

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA
CURSO DE BIOMEDICINA**

Fernanda Darto Santos de Souza

**Testes Rápidos para o diagnóstico do HIV:
uma revisão da literatura**

Natal/ RN
Novembro/ 2018

Testes Rápidos para o diagnóstico do HIV:
uma revisão da literatura

por

Fernanda Darto Santos de Souza

Monografia Apresentada à
Coordenação do Curso de Biomedicina
da Universidade Federal do Rio Grande
do Norte, como Requisito Parcial à
Obtenção do Título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador(a): Profa. Dra Fabiana Lima Bezerra

Natal/ RN
Novembro/2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS

CURSO DE BIOMEDICINA

A Monografia Testes rápidos para diagnóstico do HIV: uma revisão da literatura,

elaborada por Fernanda Darto Santos de Souza

e aprovada por todos os membros da Banca examinadora foi aceita pelo Curso de Biomedicina e homologada pelos membros da banca, como requisito parcial à obtenção do título de

BACHAREL EM BIOMEDICINA

Natal, 27 de novembro de 2018

BANCA EXAMINADORA

Fabiana Lima Bezerra (Departamento de Microbiologia e Parasitologia)

José Veríssimo Fernandes (Departamento Microbiologia e Parasitologia)

Paulo Sérgio Marinho Lúcio (Departamento de Biologia Celular e Genética)

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

Sistema de Bibliotecas - SISBI

Catálogo de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial Prof. Leopoldo Nelson - -Centro de Biociências – CB

Souza, Fernanda Darto Santos de.

Testes rápidos para o diagnóstico do HIV: uma revisão da literatura / Fernanda Darto Santos de Souza. - Natal, 2018. 43f.: il.

Monografia (Graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociências. Curso de Biomedicina.

Orientadora: Profa. Dra. Fabiana Lima Bezerra.

1. HIV - Monografia. 2. Testes rápidos - Monografia. 3. Diagnóstico - Monografia. I. Bezerra, Fabiana Lima. II. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. III. Título.

RN/UF/BSE-CB

CDU 616.98

AGRADECIMENTOS

É sempre difícil agradecer todas as pessoas que de algum modo, fizeram ou fazem parte da minha vida, por isso primeiramente agradeço à todos de coração.

Agradeço aos meus pais, José Maria e Marlene pela determinação e amor de cada um deles em cada etapa da minha formação, não só na graduação, mas desde o primórdio da minha educação até este momento. Meus grandes exemplos, que por muitas vezes sacrificaram seus gostos pessoais a fim de se doar para cada um de seus três filhos, proporcionando sempre uma ótima educação.

Agradeço aos meus irmãos, Rafaela Darto e Moisés Darto, que por mais difícil que fossem as circunstâncias, sempre tiveram paciência e confiança.

Agradeço as minhas lindas sobrinhas, Mariana Darto e Lavínia Darto, que sempre me fazem lembrar o que realmente importa na vida – simplicidade e amor.

Agradeço aos meus amigos, colegas e companheiros de trabalho (SESAP/RN), que de alguma forma me ajudaram a conquistar este diploma.

Agradeço aos meus colegas de classe e com certeza futuros excelentes profissionais.

Agradeço aos amigos que fiz ao longo dos onze semestres, principalmente Paloma Pinheiro, companheira de estudos, seminários e conselhos de todos os âmbitos.

Agradeço aos professores que desempenharam com dedicação as aulas ministradas.

Agradeço à minha orientadora, Fabiana Lima Bezerra, que ouviu pacientemente as minhas considerações compartilhando comigo as suas idéias, conhecimento e experiências e com super cautela e paciência, conseguiu corrigir os meus textos e por ser uma excelente professora e profissional, a qual me espelho.

Agradeço a Deus pela oportunidade de ter chegado até aqui, com todas as dificuldades que tive, mas sem perder a força e a vontade de lutar.

“Nada é permanente, exceto a mudança.”

Heráclito

RESUMO

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida é um grave problema de saúde pública em escala global. Ao longo de quase 40 anos dessa pandemia, houve grandes avanços no diagnóstico dessa enfermidade. No presente estudo foi realizada uma revisão de literatura sobre a evolução do diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV, com ênfase na descrição dos testes rápidos. Nessa pesquisa foram consultadas as bases de dados do Ministério da Saúde do Brasil e da Biblioteca Virtual em Saúde – BVS/ LILACS, SciELO e PubMed. Nos estudos pode-se evidenciar as vantagens dos novos métodos no que concerne à redução da janela imunológica, a rapidez dos resultados, aliado a alta sensibilidade dos testes diagnósticos. Tais características permitiram a implantação de fluxogramas na rede pública de saúde, os quais foram planejados e implementados, a fim de transpor as barreiras sociais, estruturais e operacionais, permitindo assim sua execução em ambientes laboratoriais e não laboratoriais. Estes testes constituem uma importante estratégia no sentido de conter a disseminação da infecção, uma vez que a detecção e tratamento precoce da infecção pelo HIV de certa forma contribui no controle da sua disseminação.

Palavras Chave: HIV; testes rápidos; diagnóstico

ABSTRACT

Acquired immunodeficiency syndrome is a serious public health problem in global. Over almost 40 years in this pandemic, there have been major advances in diagnosing disease. In the present study a review of the literature on the evolution of the HIV diagnosis, with emphasis on the description of the rapid tests. In this research the databases of the Ministry of Health of Brazil and the Virtual Health Library - VHL / LiLACS, Scielo and Pubmed were consulted. In the studies the advantages can be evidenced with regard to the reduction of the window in immunology, the rapidity of the results, allied to the high sensitivity of the diagnostic tests. These characteristics allowed the implantation of flowcharts in the public health network, which were planned and implemented with the objective of overcoming social, structural and operational barriers, allowing their execution in laboratories and non-laboratory environments. These tests are an important strategy to contain the spread of infection, since early detection of HIV has been used in some way to control its spread.

Key Words: HIV;rapid tests;diagnosis

ÍNDICE

Lista de Abreviaturas.....	09
Lista de figuras.....	11
Introdução.....	12
Objetivo e Metodologia.....	13
1.0 Referencial Teórico.....	14
2.0 Epidemiologia.....	16
2.1 Epidemiologia do estado do Rio Grande do Norte (RN).....	17
3.0 Estrutura do HIV.....	18
3.1 Transmissão e resposta imune contra o HIV.....	20
4.0 Diagnóstico da infecção pelo HIV.....	23
4.1 Imunoensaio.....	23
4.1.1 Primeira geração.....	23
4.1.2 Segunda geração.....	24
4.1.3 Terceira geração.....	25
4.1.4 Quarta geração.....	25
4.1.5 Quinta geração.....	27
4.2 Western blot (WB).....	27
4.3 Imunoblot (IB).....	28
4.4 Imunofluorescência indireta.....	28
4.4 Testes moleculares.....	29
5.0 Testes rápidos.....	29
5.1 Imunocromatografia /Fluxo Lateral.....	30
5.2 Imunocromatografia de dupla migração.....	31
5.3 Imunoconcentração.....	32
5.4 Aglutinação.....	33
5.5 Fase Sólida.....	33
Conclusão.....	40
Referências.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS

Ac anticorpo

Ag antígeno

Aids síndrome da imunodeficiência adquirida (do inglês Acquired Immunodeficiency Syndrome)

Anvisa Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CTA Centro de Testagem e Aconselhamento

CV carga viral

DIAHV Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais

DNA ácido desoxirribonucleico (do inglês desoxyribonucleic acid)

DOE desempenho operacional do ensaio

DPP plataforma de duplo percurso (do inglês dual path platform)

Env envelope

FO fluido oral

Gag antígeno grupo específico (do inglês group-specific antigen)

Gp glicoproteína

HIV vírus da imunodeficiência humana (do inglês human immunodeficiency virus)

IB imunoblot

IBR imunoblot rápido

IE imunoensaio

IFI imunofluorescência indireta

Ig imunoglobulina

IgA imunoglobulina A

IgE imunoglobulina E

IgG imunoglobulina G

IgM imunoglobulina M

IST infecção sexualmente transmissível

MS Ministério da Saúde

Notivisa Sistema de Notificações em Vigilância Sanitária

NR não reagente

P proteína

PCR reação em cadeia da polimerase (do inglês polymerase chain reaction)

Pol polimerase

R reagente

RF formas recombinantes (do inglês recombinant forms)

RNA ácido ribonucleico (do inglês ribonucleic acid)

RT transcriptase reversa (do inglês reverse transcriptase)

ST sangue total

SUS Sistema Único de Saúde

T teste

TARV terapia antirretroviral

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 unique recombinant form)

UBS Unidade Básica de Saúde

WB Western blot

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Estrutura do HIV	20
Figura 02. Marcadores do HIV na corrente sanguínea de acordo com o período pós infecção	21
Figura 03. Esquema ilustrativo do imunoensaio de primeira geração	24
Figura 04. Representação esquemática de um ensaio de terceira geração	25
Figura 05. Representação esquemática de um ensaio de quarta geração	26
Figura 06. Representação esquemática da fita de Western-blot	28
Figura 07. Representação esquemática dos possíveis resultados da Imunocromatografia	31
Figura 08. Representação esquemática dos possíveis resultados da Imunocromatografia de dupla migração	32
Figura 09. Representação interna e externa de um dispositivo para o teste por Imunoconcentração	32
Figura 10. Representação esquemática dos possíveis resultados para o teste por Imunoconcentração	33
Figura 11. Representação de um dispositivo para o teste por Fase sólida	34
Figura 12. Representação de um dispositivo para o teste por Fase sólida, positivo para HIV-1	34
Figura 13. Fluxograma para diagnóstico em maiores de 18 meses - Ministério da Saúde	36
Figura 14. Fluxograma para diagnóstico em situações especiais - Ministério da Saúde	37

INTRODUÇÃO

A infecção pelo HIV é considerada um grave problema de saúde pública em escala mundial. Presente em todos os continentes, o retrovírus causador da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) é responsável pela infecção de 36,9 milhões de pessoas de acordo com dados publicados, em 2017, pela UNAIDS (Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS). Hodiernamente, no Brasil há em média de 530 mil pessoas infectadas pelo HIV, contudo estima-se que 25% delas não sabem que são portadoras do vírus.

A falta de conhecimento dos indivíduos a respeito da doença, principalmente relacionada às suas formas de transmissão, prevenção, diagnóstico e tratamento, tornou-se um grande desafio para o Ministério da Saúde no enfrentamento deste agravo. Nessa perspectiva, há uma necessidade de aprimorar os testes diagnósticos, bem como a adoção de medidas que possibilitem sua ampliação, abrangendo um maior número de indivíduos. O diagnóstico precoce é de fundamental importância, pois uma vez detectada a presença da infecção, o indivíduo pode iniciar o quanto antes o tratamento, melhorando o prognóstico de evolução da doença e a qualidade de vida, além do que, minimiza a chance de novas infecções, atenuando os gastos públicos com terapias antirretrovirais (TARV).

Sendo assim, a intenção deste estudo foi de analisar os testes diagnósticos mais utilizados atualmente - testes rápidos. Com aspectos positivos, essa estratégia diagnóstica visa obter resultados confiáveis de fácil e rápida execução e permite detectar os marcadores da infecção em um curto período de tempo após o contágio. Pois são instrumentos para auxiliar no diagnóstico clínico, na proteção do suprimento de sangue e no monitoramento da infecção pelo HIV, no âmbito nacional. Além disso, demonstrar o embasamento científico da técnica do teste imunohematológico utilizado e as leis e normas relacionadas ao diagnóstico para detecção do HIV pelo Sistema Único de Saúde (SUS).

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão de literatura sobre a evolução dos métodos diagnóstico da infecção pelo HIV, com ênfase na descrição dos testes rápidos de HIV.

METODOLOGIA

O método utilizado nesse trabalho foi de uma revisão bibliográfica, cuja pesquisa baseou-se na consulta da bibliografia impressa relacionada a essa temática, com base nos dados fornecidos pelo Ministério da Saúde do Brasil e de artigos publicados no período de 2005 a 2017. A coleta de dados foi realizada a partir de fontes publicadas nos idiomas inglês e português. Na estratégia de busca, foram consultadas as bases de dados de publicações científicas indexadas: Biblioteca Virtual em Saúde - BVS, nas fontes de dados do Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde – LILACS e no repositório *Scientific Electronic Library Online* – SciELO e PubMed.

Baseando-se pelos descritores voltados para o tema e as Ciências da Saúde, foram selecionados: “; HIV;AIDS; diagnóstico; teste rápido bem como a combinação variada de dois ou três desses termos na busca como critério de seleção.

1.0 REFERENCIAL TEÓRICO

Com caráter pandêmico e complexo, a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) foi descrita e reconhecida oficialmente como entidade clínica no dia 5 de junho de 1981. Quando o Centro de Prevenção e Controle de Doenças (CDC) dos Estados Unidos, publicou um artigo descrevendo um quadro de imunossupressão em pacientes, os quais em sua maioria eram homens jovens entre 23 e 35 anos, homossexuais e sexualmente ativos, sugerindo aos pesquisadores, se tratar de uma doença, de etiologia provavelmente infecciosa e transmissível tendo em vista sua rápida disseminação (FERREIRA,2005;CDC,2011).

Contudo, somente em 1983, cientistas e médicos franceses e estadunidenses divulgaram o isolamento do HIV-1 e iniciava-se assim, uma busca pela cura, a qual perdura até os dias atuais. Inicialmente esse agente foi denominado de Vírus Associado à Linfadenopatia-LAV, pois fora isolado de um paciente com diagnóstico de linfadenopatia crônica, Contudo, em 1987,o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus, passou a denominar o LAV de Vírus da Imunodeficiência Humana – HIV, agente infeccioso causador da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida-AIDS (ENGELMAN,2012).

Trata-se de um retrovírus que se apresenta sob a forma de dois sorotipos de HIV o tipo 1 e o tipo 2. O HIV-1 é o principal e mais prevalente no âmbito mundial. Já o HIV-2, é o retrovírus de caráter e que ocorre com maior frequência na África Ocidental, como Guiné Bissau, Gâmbia, Costa do Marfim e Senegal. Ambos os retrovírus tem os mesmos meios de transmissão-via sanguínea, sexual ou vertical. No entanto, a transmissão de HIV-2 é ligeiramente mais difícil e com progressão mais lenta das infecções relacionadas com o HIV (MONTEIRO et al., 2009;HEMELAAR et al., 2011).

No início, os casos de HIV eram restritos majoritariamente a grupos de homens homossexuais e em pacientes hemofílicos que dependiam exclusivamente de transfusões sanguíneas. Contudo, devido a disseminação do vírus ser dinâmica e instável, nos últimos anos, houve uma mudança no perfil epidemiológico, culminando na feminização e heterossexualização da infecção (UNAIDS,2016).

Devido ao aumento do número de casos de infecção pelo HIV em pacientes com hemofilia, leucemia ou anemias crônicas, os quais adquiriram o vírus a partir de transfusões sanguíneas, surgiu a necessidade de um teste diagnóstico que pudesse ser utilizado na triagem dos serviços de hemoterapia. Nesse sentido, pesquisas foram

intensificadas na busca de uma compreensão mais detalhada do curso da viremia e da soroconversão durante a infecção por HIV (BUTTÒ, 2010).

Em 1986, foi utilizado o primeiro teste diagnóstico, o qual se baseava na detecção de anticorpos anti-HIV-1 pelo ensaio imunoenzimático (ELISA). Esse ensaio fundamentava-se no emprego de antígenos do vírus, obtidos a partir de lisados de culturas de células infectadas. Contudo, com a evolução das pesquisas houve a introdução de antígenos recombinantes, promovendo o aumento da sensibilidade e da especificidade dos ensaios (ALEXANDER, 2016; GUARNER, 2017).

No início dos anos 90, o problema da variabilidade genética e antigênica do HIV tornou-se evidente, dessa forma os ensaios imunológicos deveriam incluir os antígenos para o HIV-2 e os novos antígenos do HIV-1, como os grupos M, N e O. Assentindo assim, a necessidade de testes mais detalhados e confiáveis para confirmação dos diagnósticos feitos na triagem (PANCINO, 2013).

Nesse sentido, passou a utilizar os testes confirmatórios, os quais possuem alto grau de especificidade, ou seja, capacidade reduzida de gerar reações cruzadas e resultados falso-positivos. e alta sensibilidade, de produzir poucos falsos negativos. Porém, para garantir esses parâmetros, devem ser utilizados equipamentos e reagentes de custo elevado, além de mão de obra especializada. Atualmente, os principais testes confirmatórios são: PCR (reação em cadeia de polimerase), NAT (Teste de Ácido Nucléico), Western Blot (WB) e Imunoblot (IB) (CDC, 2014; ROSENBERG et al., 2015).

Os testes rápidos (TR's) surgiram da necessidade de baratear custos, aumentar a praticidade no manuseio do teste e precisão nos resultados. Esse teste baseia-se no método imunocromatográfico para determinação rápida e qualitativa de anticorpos totais (IgG, IgM e IgA) anti-HIV 1, e anti-HIV 2 em amostras de soro, plasma ou sangue total. Empregam comumente antígenos virais fixados a um suporte sólido, tais como membranas de celulose ou nylon, látex, micropartículas ou cartelas plásticas. A utilização dos testes rápidos no Brasil teve início em 2001, a partir de publicações sobre recomendações para a profilaxia da transmissão materno infantil do HIV (ALEXANDER, 2016).

Atualmente, os TR's já são vendidos em farmácias para população em geral. A adesão a eles é de extrema importância para saúde pública, visto que proporciona o diagnóstico e tratamento precoce possibilitando uma sobrevivência maior as pessoas vivendo com HIV, melhora sua qualidade de vida e entra também como uma estratégia de prevenção combinada, pois com o tratamento adequado a carga viral do paciente diminuirá, além da

probabilidade da transmissão ser reduzida. Sendo este o principal objetivo desse estudo, buscar analisar a evolução dos testes rápidos, expondo os dados referentes a técnicas imunohematológicas, com alta sensibilidade e especificidade de cada um deles. Sempre evidenciando as vantagens ao preconizá-los como teste absoluto para diagnóstico do HIV (BRASIL/MS, 2010; ANDERSON, 2013; FIOTEC, 2014).

2.0 EPIDEMIOLOGIA

Mesmo depois de três décadas do primeiro diagnóstico da infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), estima-se que em escala global 36,9 milhões de pessoas vivam com o vírus, sendo 35,1 milhões de adultos e 1,8 milhão de crianças, abaixo dos 15 anos de idade. No ano de 2017, foram mundialmente notificadas 1,8 milhão de novas infecções por HIV e 3,1 milhões de óbitos, dentre esse 2,6 milhões foram registrados em adultos e o restante em crianças (UNAIDS, 2017)

Inicialmente a epidemia da AIDS era restrita a determinados grupos considerados de risco, a maioria formada por homossexuais, hemofílicos e usuários de drogas, mas com o decorrer do tempo esse grupo foi se modificando, e atualmente temos um panorama bem diversificado, pois a AIDS acomete qualquer indivíduo desde que exposto ao HIV sem as medidas preventivas conhecidas (UNAIDS, 2017).

O panorama epidemiológico demonstra uma feminização da infecção pelo HIV. Fatores biológicos, psicológicos, culturais, socioeconômicos e políticos, promovem a instabilidade desse segmento populacional. Visto que, culturalmente desde os primórdios da humanidade cita-se que a mulher é o gênero mais frágil, permitindo que essa desigualdade amplie a vulnerabilidade da mesma, a qual em sua maioria têm acesso desigual aos recursos econômicos, ausência de poder feminino frente as políticas de proteção contra abusos sexuais e muitas ainda negligenciam o uso de preservativos em uma relação estável (DORNELAS NETO et al., 2015).

Além da feminização, ainda há também o envelhecimento dos indivíduos responsáveis pelos novos casos de infecção pelo HIV. Houve um aumento na incidência da infecção referente a população acima dos 50 anos, isto está emergindo como desafio para as políticas públicas de saúde no Brasil. Entre as principais causas desse crescente índice estão: ampliação do acesso a medicamentos para distúrbios eréteis, participação de idosos em grupos de convivência, pequena adesão de homens idosos aos preservativos

masculinos, idosas que confiam na relação estável com o marido e não fazem uso de preservativos e retardamento de políticas de prevenção direcionadas a este grupo etário, o qual deve ser contemplado com ações preventivas e assistenciais no contexto da atenção integral à saúde do idoso (Fontes KS, 2006).

No Brasil, a AIDS é considerada um agravo à saúde humana pelo risco de qualquer cidadão ser infectado pelo retrovírus. Sendo assim, essa enfermidade passou a compor a Lista Nacional de doenças de Notificação Compulsória, segundo a *Portaria nº 204, de 17 de fevereiro de 2016*, cuja a ocorrência de novos casos, devem ser notificados às autoridades de saúde. Esse dado possibilita que sejam adotadas as políticas públicas de fomento à prevenção contra o HIV, bem como a racionalização do sistema para o fornecimento contínuo de medicamentos e as ações prioritárias para populações-chave e populações mais vulneráveis (Ministério da Saúde – Brasil, 2016). Apenas na última década, foram notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), 194.217 casos de infecção por esse vírus (BRASIL, 2017). Tem sido observada a prevalência do subtipo B do HIV-1, F1 e das formas recombinantes únicas B/F1 nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste, já na região Sul nota-se uma alta prevalência do subtipo C, com valores dos quais sempre variam de um estado para outro (BRASIL, 2013).

Em relação à mortalidade, desde o princípio da epidemia de AIDS até o ano de 2016 foram notificados no Brasil 316.088 óbitos (CID10: B20 a B24). A maior proporção destes óbitos ocorreu na região Sudeste (59,6%), seguida das regiões Sul (17,6%), Nordeste (13,0%), Centro-Oeste (5,1%) e Norte (4,7%). Em 2016, a distribuição proporcional dos 12.366 óbitos foi: 42,4% no Sudeste, 21,3% no Nordeste, 19,6% no Sul, 10,2% no Norte e 6,5% no Centro-Oeste (BRASIL, 2017).

O crescente avanço no número de novos casos de infecção pelo HIV e o decorrente aumento no risco de contaminação em hemocomponentes dos hemocentros passou a exigir estratégias de prevenção e triagem mais reforçadas. Nos últimos anos, o Brasil ampliou e disponibilizou as novas formas de diagnóstico do HIV, possibilitando ao paciente a busca pelo tratamento, o que por sua vez, melhora a expectativa e a qualidade de vida desses indivíduos (Ministério da Saúde, 2013).

2.1 Epidemiologia do estado do Rio Grande do Norte (RN)

No período de 2006 a 2016, foram registrados 4388 casos de AIDS em Adultos no RN, de acordo com o cruzamento dos bancos de dados do SINAN (Sistema de Informações de Agravos Notificáveis), SICLOM (Sistema de Controle Logístico de Medicamentos), SIM (Sistema de Informação de Mortalidade) e SIMC (Sistema de Monitoramento Clínico das Pessoas Vivendo com HIV). Desses casos, 69% foram do sexo masculino e 31% do sexo feminino, revelando uma razão de 02 casos em homens para 01 em mulheres. Tudo isso exigiu o desenvolvimento de novos paradigmas de cuidado, convocando os profissionais de saúde para mudanças estratégicas na assistência a pessoa vivendo com HIV/AIDS (Sesap -RN,2016).

Nesse sentido, a vigilância epidemiológica tornou-se mais relevante principalmente em casos de infecção pelo HIV, visando uma melhor compreensão das tendências da epidemia e dos comportamentos que favorecem a disseminação do vírus, além da caracterização das populações mais afetadas com diagnóstico precoce da infecção. Ressalta-se que a notificação compulsória da infecção pelo HIV é muito novo, o que impede uma análise epidemiológica segura com relação às tendências da infecção no Rio Grande do Norte. No período de 2014 a 2016, foram registrados 1423 casos de HIV no estado (Sesap -RN,2016).

A taxa de incidência encontra-se distribuída por Região de Saúde de Residência e ano de notificação. Dos casos notificados nesse período, 64% foram do sexo masculino e 36% do sexo feminino. De acordo com a análise dos dados coletados em 2014 e 2016, observou-se que os maiores percentuais de casos encontram-se na faixa etária de 20 a 29 com 34%, seguida pela de 30 a 39 anos, com 30%. Existem algumas características comportamentais, socioeconômicas e biológicas que fazem com que os jovens sejam um grupo mais propenso a adquirir a infecção pelo HIV. Muitas vezes, a não utilização dos preservativos está relacionada ao abuso de álcool e outras drogas, os quais favorecem a prática do sexo inseguro. Outras vezes os jovens não usam o preservativo quando em relacionamentos estáveis, justificando que seu uso pode gerar desconfiança em relação à fidelidade do parceiro no casal (Sesap -RN,2016;Ministério da Saúde,2016).

3.0 ESTRUTURA DO HIV

O HIV se apresenta como uma partícula ligeiramente esférica, que mede de 100 a 120nm de diâmetro, pertencente ao gênero *Lentivirus* e a família Retroviridae. Apresenta um nucleocapsídeo cilíndrico, com duas cópias de RNA de fita simples, um envelope externo composto por uma bicamada fosfolipídica e contendo glicoproteínas na superfície. São conhecidos dois tipos, o HIV-1 e o HIV-2, cuja classificação é feita por meio da análise filogenética das sequências nucleotídicas dos vírus. Os dois tipos causam a AIDS, contudo, o HIV-1 é o de maior prevalência no mundo (FANALES-BELASIO et al., 2010).

Os dois tipos de vírus surgiram em primatas, a partir do vírus da imunodeficiência símia (SIV), e a infecção em humanos, possivelmente é o resultado da evolução do SIV após adaptar-se aos humanos (YERLY, S. 2012).

Com o decorrer do tempo, nota-se um aumento significativo na complexidade da composição de subtipos virais e formas recombinantes, distribuídas nas diferentes regiões brasileiras. O HIV-1 é subdividido em quatro grupos: grupo M, N, grupo O e grupo P, sendo a maioria das infecções causadas pelo HIV-1 do grupo M, o qual também tem classificação em subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J e K). O subtipo B do HIV-1 do grupo M é o mais prevalente no Brasil, seguido pelo F nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste, contudo na região Sul observa-se um alto índice do subtipo C (LANL, 2017).

Em relação ao HIV-2, são descritos cinco subtipos: A, B, C, D e E. Há possibilidade de variantes virais possuírem diferentes formas de transmissibilidade e índice de patogenicidade, porém o HIV-2 tem um quadro clínico menos virulento que o do HIV-1 (VÉRAS et al., 2011)

Os componentes virais com utilidade diagnóstica incluem as glicoproteínas do envelope viral (gp160, gp120 e gp41), o gene gag codifica a proteína 55 que após o processamento e clivagem dar origem as proteínas p24 que compoem o capsídeo viral p17 que compoem a proteína da matriz e p9 que está associado no RNA genômico e o6 que participa nas interações do vírus com a membrana da célula hospedeira e as proteínas codificadas pelo gene pol (p66, p51, p31) (CHEREPANOV, 2012).

O gene env codifica a glicoproteínas gp160, que após a clivagem resulta em gp120 e gp41, encontradas no envelope viral (figura 01). A gp160 é uma proteína precursora, clivada para formar a gp120 e a gp41, as quais estão envolvidas, respectivamente, na

ligação dos receptores expressos nas células do hospedeiro e na fusão do envelope viral com a membrana celular. O gene pol, codifica as enzimas p66 e p51, que compõem a transcriptase reversa (RT), a qual está envolvida diretamente na replicação do HIV e a integrase p31, que promove a integração do DNA do HIV ao genoma do hospedeiro. (NICOLÁS et al., 2015).

Existe similaridade entre os genomas dos dois vírus, o HIV-2 apresenta os genes gag, pol e env com funções semelhantes às observadas no HIV-1 no entanto, o gene vpx do HIV-2 é substituído pelo vpu do HIV-1. Porém as regiões gag e pol do genoma viral são as que apresentam maior similaridade entre eles (NICOLÁS et al., 2015)

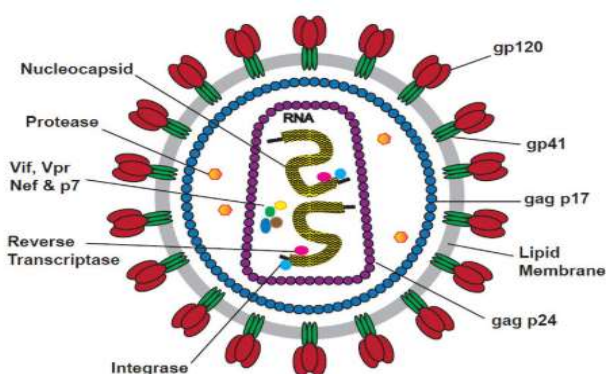


Figura 01: Estrutura do HIV (modificada)
Fonte: DIAHV/SVS/MS.

3.1 TRANSMISSÃO E RESPOSTA IMUNE CONTRA O HIV

A infecção pelo HIV-1 ocorre através do contato com líquidos orgânicos, tais como sêmen, sangue, hemoderivados, ou leite materno de pessoas infectadas. Nas primeiras horas após a infecção, o vírus e as células infectadas ultrapassam as barreiras da mucosa, possibilitando que o vírus se estabeleça no local de entrada e continue infectando linfócitos TCD4+, macrófagos e células dendríticas (MCMICHAEL et al., 2010).

Há ainda, os acidentes ocupacionais os quais envolvem material perfurocortante, como: agulhas, pinças, lâminas de bisturi, fios de sutura ou até laringoscópios. Os quais contendo sangue infectado torna-se um importante fator de transmissão do HIV, entre profissionais da área de saúde (GOMES, 2009).

Após a transmissão do vírus, as manifestações clínicas da infecção aguda pelo HIV surgem em média de 3 semanas, as quais se parecem com uma “gripe simples”, cujos sintomas são febre, fadiga, cefaleia, faringite, náuseas/vômitos, diarreia, e

linfadenomegalias. A infecção inicia-se caracterizada por viremia e resposta imune intensa acompanhada de súbita queda na contagem de células TCD4+ (SALAZAR-GONZALEZ et al., 2009).

A etapa inicial do processo de replicação viral caracteriza-se pela interação da proteína gp120 do envelope do vírion com a proteína CD4+ e da gp41 com os co-receptores de quimiocina CCR5 e CXCR4 da superfície da célula. A partir daí, a gp41 do vírus promove a fusão do envoltório viral com a membrana celular, possibilitando a penetração do vírus na célula. Após a entrada, ocorre o desnudamento do nucleocapsídeo viral e o início da transcrição do RNA genômico em cDNA pela ação da transcriptase reversa, enzima que também duplica a fita de DNA. Após a circularização o DNA viral é transportado para o núcleo da célula, onde se integra ao DNA da célula hospedeira pela ação da enzima integrase, sendo denominado DNA proviral. Após a integração, ocorre a transcrição do DNA proviral, gerando RNAs virais (genômicos e mensageiro). As fitas de RNA são traduzidas gerando as poliproteínas que darão origem às proteínas virais (MCMICHAEL et al., 2010).

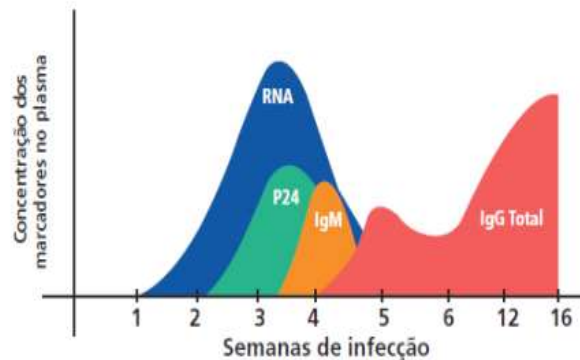
As glicoproteínas do envelope do vírus são agrupadas na membrana celular, Enquanto isso, RNA genômico, enzimas virais, e compostos celulares se associam no nucleocapsídeo imaturo. Mais tarde, este complexo brota através da membrana plasmática produzindo um vírion imaturo. A partir daí, a maturação do HIV será completada pela clivagem das moléculas gag e pol, gerando assim partículas maduras, as quais serão capazes de infectar novas células e continuar o ciclo retroviral. Na fase aguda da infecção, ocorre a janela imunológica, período no qual os testes diagnósticos, não detectam a presença de anticorpos para o HIV. Nesse período a transmissibilidade do HIV é maior, pois a carga viral encontra-se elevada. A resposta de anticorpos é induzida inicialmente contra as glicoproteínas do envelope, a gp120 e a gp41, e contra a proteína do capsídeo viral, a p24 (Fanales-Belasio et al., 2010).

A primeira classe de anticorpo produzida durante uma resposta imune primária é a imunoglobulina M (IgM), seguida da IgG (figura 02) . A IgG anti-HIV encontra-se com padrões elevados, já os níveis de IgM evoluem para o desaparecimento com o tempo ou intermitência (LEVY, J.2003).

Ao longo do processo infeccioso, a avidéz do anticorpo pelo antígeno, é gradativamente aumentada, devido ao fato de ocorrer mutações em algumas regiões dos genes codificadores da imunoglobulina (Ig). Esse aumento de afinidade aliado ao aumento da

concentração de anticorpos específicos anti-HIV na fase inicial da resposta imune humoral, serve de suporte para o desenvolvimento de testes diagnóstico (O'CONNELL, K. A.,2009; MCMICHAEL et al., 2010)

Figura 02: Marcadores do HIV na corrente sanguínea de acordo com o período após infecção.
Fonte: Laboratory diagnostics for HIV infection,2010



Na fase inicial da infecção o vírus tem mais afinidade pelos macrófagos que são menos eficientes para produção de novos vírus, o que faz a infecção progredir lentamente com o tempo. Então ao longo dos anos, o paciente encontra-se na fase de latência clínica, e o vírus vai aumentando a afinidade pelas células TCD4+ que são mais eficientes na produção de novos vírus, neste período não há sintomatologia expressiva embora haja replicação contínua do vírus. Nessa etapa há a indução da resposta imunológica, mas esta é insuficiente para eliminar a infecção. Por outro lado, a resposta imune produz um adicional de linfócitos TCD4+, os quais são úteis como alvo de novas infecções. Concomitantemente há o aumento no número de linfócitos TCD8+, os quais exercem um controle limitado da infecção, mas não são suficientes para erradicá-la. Então, sem o diagnóstico precoce e a consequente terapia antiretroviral, haverá a lenta e progressiva redução do número dos linfócitos TCD4+, concomitante ao aumento da carga viral, nesse quadro há uma tendência do paciente evoluir para a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) (MCMICHAEL et al., 2010; Fanales-Belasio et al., 2010).

4.0 DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO HIV

Desde os primeiros casos relatados da AIDS, logo no início da década de 80, até a identificação do HIV, como agente etiológico dessa síndrome, em 1983, vários pesquisadores procuraram desenvolver métodos laboratoriais capazes de detectar o agente infeccioso, com o objetivo de melhorar a qualidade, acessibilidade e rapidez do diagnóstico precoce da infecção pelo vírus, a fim de iniciar a terapia antiretroviral e assim evitar a progressão da infecção (ALEXANDER, 2016).

Os testes para detecção da infecção pelo HIV são realizados em três situações: para triagem sorológica de doadores de sangue a fim de garantir a segurança transfusional, tanto de hemocomponentes, quanto de órgãos para transplante; para realizar o diagnóstico da infecção pelo HIV e para realização de estudos de vigilância e controle epidemiológico. O diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV em indivíduos com idade superior a 18 meses deve obrigatoriamente ser realizado em duas etapas, uma de triagem e se necessário haverá uma etapa complementar com testes mais complexos (OMS,2015).

O interesse por testes mais sensíveis e específicos promoveu o desenvolvimento de ensaios de diferentes gerações, classificando-os de acordo com antígeno empregado. Desenvolvido em 1985, e amplamente difundido os testes para detecção de anticorpos anti-HIV, basearam-se nos ensaios imunoenzimáticos conhecidos por ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) indireto (ALEXANDER, 2016).

4.1 Imunoensaio

Nas últimas três décadas, foram desenvolvidos imunoensaios classificados em cinco gerações, os quais foram conceituados de acordo com as respectivas metodologias empregadas:

4.1.1 Primeira geração

No ensaio de primeira geração a janela imunológica corresponde a um período de 8-10 semanas. Esse teste é indireto, o qual utiliza antígenos obtidos do lisado viral extraídos a partir de cultura do HIV em linhagens celulares humanas. Os antígenos são utilizados na

fase sólida, os quais irão reagir com anticorpos da amostra do paciente e estas imunoglobulinas irão interagir com um anticorpo complementar marcado com uma enzima, capaz de reagir com um substrato cromogênico (figura 03). Sendo assim, presença de anticorpos IgG anti HIV-1 pode ser evidenciada quando há um produto final colorido, e a intensidade da cor é medida por um espectrofotômetro. Portanto, sabe-se que a intensidade da coloração é proporcional à presença de anticorpos na amostra (GUARNER, 2017).

Essas características tornam os ensaios de primeira geração pouco específicos, com baixa sensibilidade, janela imunológica muito expandida e apenas detectam a presença de IgG. Hoje, esses ensaios não são mais utilizados na rotina dos laboratórios brasileiros (GUARNER, 2017;Ministério da Saúde,2015).

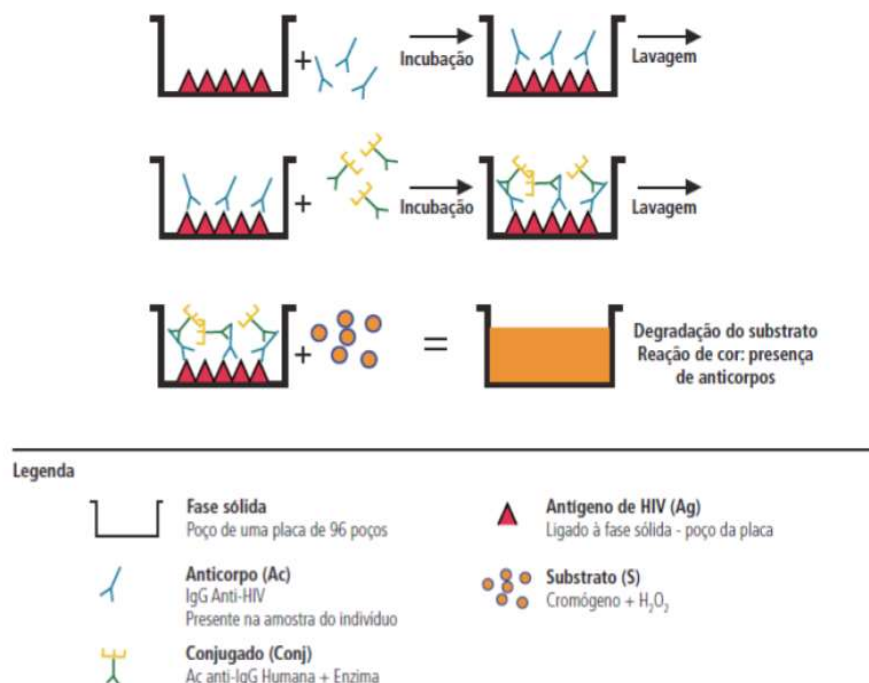


Figura 03: Esquema ilustrativo do imunoenensaio de primeira geração (**modificada**)
Fonte:Ministério da Saúde,2017.

4.1.2 Segunda geração

Em 1987, surgem os testes de segunda geração, também com formato indireto, contudo utilizam antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos derivados de proteínas do HIV. Esse teste foi desenvolvido a partir da detecção de epítomos imunodominantes presentes em algumas moléculas do vírus, as quais são alvos preferenciais da resposta imune humoral. Nesse teste, pode-se verificar que quanto maior o número de epítomos

imunodominantes no ensaio, melhor é a sua sensibilidade. Os testes de segunda geração, caracterizam-se por uma redução da janela imunológica de 4-5 semanas em média e pela detecção de anticorpos IgG anti-HIV-1 e anti-HIV-2, os quais são específicos para os antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos derivados de proteínas do HIV (GUARNER, 2017; ALEXANDER, 2016).

4.1.3 Terceira geração

Em 1991, surge o ensaio de terceira geração com formato de “sanduíche”. Esse método utiliza antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos na fase sólida ou sob a forma de um conjugado, permitindo assim a detecção simultânea anticorpos IgM e IgG anti-HIV. Esse teste diagnóstico baseia-se no fato da IgG ser bivalente e possuir dois sítios de ligação ao antígeno e a IgM ser pentavalente, nesse sentido um desses sítios liga-se ao antígeno adsorvido na fase sólida e os outros Fab ficam livres para ligarem-se aos mesmos antígenos solúveis, sob a forma de conjugado. Assim, o anticorpo fica “entre” dois antígenos e, por essa característica, qualquer classe de imunoglobulina anti-HIV (IgG, IgM, IgA ou IgE) será detectada por essa metodologia (figura 04). Esse teste tornou-se mais sensível, visto que é capaz de detectar anticorpos da classe IgM, reduzindo assim a janela imunológica para aproximadamente três semanas pós-infecção (BARTLETT, 2017).

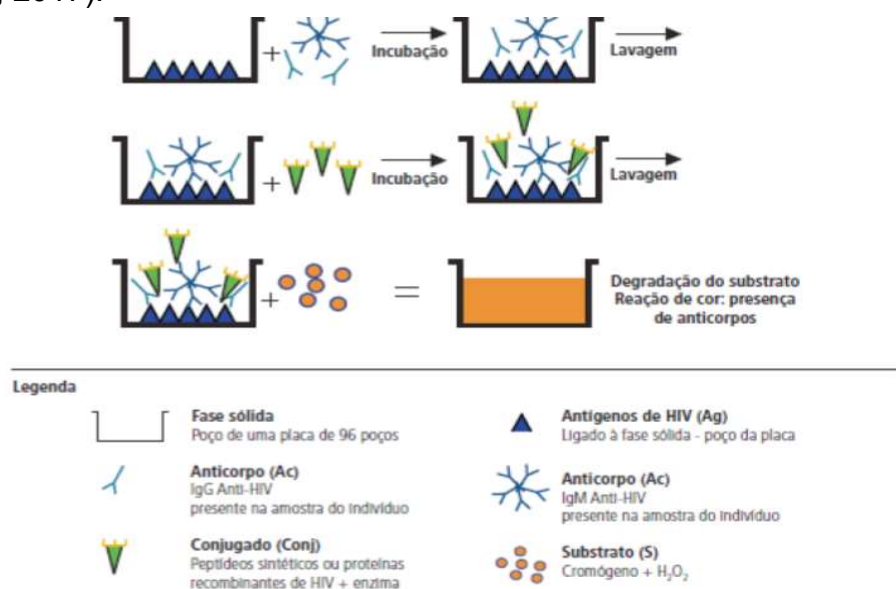


Figura 04: Representação esquemática de um ensaio de terceira geração(modificado).

Fonte:Ministério da Saúde,2010

4.1.4 Quarta geração

Em 1997 foram desenvolvidos os ensaios de quarta geração, os quais combinaram a detecção de anticorpos IgM e IgG anti-HIV-1, HIV-2 e do grupo O, assim como o antígeno p24. Os ensaios de quarta geração melhoraram ainda mais a sensibilidade e especificidade dos testes de HIV, reduzindo assim a janela imunológica para aproximadamente duas semanas. O princípio desse método baseia-se no formato de “sanduíche”; o qual detecta anticorpos contra proteínas recombinantes ou peptídeos sintéticos derivados das glicoproteínas gp41 e gp120/160 (figura 05). Enquanto que para a detecção do antígeno p24, utiliza-se anticorpo monoclonal na fase sólida e um conjugado constituído por um anticorpo poliespecífico contra a proteína p24, ou mesmo outro anticorpo monoclonal contra um segundo epítipo da proteína p24 (BARTLETT, 2017). Embora esse teste consiga detectar simultaneamente tanto o anticorpo como o antígeno, contudo não consegue diferenciar se um resultado positivo foi devido à presença do antígeno p24 do HIV-1 ou devido à presença de anticorpos anti-HIV-1 ou HIV-2 (Thomas S. Alexander, 2016).

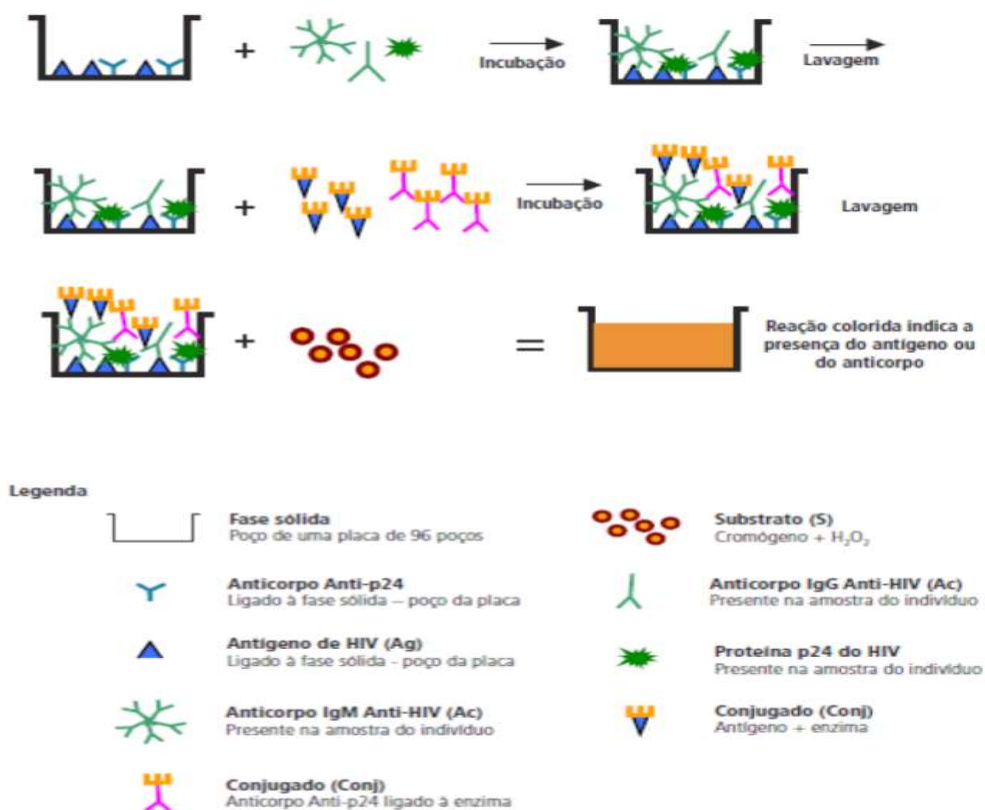


Figura 05: Representação esquemática de um teste de quarta geração(modificada).
Fonte:DIAHV/SVS/MS

4.1.5 Quinta geração

Em 2015, foi aprovado pelo Comitê de Administração de Alimentos e Medicamentos (FDA - Food and Drug Administration) dos Estados Unidos os imunoenaios de quinta geração, os quais são métodos de diagnóstico de análise multiplex. São semelhantes aos testes de quarta geração, porém fornece resultado para cada analito de forma isolada, ou seja, separa os resultados de detecção de IgG e IgM anti HIV-1, HIV-2 e grupo O do antígeno p24. Nesses imunoenaios a sensibilidade é de 100%, enquanto a especificidade é de 99,5% e a janela imunológica compreende um período de duas semanas. Esse ensaio imunoenzimático ainda está aguardando aprovação do CDC (Centro de Prevenção e Controle de Doenças) para entrar no fluxograma de teste diagnóstico para HIV (BOTTONE, 2017; CDC, 2015).

Embora os imunoenaios (IE) sejam sensíveis e específicos, os resultados falso positivos ainda podem acontecer, nesse sentido os testes complementares foram desenvolvidos, a fim de obter um resultado fidedigno. Entre os testes estão incluídos: Western Blot (WB), Imunoblot (IB) e Testes moleculares (PCR ou NAT) (CDC, 2014).

4.2 Western blot (WB)

O WB é uma reação que utiliza antígenos do HIV adsorvidos a uma membrana de nitrocelulose. Nessa reação, as proteínas e glicoproteínas virais são separadas em um gel de poliácridamida, por eletroforese, com base nos seus pesos moleculares e, em seguida são transferidas para uma membrana de nitrocelulose. A esses antígenos virais adiciona-se a amostra, na qual se pesquisa a presença de anticorpos específicos para o HIV. A interação antígeno-anticorpo é revelada pela adição de um conjugado enzimático. Inicialmente, adiciona-se o conjugado 1, que é composto por uma imunoglobulina associada à biotina, em seguida acrescenta-se o conjugado 2 que é de avidina ou estreptavidina ligado a uma enzima e por fim adiciona-se o substrato (4-cloro-1-naftol). Então, a degradação do substrato pela enzima origina um produto insolúvel e corado que permite a visualização sobre a fita (BUTTÒ et al., 2010).

Na fita reveladora (figura 06) se houver ausência de reatividade, ou seja, ausência de bandas, a amostra é considerada não reagente. Porém, se a reatividade em pelo menos duas das proteínas gp41, p24, gp120, gp160 acontecer, a amostra é positiva para o HIV. Contudo, há amostras indeterminadas, quando há presença da reação em qualquer um

dos padrões diferentes dos que conferem positividade a amostra (BUTTÒ et al., 2010). Portanto, é um teste diagnóstico de custo elevado e requer mão de obra especializada para realizar a leitura do teste.

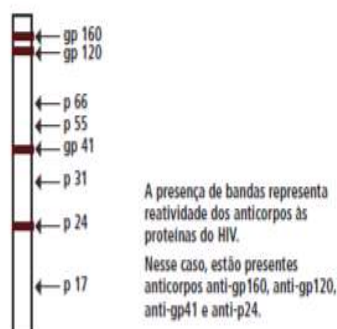


Figura 06: Representação esquemática de uma fita de Western-blot(modificada)
Fonte: DIAHV/SVS/MS.

4.3 Imunoblot(IB)

O teste de imunoblot (IB) é semelhante ao Western-Blot (WB), diferencia-se apenas em relação as proteínas recombinantes ou aos peptídeos sintéticos que são impregnados diretamente em membranas. Porém, a leitura do exame é a mesma. Há ainda o Imunoblot rápido, o qual é um teste com a metodologia DPP (Plataforma de migração dupla). Em sua fase sólida utiliza-se uma membrana de nitrocelulose, na qual estão ligados antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos do HIV-1 (grupo O) e HIV-2, e serão revelados em linhas diferentes. Caso tenha anticorpos na amostra eles se ligarão aos antígenos previamente fixados e em seguida esse conjugado se ligará aos anticorpos. Estas ligações serão visualizadas na forma de linhas avermelhadas indicando a positividade ou não da amostra (HIRSCHEL, 2012).

4.4 Imunofluorescência indireta

Alguns laboratórios preferem utilizar a imunofluorescência indireta (If) como um teste confirmatório, pois é um método rápido e prático de ser realizado, porém requer subjetividade e conhecimento hábil na leitura. Contudo, é necessário no laboratório, um microscópio de fluorescência, capitalizando ainda mais o método, assim como é necessário, uma alta seleção na escolha das lâminas utilizadas nos testes, as quais devem conter células infectadas pelo HIV-1 (BARTLETT, 2017).

O teste configura-se quando a amostra (soro ou plasma) é colocada sobre o antígeno e, em seguida incubada para formar o complexo antígeno-anticorpo. Após lavagens da lâmina, esta é incubada com um conjugado fluorescente e caso contenha o anticorpo na amostra reage especificamente para o antígeno e essa reação é mostrada por meio do microscópio de fluorescência (BUTTÒ et al., 2010).

4.4 Testes moleculares

A ascensão dos testes moleculares no mercado resultou que os testes complementares que detectam anticorpos (WB, IB, IBR) não sejam considerados os mais adequados para confirmar a infecção recente. E sim, através do TM que é capaz de quantificar o RNA viral (carga viral – CV) e p24 circulantes. Contudo, ainda é extremamente caro comparado aos outros testes. Sendo mais indicado para crianças entre 2 a 24 meses de idade, na possibilidade de ter sido infectado por transmissão vertical. Visto que, nenhum outro teste é capaz de identificar a CV existente nesse paciente, pois as crianças nascem com anticorpos de transferência passiva, levando a resultados sorológicos refutáveis e não poderia ser utilizada para a efetivação de diagnóstico (ROSENBERG et al., 2015).

Dentre os testes moleculares, o que tem mais destaque é sobretudo a técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction – Reação em cadeia da Polimerase) a qual se baseia na amplificação in vitro usada para aumentar o número de cópias de uma região do DNA, com o objetivo de produzir DNA suficiente para ser analisado e possibilitar um diagnóstico (YERLY, S, 2012).

Ainda há o NAT (Teste de Ácido Nucléico), que apresenta boa sensibilidade e permite a detecção de antígenos em amostras positivas para HIV dentro de um período de janela imunológica. Neste é utilizada a técnica de PCR em tempo real para a detecção do vírus, principalmente utilizada em amostras de doadores de sangue nos grandes hemocentros (Lima, 2011).

5.0 TESTES RÁPIDOS

Nos bancos de sangue o grande volume de amostras para testagem exigem testes diagnóstico sorológicos com sensibilidade e especificidade que permitam a diminuição do tempo da janela imunológica para o resultado aliado ao baixo custo. Decorrente disso houve uma impulsão para o desenvolvimento de testes de triagem nos hemocentros,

então em 1987 surgem os testes rápidos os quais seguem evoluindo e tem sido amplamente utilizados no mundo atual (PEELING; MABEY, 2010).

Atualmente a grande utilidade dos testes rápidos encontra-se em algumas situações, bem como onde existe a necessidade de avaliar-se e decidir rapidamente sobre a utilização da profilaxia medicamentosa a ser usada no combate à infecção pelo HIV. Então o uso de teste rápido na triagem dos hemocentros se tornou obsoleto, visto que, o volume diário de amostras é muito alto, nesse sentido a utilização de outros métodos, como o ELISA, IB, WB é mais viável (MILLIPORE, 2013).

Os Testes Rápidos (TR's) utilizados para diagnóstico da infecção pelo HIV estão cada vez mais desenvolvidos e facilmente disponíveis no mercado. É realizado prioritariamente em regiões onde o acesso à infraestrutura laboratorial é deficiente, na entrada de parturientes nas maternidades (mesmo naquelas que fizeram o pré-natal), acidente de trabalho com material perfurocortante, no Centro de Testagem e Aconselhamento – CTA, segmentos populacionais mais vulneráveis, além de outras situações mais específicas, mas que têm necessidade de obter resultados rapidamente (Miller, 2010).

Atualmente, os TR's disponíveis no mercado, utilizam sangue total, plasma, soro, fluido oral e até mesmo urina. Sendo estes dois últimos, ainda não validados pelo Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais/Ministério da Saúde, devido ao longo tempo da janela imunológica, em relação às demais amostras (MOTTA, L. 2013).

Com sensibilidade entre 99,8 - 100%, semelhante aos testes sorológicos, os testes rápidos vêm sendo cada vez mais utilizados para a detecção de anticorpos anti-HIV. Isso se deve, principalmente, a facilidade e rapidez na leitura do resultado, o qual não se faz necessário equipamento específico para o mesmo (WERSOM, 2013; FIOTEC, 2014).

Há várias metodologias das técnicas de funcionamento dos testes rápidos, sendo os mais utilizados: imunocromatografia ou fluxo lateral (lateral flow), a imunocromatografia de dupla migração (DPP - dual path platform), imunoconcentração (flow through), aglutinação e fase sólida (GREENWALD, J.L 2006).

5.1 Imunocromatografia /Fluxo Lateral

Utilizada para o diagnóstico do HIV, esse teste é facilmente adaptado para uso em domicílio ou em regiões onde não há acesso a recursos tecnológicos ou conhecimento de profissionais. Esse procedimento possibilita também a análise de grandes volumes de amostras com resultados rápidos e com alta sensibilidade (KARAKUS & SALIH, 2013).

A técnica se baseia na adição da amostra na região analítica de uma membrana de nitrocelulose, a qual deve conter reagentes de captura na linha teste e na linha controle. Nesse procedimento, a solução tampão é colocada sobre a amostra, permitindo um fluxo regular do analito através da membrana. Nesse processo, os anticorpos presentes na amostra migram pela área onde contém o conjugado, que geralmente é composto de ouro coloidal ligado a anticorpos anti-HIV. Ao interagirem com o conjugado, os anticorpos prosseguem em direção à área onde contêm os antígenos fixados à membrana de nitrocelulose, e esse complexo anticorpo-conjugado se liga aos antígenos do vírus, formando uma linha colorida (figura 07), a qual define a positividade do teste. Por fim, o conjugado não ligado ao antígeno e o excesso do complexo imune continua a migração ao longo da membrana de nitrocelulose em direção a linha controle onde são capturados por anticorpos anti-imunoglobulina, formando outra linha colorida, validando dessa forma o teste (WANG et al., 2014).



Figura 07: Representação esquemática da Imunocromatografia.
Fonte: Teste Rápido - HIV-1/2 - Bio-Manguinhos ,2016(modificada).

5.2 Imunocromatografia de dupla migração

A imunocromatografia de dupla migração, semelhante ao de fluxo lateral, trata-se de uma análise qualitativa, rápida, econômica e de fácil interpretação. Apresenta sensibilidade e especificidade semelhante ao ELISA de terceira geração. A técnica utilizada consiste de uma membrana de nitrocelulose, na qual estão ligados os antígenos recombinantes gp120 e gp41 e p24 do HIV-1 e gp36 do HIV-2, conjugados com ouro coloidal. Nesse cassete é adicionada a amostra e o tampão e, caso haja a presença de anticorpos, estes se ligarão a aos seus respectivos antígenos previamente fixados na membrana. Esse teste permite diferenciar os anticorpos das classes IgG e IgM anti-HIV-1(incluindo grupo O),anti-HIV-2 e os antígenos p24 (DRYGIN.Y ,2012;AGUILAR, Z. 2013).

A fim de revelar essa reação, o tampão é novamente adicionado na membrana de nitrocelulose,o que permite a migração perpendicular do conjugado,composto por proteína

A e partículas de ouro coloidal. Nesse fluxo, a proteína A liga-se às imunoglobulinas que já estavam ligados aos antígenos fixados na membrana. Com a concentração do ouro coloidal nesta área, é possível visualizar a presença de uma linha (figura 08) que indica a positividade do teste para HIV 1 e/ou 2 (BRANSON, B. M. 2003).

Mediante a ausência de anticorpos anti-HIV-1 ou anti-HIV-2 na amostra, não haverá uma faixa vermelha na área do teste, mas o conjugado de ouro e antígenos, continuará a migrar até ao limite da área de controle, onde será capturado para produzir uma faixa vermelha indicando a validade do teste (GARCIA,2013).



Figura 08:Representação esquemática dos possíveis resultados da Imunocromatografia de dupla migração.
Fonte:Manual do Ministério da Saúde/DST,2015(modificada).

5.3 Imunoconcentração

O teste tem por base uma membrana de nitrocelulose (figura 09) ou de nylon na qual estão imobilizados os antígenos de HIV-1 e de HIV-2, além disso, há uma membrana absorvente, que está sob a primeira membrana e um conjugado composto de proteína A conjugada com ouro coloidal (GARCIA,2013).

A amostra é colocada sobre a membrana de nitrocelulose e que ao passar pela área onde estão imobilizados os antígenos de HIV, os anticorpos específicos da amostra, se ligarão formando um complexo antígeno-anticorpo. Em seguida, adiciona-se o conjugado e a proteína A se ligará aos anticorpos anti-HIV do complexo e a concentração do ouro coloidal permitirá a visualização de um ponto colorido(figura 10). A reação será válida se houver o aparecimento de um ponto colorido na área de controle (BRANSON, B. M. 2003).

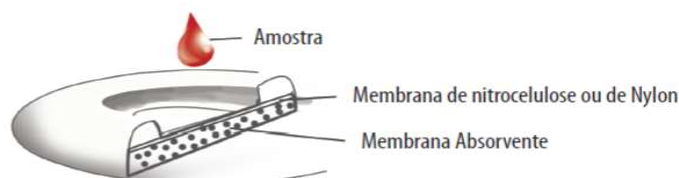


Figura 09:Representação interna e externa de um dispositivo para o teste por Imunoconcentração .
Fonte:Manual do Ministério da Saúde/DST,2015(modificada).



Figura 10: Representação esquemática dos possíveis resultados para o teste por Imunoconcentração .

Fonte: Manual do Ministério da Saúde/DST, 2015(modificada).

5.4 Aglutinação

O teste rápido de aglutinação é de fácil execução, leitura, de baixo custo, apresenta boa especificidade, porém baixa sensibilidade e pouca estabilidade Ag-Ac. Essa técnica utiliza partículas em suspensão como, por exemplo, gelatina, látex ou poliestireno, revestidos com antígenos de HIV-1 e de HIV-2. É caracterizada pela formação de agregados visíveis como resultado da interação de anticorpos específicos se existentes na amostra e partículas insolúveis que contém determinantes antigênicos na sua superfície (WANG et al., 2014)

Contudo, a interpretação dos testes rápidos por aglutinação apresenta maior grau de dificuldade, em relação a outras metodologias, devido ao padrão de reatividade apresentado por amostras fracamente reagentes ser muito similar ao padrão apresentado por amostras não reagentes (BRANSON, B. M. 2003).

5.5 Fase Sólida

O método de fase sólida é um teste rápido que tem por base o princípio metodológico de um ensaio de ELISA indireto. Neste método, a tecnologia utilizada desenvolveu-se a partir da detecção de IgG anti-antígenos obtidos de um lisado viral, caracterizando-o como teste de primeira geração. Esse teste evoluiu para o de segunda geração, que utilizava antígenos e peptídeos sintéticos e/ou recombinantes, seguido pelo teste de terceira geração que detecta todos os isotipos do anticorpo e chegou finalmente aos ensaios de terceira geração, os quais detectam o grupo O do HIV-1. Enfim, os ensaios de quarta geração permitem uma redução significativa do tempo da janela imunológica, período decorrido entre a infecção inicial e o diagnóstico. Estudos comparam testes de terceira e quarta geração e evidenciam que, em média, os últimos ensaios reduziram a janela imunológica em relação ao de terceira em 2 a 4 dias (GREENWALD, J.L 2006).

O teste por fase sólida se apresenta na forma de um “cartela” com 12 dentes (figura 11), onde cada um dos espaços contém: uma área com anticorpos anti-imunoglobulina humana (controle); área com antígenos de HIV-1 e uma área com antígenos de HIV-2 (AGUILAR, Z. 2013).

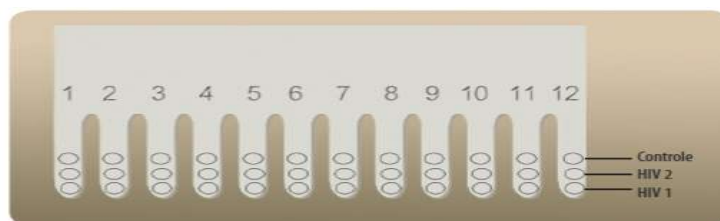


Figura 11 :Representação de um dispositivo para o teste por Fase sólida.
Fonte:Manual do Ministério da Saúde/DST,2015(modificada).

O dente do pente é colocado em um recipiente que contém a amostra,então os anticorpos da amostra se ligarão às anti-imunoglobulinas da área de controle e formarão um complexo. Se estiverem presentes os anticorpos anti-HIV-1 e anti- HIV-2 se ligarão, respectivamente, às áreas contendo os antígenos de HIV-1 e de HIV-2, os quais formarão um complexo. Em seguida, o pente é colocado em outro recipiente que contém o conjugado (anti-imunoglobulina conjugada com uma enzima) e haverá a ligação deste com os complexos formados na etapa anterior. Numa etapa seguinte, o pente é colocado em um terceiro recipiente que contém o substrato (cromógeno + H₂O₂). A presença dos anticorpos será revelada pela formação de pontos coloridos(figura 12) na área do controle e nas áreas que contêm anticorpos anti-HIV-1 ou anti HIV-2 (WANG et al., 2014).

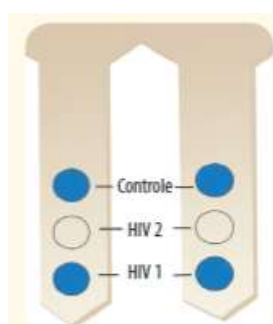


Figura 12:Representação de um dispositivo para o teste por Fase sólida,positivo para HIV-1.
Fonte:Manual do Ministério da Saúde/DST,2015(modificada)

Sabendo que os TR's são desenvolvidos para detectar anticorpos anti-HIV em no máximo 30 minutos, os dispositivos são desenvolvidos a fim de acelerar a interação antígeno - anticorpo. Nesse sentido, utiliza-se uma maior concentração de antígeno e para a detecção de complexo antígeno – anticorpo, emprega-se reagentes sensíveis à

cor, como o ouro coloidal (GARCIA,2013).

A leitura do resultado do teste rápido deve seguir obrigatoriamente as instruções específicas de cada kit. Sempre respeitando os tempos mínimo e máximo definidos pelo fabricante, a fim de efetivar a leitura de reação e emissão de laudo do teste. Pois, caso não seja respeitado esse tempo o resultado poderá ser não confiável, uma vez que, se for lido antes do tempo poderá gerar um resultado falso negativo ou inválido e se for superior ao recomendado, pode induzir a resultados falso-positivos (GUARNER,2017).

De acordo com a Portaria Nº 34/SVS/MS 29/07/2005, os testes rápidos foram regulamentados para o diagnóstico da infecção pelo HIV no Brasil, inicialmente foi aprovado para locais de difícil acesso, como na região norte. Contudo, em seguida, foi expandido para os CTA's (Centros de Testagem e Aconselhamento) e a rede cegonha nas maternidades de todo o país. Apenas em casos de dúvida nos resultados do teste rápido é que deve ser realizado um teste considerado confirmatório (MOTTA et al., 2013; Ministério da Saúde, 2013)

A utilização dos testes rápidos para o diagnóstico da infecção pelo HIV está regulamentada por meio da Portaria SVS/MS Nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Além disso, foi desenvolvida uma metodologia para finalizar o diagnóstico do HIV, na qual se realiza dois testes rápidos sequenciais, os quais configuram um valor de sensibilidade e especificidade igualmente ao de um teste confirmatório, como o WB ou IFI. Nesse sentido, faz-se necessário a utilização de um fluxograma para os testes diagnóstico, a fim de esclarecer o resultado inicial (Ministério da Saúde, 2013).

As instituições de saúde públicas ou privadas de acordo com a Portaria SVS/MS nº 151 de 14/10/2009 utilizam o Fluxograma Mínimo para o Diagnóstico Laboratorial da Infecção pelo HIV em indivíduos com idade acima de 18 meses (figura 13). Seguidos pelas etapas I e II, sempre que um teste for reagente, em qualquer metodologia, o resultado deverá ser confirmado por um segundo teste (Ministério da Saúde, 2013).

Resultados reagentes nas etapas I e II

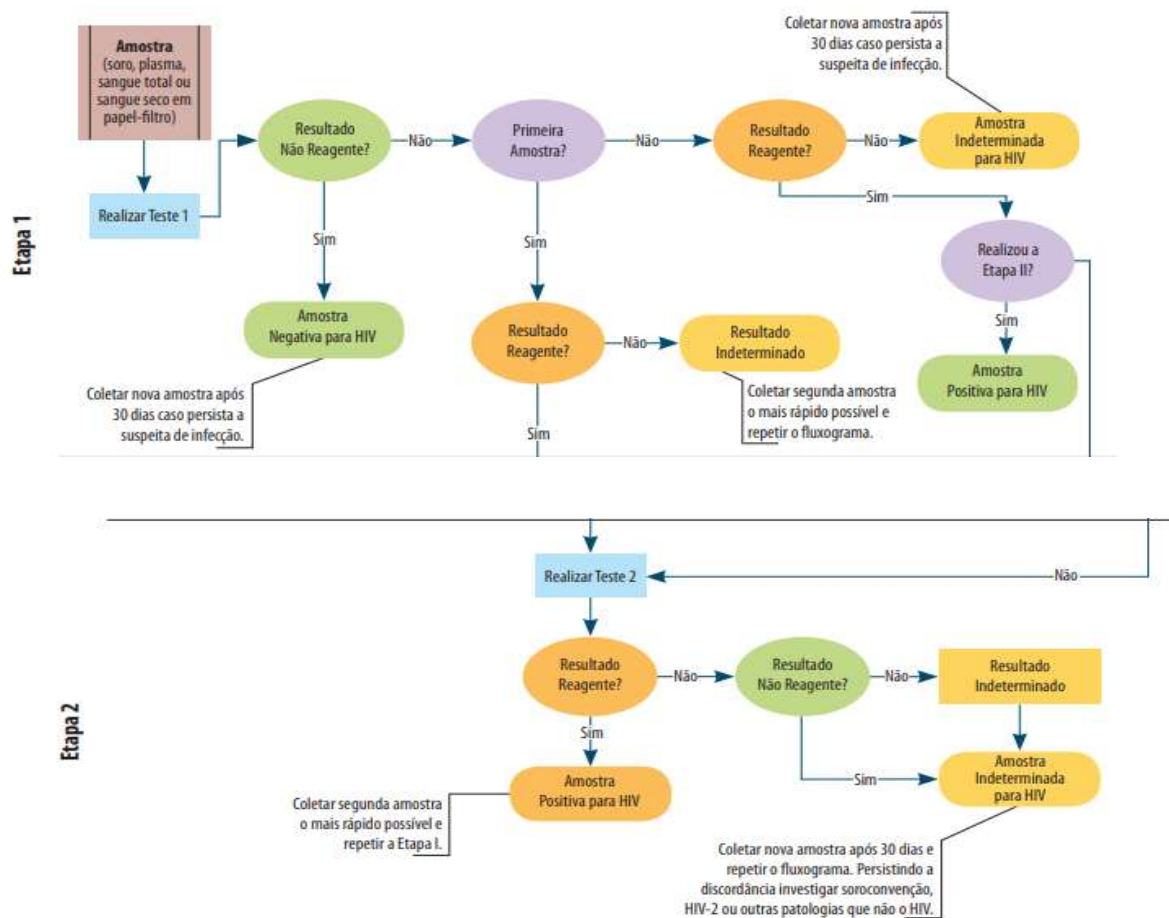


Figura 13: Fluxograma para diagnóstico em maiores de 18 meses, preconizado pelo Ministério da Saúde. **Fonte:** Manual do Ministério da Saúde/DST, 2009 (modificada)

Outros tipos de fluxogramas são utilizados para o diagnóstico em situações especiais (figura 14), tais como acidentes com perfurocortantes contaminados ou no caso das parturientes, mesmo que já tenham realizado o teste durante o pré-natal. Neste caso, o Ministério da Saúde preconiza que seja repetido no momento do parto, visto que anteriormente a mãe poderia estar em um período de janela imunológica, o que colocaria o feto sob risco da transmissão vertical (SHIMA-SANO, 2010; CHAO, T. T. et al. 2012; Ministério da Saúde, 2013).

Além disso, o índice de transmissão vertical é responsável por mais de 90% dos casos em crianças notificados de AIDS. Isso se dá entre outros motivos, a baixa adesão ao pré-natal, principalmente pelas gestantes mais vulneráveis à infecção (CAPPELLO, J. M. et al. 2013; Ministério da Saúde, 2013).

Fluxograma para diagnóstico rápido da infecção pelo HIV em situações especiais

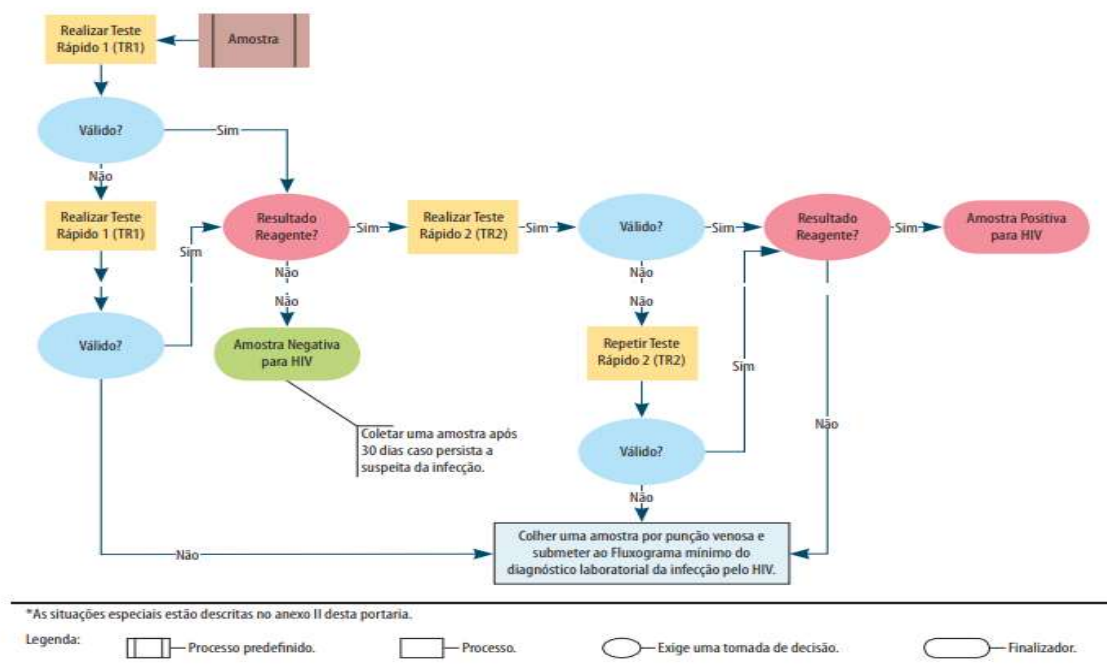


Figura 14: Fluxograma para diagnóstico em situações especiais, preconizado pelo Ministério da Saúde.
Fonte: Manual do Ministério da Saúde/DST, 2009 (modificada)

É importante salientar, que o MS atualiza e aperfeiçoa periodicamente o algoritmo-fluxograma de testagem para o diagnóstico da infecção pelo HIV, o que permite analisar os melhores kits, optando por aqueles de melhor sensibilidade e especificidade. Além disso, possibilita a escolha de metodologias mais modernas, ampliando assim, as opções de testagem e reduzindo a quantidade de etapas necessárias para finalizar este processo sem perda da confiabilidade do diagnóstico (CAPPELLO, J. M. et al., 2013; Ministério da Saúde, 2013).

Atualmente, no Brasil as principais distribuidoras dos testes rápidos para o departamento DST, AIDS e Hepatites Virais do Ministério da Saúde são: TR DPP HIV 1/2- Bio-Manguinhos, Rapid Check HIV 1 e 2, Determine HIV – 1/2, Uni-Gold HIV, HIV 1/2 Colloidal Gold, BD Check HIV Multi-test, Vikia HIV1/2, HIV Bioeasy SD, TR DPP HIV 1/2 Fluido Oral (FO) – Bio-Manguinhos e HIV 1/2 ABON – Biopharma. A maioria desses testes é de terceira e de quarta geração (Ministério da Saúde, 2015).

Ainda não há teste rápido que disponha, simultaneamente, de 100% de sensibilidade e de especificidade. Por isso, o ideal para o diagnóstico através dos TR's é seguir o algoritmo do MS, realizando no mínimo dois tipos de testes provenientes de diferentes

fabricantes. Esse protocolo se faz necessário, a fim de evitar equívocos no diagnóstico, pois tanto os resultados falso-positivos quanto os falso-negativos podem gerar grande impacto no psicossocial do paciente (CHAO, T.2012; Ministério da Saúde, 2013).

Ao descobrir a positividade do diagnóstico, dependendo da estrutura emocional do indivíduo, aquele momento torna-se de profundo desconsolo e uma busca mental para saber de quem teria adquirido o vírus. Há uma intenção natural de culpabilizar o outro por não aceitar o diagnóstico. Sob forte impacto na vida do paciente, o diagnóstico positivo assusta, devido, principalmente, ao enfretamento do tratamento da patologia, que é desconhecido por muitos, além da problemática social em relação ao preconceito e estigma, os quais provocam alterações nas relações sociais, bem como o abandono de parceiros/familiares levando ao desenvolvimento de distúrbios como a depressão (OMS,2004;Zhang S. 2015).

O resultado positivo para o HIV deve ser informado ao paciente em um espaço específico, de forma discreta e individual, pois não se conhece a reação comportamental do indivíduo. Esta confidencialidade deve ser garantida, visto que a infecção pelo HIV ameaça integralmente a saúde do indivíduo, além do que o deixa dentro de uma realidade negativa e sem perspectivas (Faustino,2010).

Sendo assim, com o objetivo de mitigar o sofrimento dos pacientes portadores do HIV, o Ministério da Saúde desenvolve estratégias de enfrentamento, porém, muitas vezes não são adotadas devido as diferenças sociodemográficas, sociais e culturais. Nestes casos, verifica-se que muitos pacientes preferem não ter conhecimento sobre a doença por apresentarem medo, o que prejudica seu prognóstico, além de aumentar o risco de transmitir o vírus para mais pessoas. Para tentar transpor essas barreiras, o Ministério da Saúde criou o Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA), o qual é de fundamental importância para o diagnóstico precoce do HIV, em brasileiros com maior exposição e vulnerabilidade ao vírus. Além de aconselhar e ajudar aqueles com maior deficiência social (Ministério da Saúde,2011;CHAO, T. 2012).

Criados no final da década de 90, os CTA's são centros onde são realizados testes rápidos, aconselhamentos, ajuda psicossocial e disponibilização de terapia antiretroviral(TARV) para o paciente de forma individualizada e sigilosa, reduzindo o sofrimento psicológico dos mesmos, visto que se baseia em uma forma mais humanizada de olhar para a doença (Wright,2012).

CONCLUSÃO

O surgimento do primeiro teste sorológico anti-HIV, classificado como de primeira geração, proporcionou maior segurança aos bancos de sangue, contudo o período da janela imunológica era extenso. Ao longo dos anos houve uma grande evolução no desenvolvimento de diferentes métodos diagnósticos, bem como houve uma otimização desses testes no sentido de reduzir a janela imunológica para um período de apenas duas semanas. Além disso, o surgimento dos testes rápidos conferiu vantagens significativas na gestão do tempo, aliado a alta sensibilidade, redução do custo, facilidade de execução, sem haver necessidade de uma infraestrutura laboratorial. Nesse sentido, o Ministério da Saúde disponibiliza esses testes rápidos na rede pública proporcionando para a população o acesso ao seu diagnóstico. Contudo, ainda há um grande número de portadores do HIV que desconhece seu estado sorológico, contribuindo assim para a disseminação da doença. Dado o crescimento do número de casos de AIDS, torna-se urgente a realização de campanhas que possam promover uma sensibilização dos indivíduos no sentido de conscientizá-los quanto a importância da realização do teste.

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.
- BOTTONE, P. D.; BARTLETT, A. H. Diagnosing Acute HIV Infection. *Pediatr Ann*, [S.l.], v. 46, n. 2, p. e47-e50, fev. 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. HIV: Estratégias para Diagnóstico no Brasil. Brasília, 2010a. 82 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico HIV/Aids 2016. *Boletim Epidemiológico*. v.8, n.1, 2017. Disponível em BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico HIV/Aids 2016. *Boletim Epidemiológico*. v.8, n.1, 2017.
- BUTTÒ, S. et al. Laboratory diagnostics for HIV infection. *Ann Ist Super Sanita*, [S.l.], v.46, n. 1, p. 24-33, 2010.
- 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: . Acesso em: 25 julho 2018.
- DORNELAS NETO, J. et al. Doenças sexualmente transmissíveis em idosos: uma revisão sistemática. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 20, n. 12, p. 3853-3864, 2015.
- 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.
- FANALES-BELASIO, E. et al. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: abrief overview. *Ann Ist Super Sanita*, [S.l.], v. 46, n. 1, p. 5-14, 2010.
- Faustino, Q. M., & Seidl, E. M. F. (2010). Intervenção cognitivo-comportamental e adesão ao tratamento de pessoas vivendo com HIV/Aids. *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, 26(1), 121-130.
- GREENWALD, J.L.; BURSTEIN G.R.; PINCUS J.; BRANSON B. A Rapid Review of Rapid HIV. *Current Infectious Disease Reports*; 8:125-131, 2006
- GUARNER, J. Human immunodeficiency virus: Diagnostic approach. *Semin Diagn Pathol*, [S.l.], v. 34, n. 4, p. 318-324, jul. 2017.
- 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.

LANL (LOS ALAMOS NATIONAL LABORATORY). HIV Sequence database: HIV and SIVnomenclature [On-line]. Última atualização: 8 ago. 2017. Disponível em: <<https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HelpDocs/subtypes-more.html>>. Acesso em: 12 de outubro de 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.

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.

MILLIPORE. Rapid Lateral Flow Test Strips, Considerations for product development. Darmstadt, 36p, 2013.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico DST/Aids 2013. Brasília, DF, 2013a. Disponível em: . Acesso em: 03 junho 2018.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST/AIDS e Hepatites Virais. Boletim Epidemiológico Aids e DST. Ano III, nº1, 27a a 52a semanas epidemiológicas – julho a dezembro de 2013, 01a a 26a semanas epidemiológicas – janeiro a junho de 2014. Brasília, 2014.

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.

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.

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.

OMS – ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Guidelines for use in HIV testing and counselling services in resource-constrained settings. Geneva, 50p. 2004.

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.

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.

SALAZAR-GONZALEZ, J. F. et al. Genetic identity, biological phenotype, and evolutionary pathways of transmitted/founder viruse in acute and early HIV-1 infection. *J Exp Med*, [S.l.], v. 206, n. 6, p. 1273-89, jun. 2009.

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 outubro 2018.

YERLY, S.; HIRSCHL, B. Diagnosing acute HIV infection. *Expert Rev Anti Infect Ther*, [S.l.], v. 10, n. 1, p. 31-41, jan. 2012.

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.

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

CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Current Trends Update on Acquired Immuno Deficiency Syndrome. In: *Morbidity and Mortality Weekly Report*. Disponível em: <http://www.cdc.gov/hiv/default.htm>. Acesso em: 20 agos. 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. ISSN2090-2735. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21860798>>. Acesso em: 02 outubro 2018.

DRYGIN, Y.F. BLINTSOV, A.N. GRIGORENKO, V.G. ANDREEVA, I.P. OSIPOV, A.P. VARITZEV, Y.A. USKOV, A.I. KRAVCHENKO, D.V. ATABEKOV, J.G. Highly sensitive field test lateral flow immunodiagnostics of PVX infection. *Applied Microbiology and Biotechnology*. v.1, p.179-189, 2012.

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.

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

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.

GUARNER, J. Human immunodeficiency virus: Diagnostic approach. *Semin Diagn Pathol*, [S.l.], v. 34, n. 4, p. 318-324, jul. 2017.

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.

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.

OMS (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE). Consolidated Guidelines on HIV Testing Services. 5Cs: Consent, Confidentiality, Counselling, Correct Results and Connection. Geneva: WHO Press, 2015.

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.

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.

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

WERSOM, E.S.S. MOTTA, L.R. BAZZO, M.L. FRANCHINI, M. JUNIOR, O.C.F. Manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo HIV. Brasília: Ministério da Saúde. 56P, 2013.

Wright, J. H., Sudak, D. M., Turkington, D., & Thase, M. E. (2012). *Terapia cognitivo-comportamental de alto rendimento para sessões breves: Guia ilustrado*. Porto Alegre: Artmed.

Zhang S, Rust G, Cardarelli K, Felizzola J, Fransua M, Stringer HGJR. Adherence to highly active antiretroviral therapy impact on clinical and economic outcomes for medicaid enrollees with human immunodeficiency virus and hepatitis C coinfection. *AIDS Care*. 2015 .