

## **Diagnóstico Sorológico da Infecção pelo HIV (Comentários sobre a Portaria nº 488/98 do Ministério da Saúde)**

Unidade de Laboratório e Unidade de Assistência

A fim de maximizar o grau de confiabilidade na emissão dos laudos, bem como minimizar a ocorrência dos resultados falso-negativos ou falso-positivos, o Ministério da Saúde, através da Portaria n.º 488, de 17 de junho de 1998, estabelece a obrigatoriedade de um conjunto de procedimentos seqüenciados para os testes que visam detectar anticorpos anti-HIV em indivíduos com idade acima de 2 (dois) anos (ver fluxograma adiante).

Ao chegar em um laboratório, com uma solicitação de teste anti-HIV, o indivíduo tem sua amostra de sangue coletada. Após a coleta, esta amostra é centrifugada, para a obtenção do soro ou plasma que será utilizado nos testes.

A amostra de soro ou plasma, deve ser inicialmente submetida à primeira etapa do conjunto de procedimentos seqüenciados obrigatórios previstos na Portaria, denominada etapa de triagem sorológica.

Nesta etapa, a amostra deve ser submetida a 2 testes distintos, em paralelo. Esses 2 testes, denominados teste 1 e teste 2, devem possuir princípios metodológicos e/ou antígenos diferentes e, pelo menos um deles, deve ser capaz de detectar anticorpos anti-HIV-1 e anti-HIV-2. Além disso, todos os conjuntos de diagnóstico (kits) utilizados para a realização dos testes devem estar registrados no Ministério da Saúde.

Após a realização da etapa de triagem sorológica, podemos encontrar 3 situações:

1. Caso a amostra apresente resultados não reagentes nos testes 1 e 2, terá seu resultado definido como "Amostra negativa para HIV". Neste caso, o resultado é liberado para o paciente.
2. Caso a amostra apresente resultados reagentes nos testes 1 e 2, deverá ser submetida à etapa de confirmação sorológica prevista na Portaria.
3. Caso a amostra apresente resultados discordantes ou indeterminados nos testes 1 e 2, deverá ser retestada em duplicata, com os mesmos conjuntos de diagnóstico (1 e 2).

Após a retestagem em duplicata, podemos encontrar 2 situações:

1. Caso a amostra apresente resultados não reagentes nos dois testes, terá seu resultado definido como "Amostra negativa para HIV". Neste caso, o resultado é liberado para o paciente.
2. Caso a amostra possua resultados reagentes, discordantes ou indeterminados nos dois testes, deve ser submetida à etapa de confirmação sorológica.

A seguir vem a etapa de confirmação sorológica. Esta etapa deve ser realizada em amostras que apresentarem resultados que necessitem de confirmação. Neste caso, o Ministério da Saúde preconiza a realização dos testes de Imunofluorescência Indireta (IFI) e/ou Western Blot (WB).

Na maioria dos casos, amostras que necessitem ter seu resultado confirmado, são elucidadas através do teste de IFI. Em alguns casos, além deste, é necessária a realização do teste WB.

Recapitulando, após a realização da etapa de triagem, podemos ter 2 situações em que há necessidade de confirmação do resultado:

1. amostras que possuam resultados reagentes nos testes 1 e 2, e;
2. amostras que possuam resultados discordantes ou indeterminados nos testes 1 e 2.

Uma vez realizado o teste de IFI, podemos encontrar duas situações distintas:

1. amostra com resultado reagente no teste de IFI, terá seu resultado definido como "Amostra positiva para HIV-1". Neste caso, é obrigatória a coleta de uma nova amostra para confirmação da positividade da primeira amostra.
2. amostra com resultado indeterminado ou negativo no teste de IFI, devem ser submetidas ao teste de WB.

Após a realização do teste de WB, podemos encontrar as seguintes situações:

1. amostra reagente no teste de WB, terá seu resultado definido como "Amostra positiva para HIV-1". Neste caso, é obrigatória a coleta de uma nova amostra para confirmação da positividade da primeira amostra.
2. amostra indeterminada, terá seu resultado definido como "Amostra indeterminada para HIV-1". Neste caso, deverá ser submetida à investigação de anticorpos anti-HIV2. Recomenda-se, ainda, a coleta de nova amostra após 30 dias e a repetição de todo o conjunto de procedimentos seqüenciados.
3. amostra negativa ao teste WB terá seu resultado definido como "Amostra negativa para HIV-1" e deverá ser submetida à investigação de anticorpos anti-HIV2. Recomenda-se, ainda, a coleta de nova amostra, após 30 dias e a repetição de todo o conjunto de procedimentos seqüenciados.

Convém observar que é obrigatória a coleta de uma segunda amostra e a repetição da etapa de triagem sorológica (Etapa 1), sempre que uma amostra apresentar resultado definido como "Amostra positiva para HIV-1". Caso os resultados da testagem da segunda amostra sejam não reagentes ou indeterminados, deverão ser cumpridas todas as etapas do conjunto de procedimentos seqüenciados.

Sempre que a primeira amostra for positiva, ao teste de IFI ou ao teste de WB e a segunda amostra for negativa aos testes de triagem, é preciso considerar a possibilidade de ter havido troca ou contaminação de amostras.

Deve-se ressaltar o fato de que todos os conjuntos de diagnóstico apresentam características intrínsecas que podem conduzir a resultados falsos.

Resultados falso-positivos podem ser decorrentes de problemas técnicos no procedimento do exame ou de alterações biológicas no indivíduo e que determinam reatividade, independente da condição investigada. Entre as causas de origem técnica, podemos citar: contaminação de ponteiras, contaminação da reação por soros vizinhos fortemente positivos, troca de amostras, ciclos repetidos de congelamento e descongelamento das amostras, pipetagens de baixa acurácia, inativação da amostra a 56°C e transporte ou armazenamento inadequado das amostras ou dos kits.

Como possíveis causas de resultados falso-positivos podemos mencionar, entre outras, as semelhanças antigênicas entre microrganismos, doenças auto-imunes, infecções por outros vírus, uso de drogas endovenosas, aquisição de anticorpos anti-HIV passivamente.

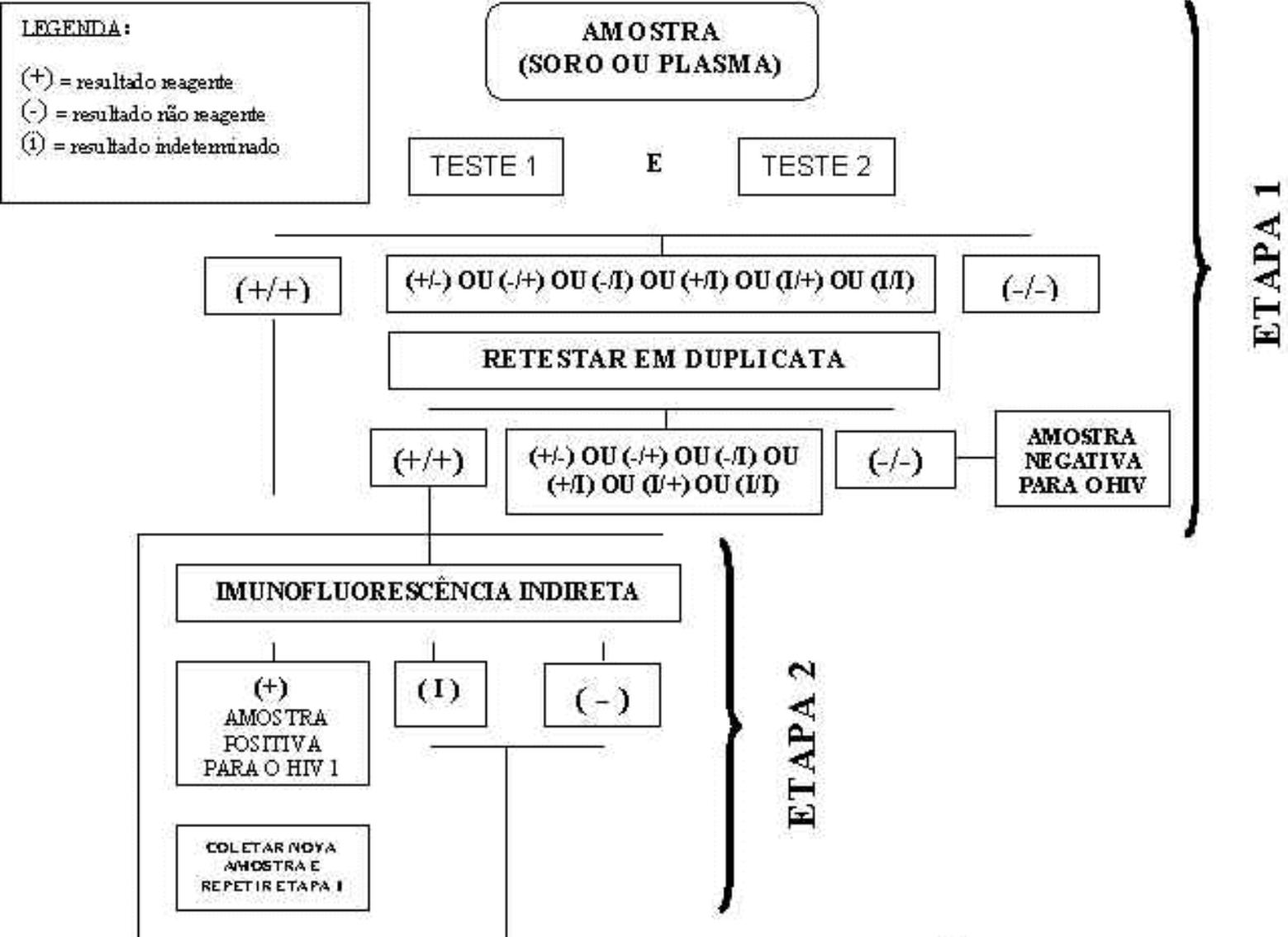
É importante salientar que nem todos os casos de reações falso-positivas tem a sua causa definida ou podem ser evitados. Além disso, tais causas podem variar ou não, de acordo com os métodos utilizados.

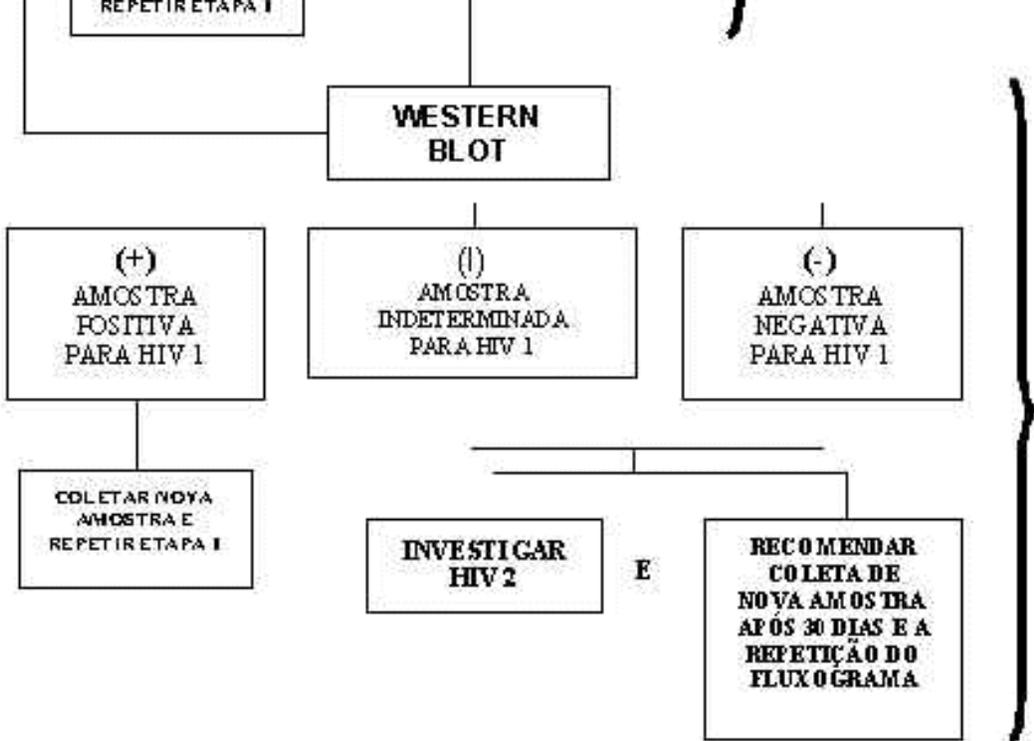
Com relação aos resultados falso-negativos, é importante mencionar a sensibilidade do teste como uma das principais causas, em função das diferentes capacidades de detecção dos kits, da ocorrência do período de janela imunológica ou da variabilidade na constituição antigênica dos conjuntos de diagnóstico. Entre as causas de ordem técnica como fatores que contribuem para o aparecimento de resultados falso-negativos, podemos citar: a troca da amostra, o uso de reagentes fora do prazo de validade, a utilização de equipamentos desajustados, pipetagem incorreta e o transporte ou armazenamento inadequado das amostras ou dos kits.

Finalmente, é importante enfatizar que mesmo com processamento adequado das amostras de sangue e a execução técnica correta de todas as etapas da reação sorológica no laboratório, é fundamental que o processo de aconselhamento, antes e depois do teste, seja feito de forma cuidadosa, para que o resultado do exame, seja corretamente interpretado, tanto pelo profissional de saúde quanto pelo paciente, gerando atitudes que visem a promoção da saúde e/ou a prevenção da infecção pelo HIV nos indivíduos testados, conforme o diagnóstico obtido a partir da avaliação clínica e laboratorial do paciente.

**FLUXOGRAMA PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-HIV EM INDIVÍDUOS COM IDADE ACIMA DE 2 ANOS**

(Portaria nº 488, de 17/06/98, Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância Sanitária, D.O da União Seção 1 p. 3).





**ETAPA 3**