovados pelo Comitê de Administração de Alimentos e Medicamentos (FDA – Food and Drug Administration) dos Estados Unidos em 2015, os quais são métodos de análise multiplex semelhantes aos de quarta geração, porém com a diferenciação na análise de cada analíto, fornecendo os resultados de forma isolada para a detecção de anticorpos IgM e IgG anti-HIV-1, anti-HIV-2, grupo O e antígeno p24. Nesta geração, a sensibilidade é de 100%, enquanto a especificidade é de

99,5% e a janela imunológica reduzida para um período de 2 semanas (ALEXANDER, 2016).

Atualmente, os imunoenaios são altamente sensíveis e específicos, no entanto, a fim de eliminar o diagnóstico a partir de um teste falso-positivo, análises complementares foram desenvolvidas (SOUZA, 2018). Desta forma, o diagnóstico de HIV só é realizado a partir de testes rápidos ou imunoenaios iniciais, seguidos de um ensaio complementar. Os principais testes confirmatórios utilizados são: Western Bolt (WB), Imuno Blot (IB) e testes moleculares pela metodologia de reação em cadeia da polimerase (NAT) (CASTEJON *et al.*, 2017).

#### **4.3 Western-Blot / ImunoBlot**

A metodologia de Western-Blot realiza a separação das proteínas virais a partir do seu peso molecular (BRANSON, 2019) O teste de Western-Blot utiliza antígenos do HIV adsorvidos a uma membrana de nitrocelulose. Para isto, as proteínas e glicoproteínas virais são separadas em um gel de poliacrilamida, por eletroforese, a partir dos seus pesos moleculares, em seguida, são transferidas para uma membrana de nitrocelulose. No teste de ImunoBlot as proteínas recombinantes ou peptídeos sintéticos são impregnados diretamente na membrana de nitrocelulose. A amostra teste é adicionada com esta membrana de nitrocelulose e incubada em contato com os antígenos virais, a fim de identificar a presença de anticorpos específicos para o HIV. Os anticorpos presentes na amostra se ligam especificamente às proteínas imobilizadas na membrana de nitrocelulose. A interação antígeno-anticorpo é evidenciada pela adição de um conjugado enzimático. Dois conjugados são utilizados no teste: o primeiro, composto por uma imunoglobulina associada à biotina e o segundo, composto por avidina ou estreptavidina, ligado à uma enzima. Por fim, o substrato enzimático é adicionado, o que permite a visualização do resultado através da presença de um produto insolúvel e corado sobre a fita. A amostra teste é considerada reagente quando existe a reatividade em, pelo menos, duas das proteínas gp41, p24, gp120 ou gp160. A ausência de bandas na fita indica que a amostra é considerada não reagente. Pode ainda, ocorrer resultado

inconclusivo quando há presença da reação em qualquer um dos padrões diferentes dos que conferem positividade (SOUZA, 2018).

Os testes de Western-Blot e ImunoBlot possuem custo elevado e requerem mão de obra especializada para realização do teste, isto porque a interpretação subjetiva é necessária para estabelecimento do diagnóstico preciso (Ministério da Saúde, 2018).

A maioria destes testes confirmatórios detectam apenas a presença de anticorpos de classe IgG, não sendo recomendado para diagnóstico de infecções recentes, para a confirmação de anticorpos de classe IgM ou para presença do antígeno p24. Nestes casos, o Teste Molecular é recomendado.

#### **4.4 Testes Moleculares**

Nos testes moleculares ocorre a pesquisa direta do vírus HIV através da pesquisa de RNA ou DNA pró-viral e antígeno p24 circulante, sendo possível a detecção do ácido nucléico viral em até oito dias antes do aparecimento de anticorpos, otimizando a sensibilidade e a especificidade em relação ao diagnóstico imunológico. A realização dos testes moleculares ocorre a partir da reação em cadeia da polimerase (PCR), onde ocorre a amplificação *in vitro* de uma determinada região de interesse do DNA, com o objetivo de produzir um número de cópias suficientes de DNA para serem posteriormente analisados. O resultado final é avaliado digitalmente após a amplificação, permitindo a quantificação da carga viral (BRASIL, 2018).

A realização do teste de ácidos nucléicos é obrigatória para os bancos de sangue, como teste de triagem complementar à análise sorológica dos doadores (BRASIL, 2018). Neste caso a técnica de reação em cadeia da polimerase ocorre em tempo real, onde ocorre a amplificação de regiões alvo do DNA e RNA a partir de um conjunto de seis amostras a serem testadas. Inicialmente, uma partícula viral calibradora é adicionada à amostra, que servirá como controle durante o ensaio. Um primer é adicionado à reação, que se ligará à fita de DNA, na pesquisa de regiões virais. Em seguida, os ácidos nucleicos são extraídos e amplificados pela técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real (KAMEDA *et al.*, 2018). O NAT se diferencia do teste de PCR pois, uma pequena quantidade de cópias de ácido nucleico permite detectar a presença do agente infeccioso.

Além disso, no teste de ácido nucléico a amplificação ocorre adicionalmente à extração, o que permite a rápida quantificação do resultado (BIOMANGUINHOS, 2019)

Os testes moleculares são empregados no diagnóstico precoce da infecção por HIV em crianças com exposição perinatal ou com idade inferior a 18 meses e na infecção recente em adultos (BRASIL, 2018). Os testes complementares e testes moleculares permitiram maior segurança no diagnóstico da infecção. A evolução e aplicabilidade dos testes rápidos, sorológicos, confirmatórios e moleculares pode ser avaliada na figura 2.

**Figura 2** - Evolução dos testes diagnósticos para o HIV

<b>Método</b>	<b>Sensibilidade Especificidade</b>	<b>Princípio</b>	<b>Janela Imunológica</b>	<b>Principal Indicação</b>
Testes rápidos	99,5% 99,0%	Imunocromatografia Imunoconcentração	4 – 6 semanas	Rápido diagnóstico, ausência de equipamentos
Imunoensaio 1ª geração	96 – 98% 99%	Detecção de Anticorpos IgG a partir de lisado de células virais	8 – 10 semanas	Não é indicado
Imunoensaio 2ª geração	>99% >99,5%	Detecção de Anticorpos IgG a partir de antígenos e peptídeos sintéticos	4 – 6 semanas	Não é indicado
Imunoensaio 3ª geração	>99,5% >99,5%	“Sanduíche” – Detecção de Anticorpos IgG e IgM	2 – 3 semanas	Pesquisa de anticorpos IgG e IgM
Imunoensaio 4ª geração	99,5% >99,8%	Detecção de Anticorpos IgG, IgM, Grupo O e Antígeno p24	2 semanas	Pesquisa de anticorpos IgG, IgM e proteínas virais
Imunoensaio 5ª geração	>99,5% 100%	Detecção e diferenciação de Anticorpos IgG, IgM, Grupo O e Antígeno P24.	2 semanas	Pesquisa e diferenciação de Ac IgG e IgM, HIV-1, HIV-2, Grupo O e Ag p24.
WesternBlot ImunoBlot	100% 98%	Pesquisa de proteínas virais a partir de seu peso molecular	4 - 8 semanas	Confirmação para testes sorológicos positivos. Pacientes “controladores de elite”
Testes Moleculares	100% >99,5	Pesquisa de RNA ou DNA pró-viral	2 semanas	Confirmação para testes sorológicos positivos. Diagnóstico para indivíduos com idade <18 meses Triagem transfusional

## 5 CONCLUSÃO

A diversidade de testes diagnósticos para o HIV disponíveis no mercado, as novas tecnologias desenvolvidas e os diversos cenários onde os diagnósticos de infecção pelo HIV são realizados, reforçam a necessidade de avaliações frequentes dos ensaios utilizados, principalmente no que diz respeito ao diagnóstico precoce, em infecções recentes e com o uso de terapias profiláticas pré-exposição.

Os testes rápidos podem ser realizados fora do laboratório de análises clínicas, devido à facilidade da execução, não sendo necessário o uso de equipamentos específicos ou mão de obra capacitada. Esta metodologia permite o diagnóstico mesmo em locais onde há baixa infraestrutura.

No entanto, deve ser considerado qual o alvo de pesquisa para um determinado ensaio (antígeno, anticorpo, proteína e/ou RNA viral), quando este alvo pode ser detectado após a infecção, qual a sua concentração na amostra, o volume da amostra testada e a sensibilidade analítica do teste.

A evolução dos testes imunológicos garante grande especificidade e sensibilidade aos testes, no entanto, a janela sorológica deve ser considerada na compreensão do resultado. Além disso, estudos recentes demonstram que o uso de terapias profiláticas e o início precoce de terapia antirretroviral podem complicar o diagnóstico do HIV pois, a falta de estimulação antigênica altera a evolução dos biomarcadores, afetando a reatividade dos imunoensaios.

O diagnóstico por testes moleculares trouxe significativos avanços e segurança, principalmente no âmbito transfusional. A janela imunológica se tornou praticamente inexistente e infecções muito precoces podem ser diagnosticadas, com uma carga viral ainda indetectável em imunoensaios de terceira e quarta geração. O diagnóstico precoce em crianças com exposição perinatal só foi possível a partir dos testes moleculares pois, crianças nascidas de mães soropositivas adquirem anticorpos passivamente e, desta forma, ensaios utilizando a detecção de anticorpos não podem ser utilizados para confirmar ou diagnosticar a infecção por HIV em crianças com idade inferior a 18 meses.

Indivíduos considerados controladores de elite não possuem carga viral detectável e, desta forma, não são diagnosticados através de testes moleculares. No entanto, o

Wester-Blot é o teste mais indicado para a confirmação do diagnóstico neste grupo, uma vez que a resposta imune humoral permanece intacta e a presença de anticorpos anti-HIV pode ser detectada.

O diagnóstico sorológico é realizado com pelo menos dois testes combinados a fim de aumentar o valor preditivo positivo, ou seja, diminuir a incidência de resultados falso-positivos. As principais deficiências relacionadas à detecção precoce do HIV foram supridas com a evolução das metodologias. A partir dos ensaios de quarta geração, foi possível diminuir a janela imunológica, com a implementação do diagnóstico combinado de antígenos e anticorpos.

## REFERÊNCIAS

ALEXANDER, T.S. Human Immunodeficiency Virus Diagnostic Testing: 30 Years of Evolution. **Clin Vaccine Immunol**, v. 23, p. 249-253, apr. 2016.

ARYA, S.; LAL, P.; SINGH, P.; KUMAR, A. Recent advances in diagnosis of HIV and future prospects. **Indian Journal of Biotechnology**, v. 14, p. 9–18, jan. 2015.

BIOMANGUINHOS, **Kit NAT HIV/HCV/HBV Bio-manguinhos – Teste para detecção de ácido nucléico HIV, HCV e HBV**. DI 12070 REV. 01, 2019

BRANSON, B.M. Human Immunodeficiency Virus Diagnostics Current Recommendations and Opportunities for Improvement. **Infect Dis Clin N Am**, Atlanta 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/AIDS e das Hepatites Virais. **História da AIDS**. 1983. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/noticias/historia-da-aids-1983>. Acesso: 28 ago. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV em Adultos e Crianças**. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2018.

CACHAY, E.R. **Infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV)**. Manual MSD. 2018. Disponível em: <https://www.msmanuals.com/pt/profissional/doen%C3%A7as-infecciosas/v%C3%ADrus-da-imunodefici%C3%A2ncia-humana-hiv/infec%C3%A7%C3%A3o-pelo-v%C3%ADrus-da-imunodefici%C3%A2ncia-humana-hiv?query=hiv>. Acesso: 09 ago. 2020.

- CARVALHO, B.C. **Resistência primária aos antirretrovirais e diversidade genética do HIV-1 em pacientes do estado do Tocantins**. Universidade Federal de Goiás, Goiânia 2011.
- CASTEJON, M.J., YAMASHIRO, R., OLIVEIRA, C.A.P., VERAS, M.A.S.M. Performance validation of western blot for anti-HIV antibody detection in blood samples collected on filter paper (DBS). **Jornal Brasileiro Patol. Med. Lab.** v. 53, n. 1, Rio de Janeiro, jan.feb. 2017.
- CASTEJON, M.J., YAMASHIRO, R., OLIVEIRA, C.A.P., VERAS, M.A.S.M. Avaliação do desempenho de testes para diagnóstico da infecção pelo HIV. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 56, 2020.
- DANTAS, M.S., ABRÃO, F.M.S., COSTA, S.F.G., OLIVEIRA, D.C. HIV/AIDS: significados atribuídos por homens trabalhadores da saúde. **Escola Anna Nery**, v. 19, n. 2, p. 323-330, 2015.
- HOENIGL, M.; GREEN, N.; CAMACHO, M.; et al. **Signs or symptoms of acute HIV infection in a cohort undergoing community-based screening. Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n. 3, p. 532–534, 2016
- KAMEDA, K. CORREA, M.C.D.V., CASSIER, M. A incorporação do teste diagnóstico baseado na amplificação de ácidos nucleicos (NAT) para triagem de sangue no SUS: arranjos tecnológicos para a nacionalização do “NAT brasileiro”. **Physis** v. 28, n. 1, Rio de Janeiro, jan./mar. 2018.
- LAZZAROTO, A.R., DERESZ, L.F., SPRINZ, E. AIDS/HIV e Treinamento Concorrente: A Revisão Sistemática. **Rev. Bras. Med. Esporte**, Niterói, v.16, n. 2, mar./apr. 2010.
- LOPES, A.O.L., NUNES, I.P.B., LEÃO, M.R., NOGUEIRA, M.F.B.B., TEIXEIRA, A.B. Aspectos epidemiológicos e clínicos de pacientes infectados por HIV. **RBAC.**, v. 51, n. 4, p. 296-9, 2019.
- MONTES, J.N., **Contextualização sobre a profilaxia pré-exposição (PrEP) à infecção por HIV no âmbito da saúde pública**. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP. SP-2018.
- PAULA, M.S., **Análise da diversidade genética e mutações no gene da integrase de isolados do HIV-1 de pacientes atendidos no município de Jataí/GO**. Universidade Federal de Goiás, GO-2018.
- ROCHA, K.B., SANTOS, R.R.G., CONZ, J., SILVEIRA, A.C.T. Transversalizando a rede: o matriciamento na descentralização do aconselhamento e teste rápido para HIV, sífilis e hepatites. **Saúde Debate**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 109, p. 22-33, abr./jun. 2016.



RODRIGUES, N.F., **Imunomodulação da Replicação do HIV-1 pela Hemaglutinina do Vírus Influenza**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2017.

SANTOS, J.C., **Indivíduos HIV-1 positivos não progressores por longo tempo – LTNP**: Características virais e do hospedeiro. Universidade Federal do Paraná, Curitiba 2017.

SOUZA, F.D.S. **Testes rápidos para o diagnóstico do HIV**: uma revisão da literatura. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2018.

UNAIDS **Global AIDS update 2019 — Communities at the centre**.

Disponível em: <https://www.unaids.org/en/resources/documents/2019/2019-global-AIDS-update>. Acesso em: 03 maio 2020.