

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA  
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Yasmin Rosa Ribeiro

**REVALIDAÇÃO DO PAINEL SOROLÓGICO POSITIVO DESTINADO AO  
CONTROLE DE QUALIDADE DE KITS PARA O DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO  
DO HIV**

Rio de Janeiro

2019

Yasmin Rosa Ribeiro

REVALIDAÇÃO DO PAINEL SOROLÓGICO POSITIVO DESTINADO AO  
CONTROLE DE QUALIDADE DE KITS PARA O DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DO  
HIV

Monografia apresentada ao Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços, do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para a obtenção do título de Especialista por ter concluído o Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços.

Tutora: Dra. Marisa Coelho Adati

Preceptor: Me. Álvaro da Silva Ribeiro

Rio de Janeiro

2019

### Catlogação na Fonte

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Biblioteca

Ribeiro, Yasmin

Revalidação do painel sorológico positivo destinado ao controle de qualidade de kits para o Diagnóstico sorológico do HIV. / Yasmin Ribeiro. - Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2019.

53 f. : il. ; fig. ; graf. ; tab.

Monografia (Programa de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços) - Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2019.

Tutora: Marisa Adati.

Preceptor: Álvaro Ribeiro.

1. HIV. 2. AIDS. 3. Painel sorológico. I. Título.

REVALIDATION OF THE POSITIVE SOROLOGICAL PANEL INTENDED TO THE QUALITY CONTROL OF KITS FOR THE DIAGNOSIS SOROLOGY OF HIV.

Yasmin Rosa Ribeiro

**REVALIDAÇÃO DO PAINEL SOROLÓGICO POSITIVO DESTINADO AO  
CONTROLE DE QUALIDADE DE KITS PARA O DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO  
DO HIV**

Monografia apresentada ao Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços, do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para a obtenção do título de Especialista por ter concluído o Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços.

Aprovado em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Renata Faria de Carvalho (Mestre)

Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde / FIOCRUZ

---

Helena Cristina Balthazar Guedes Borges (Doutora)

Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde / FIOCRUZ

---

Wlamir Corrêa de Moura (Doutor)

Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde / FIOCRUZ

---

Álvaro da Silva Ribeiro (Mestre) – (Preceptor)

Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde / FIOCRUZ

Dedico este trabalho à minha querida tia Marcele Gonçalves Marques (*in memoriam*), que é minha principal motivação em toda trajetória, por ter sido uma mulher extremamente forte, alegre, dedicada, que não desistia de seus sonhos e que lutou até o fim.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por ter me dado força, saúde e equilíbrio para prosseguir durante toda minha caminhada.

À minha mãe Raquel, que amo tanto, por todo amor, carinho, compreensão e apoio ao longo de toda minha vida, principalmente no momento delicado de saúde que passei e que mesmo diante de obstáculos, sempre me proporcionou o seu melhor, mostrando a grande mulher que sempre foi.

Agradeço aos meus familiares, minha irmã por ser um exemplo profissional e em especial à minha tia Marcele que se foi, mas deixou o ensinamento de nunca desistir de seus objetivos, por mais difícil que possa ser.

Agradeço a força transmitida pelas minhas crianças tão amadas Mariana e Letícia, vocês são o motivo da minha busca por um futuro melhor.

Um agradecimento ao meu noivo Leonardo, por fazer parte dessa trajetória, dando todo apoio, sendo companheiro e por sempre tentar me ajudar, sendo na vida profissional ou pessoal. E é claro, por ter feito todo o possível pra me ajudar em minha recuperação, me enchendo de cuidados.

Aos meus fiéis amigos de anos de amizade, Carol, Marcelo, Magno e Suelen que sob todas as circunstâncias estão presentes para me incentivar e apoiar.

Aqueles que participaram diretamente ou indiretamente de todo o processo cirúrgico e da minha recuperação, eu agradeço imensamente, pois vocês me mostraram como era possível conseguir passar por esse obstáculo. Obrigada por cada visita, cada ajuda, cada ligação e principalmente por toda paciência, em especial todos do hospital de Piedade, pois sem a ajuda de vocês eu não teria conseguido.

Expresso minha gratidão a minha tutora Dra. Marisa Adati pela oportunidade, além de ter compartilhado seu conhecimento, o que me fez adquirir uma experiência profissional enriquecedora.

A todos os profissionais, aos residentes, ao mestrando e aos auxiliares do LSH, agradeço o acolhimento e por terem dividido suas experiências.

Agradeço a Dra. Helena toda paciência, dedicação e carinho, obrigada por está sempre disposta a compartilhar seu conhecimento e por usar seu tempo livre nas correções do trabalho.

Ao pessoal da Saúde do Trabalhador pelo acolhimento e pela atenção, um agradecimento especial ao Cerest3 que proporcionou experiências profissionais incríveis, além de ótima convivência.

Agradeço a banca avaliadora examinadora (Dra. Helena, Dr. Wlamir, Me. Renata e Me. Álvaro) por terem se disponibilizado para participar da defesa e assim contribuir no aprendizado aqui adquirido.

O Ministério da saúde pelo financiamento da especialização.

Ao INCQS e a pós-graduação pela oportunidade concedida.

Agradeço a turma de residência pela união e pelo bom relacionamento de todos.

Ao grupo das meninas composto por Raphaela, Thaís, Jessica e Gabriella, pessoas tão diferentes, mas unidas pela amizade verdadeira e união entre si, vocês são os melhores presentes que a residência me trouxe, tornando tudo mais que especial.

Agradeço também ao apoio, a companhia no trajeto ao trabalho e pelos bons momentos adquiridos com a Mayssa.

Meu agradecimento especial a minha parceira de trabalho Gabriella, que me mostrou amizade verdadeira e duradora, que se fez presente e me ajudou como podia para o término desse trabalho, devido a dificuldade pós-cirúrgica. Só tenho a dizer que palavras não serão suficientes pra demonstrar minha gratidão. Obrigada por tudo.

Minha mais sincera gratidão a todos, pois graças a vocês isso foi possível.

“Porque os meus pensamentos não são os vossos pensamentos, nem os vossos caminhos, os meus caminhos, diz o senhor.”

ISAIAS 55:8



## RESUMO

O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) foi isolado em 1983, no Instituto Pasteur, a partir de linfonodos de pacientes infectados, ele pertence à família *Retroviridae* e é o agente etiológico da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). O vírus infecta as células do sistema imunológico do hospedeiro, dessa forma o hospedeiro infectado tem uma depleção de linfócitos T CD4+, o que afeta todo seu sistema imune, favorecendo assim, a infecção por patógenos causadores de doenças oportunistas. No Brasil, o número de infectados pelo HIV desde o início da epidemia ocorrida em 1980 até o ano de 2016, foi notificado 316.088 óbitos tendo como causa básica o HIV/AIDS, sendo assim a infecção é considerada um problema de saúde pública. O diagnóstico correto da infecção causada pelo HIV é de grande importância, sendo realizado por diferentes metodologias de acordo com o estágio da doença. Os kits de diagnóstico de uso in vitro empregados no diagnóstico da doença devem cumprir os requisitos da RDC 36/15. Para comercialização desses produtos é necessário que sejam registrados junto a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), conforme descrito na lei 6360/76. Por pertencerem a classe de risco IV, a análise prévia do produto é obrigatória. Nesse contexto, o Laboratório de Sangue e Hemoderivados (LSH) do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) realiza a análise laboratorial dos kits de diagnósticos para HIV, a partir da utilização de painéis sorológicos oriundos de soro/plasma humano, composto por amostras negativas e positivas para HIV devidamente caracterizado. Sendo assim, o objetivo desse trabalho é revalidar o painel sorológico verdadeiro positivo do HIV verdadeiro positivo do LSH, constituído por 44 amostras de soro/plasma, utilizado na avaliação da qualidade dos kits de diagnóstico com fins de registro. No presente estudo, foi elaborado um levantamento documental dos kits para HIV que tiveram laudo de análise satisfatório para os parâmetros de sensibilidade e especificidade, no período de janeiro de 2010 à dezembro de 2011. Para revalidação das amostras do painel sorológico verdadeiro positivo, selecionou-se 73 produtos encaminhados para análise prévia. Após avaliação dos protocolos de registro de resultados referentes a cada kit avaliado foram estabelecidos os seguintes critérios de revalidação: amostras com volume igual ou superior a 1mL, com positividade em três testes rápidos, três ELISAs, três Western Blots, um ELFA e três quimiluminescências, a fim de se ter um painel revalidado e bem caracterizado e

conseqüentemente, uma análise prévia dos kits de diagnóstico in vitro com resultados fidedignos. Foi observado que 80% das amostras não estiveram em concordância ao critério metodologia e 20% ao critério de volume, sendo então revalidadas 77% das amostras que compõem o painel sorológico verdadeiro positivo para HIV.

Palavras-Chave: HIV. Painel Sorológico. AIDS.

## ABSTRACT

The Human Immunodeficiency Virus (HIV) was isolated in 1983, at the Pasteur Institute, from lymph nodes of infected patients, it belongs to the family *Retroviridae* and is the etiologic agent of Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). The virus infects the cells of the host's immune system, so the infected host has a depletion of CD4 + T lymphocytes, which affects all of its immune system, thus favoring infection by pathogens that cause opportunistic diseases. In Brazil, the number of people infected with HIV since the beginning of the epidemic occurred in 1980 until the year 2016, 316,088 deaths were reported as the basic cause of HIV / AIDS, so the infection is considered a public health problem. The correct diagnosis of the infection caused by HIV is of great importance, being carried out by different methodologies according to the stage of the disease. In vitro diagnostic kits used in the diagnosis of the disease must meet the requirements of RDC 36/15. For marketing these products it is necessary that they be registered with the National Health Surveillance Agency (ANVISA), as described in law 6360/76. Because they belong to risk class IV, the prior analysis of the product is mandatory. In this context, the Laboratory of Blood and Hemoderivatives (LSH) of the National Institute of Quality Control in Health (INCQS) performs the laboratory analysis of the HIV diagnostic kits, based on the use of serological panels from human serum / plasma, by negative and positive samples for HIV properly characterized. Therefore, the objective of this study is to revalidate the true positive serological panel of true HIV positive LSH, consisting of 44 serum / plasma samples, used to evaluate the quality of diagnostic kits for registration purposes. In the present study, a documentary survey of the HIV kits was prepared, which had a satisfactory analysis report for the sensitivity and specificity parameters, from January 2010 to December 2011. For revalidation of positive true serologic panel samples, 73 products were sent for prior analysis. The following revalidation criteria were established: samples with a volume greater than or equal to 1mL, with positivity in three rapid tests, three ELISAs, three Western Blots, one ELFA and three chemiluminences, in order to have a revalidated and well characterized panel and consequently a prior analysis of the in vitro diagnostic kits with reliable results. It was observed that 80% of the samples were not in agreement with the methodology criterion and 20% at the volume criterion, and 77% of the samples that make up the true serologic panel positive for HIV were revalidated.

Key words: HIV. Serological Scoreboard. AIDS.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Taxa de detecção de AIDS (/100 mil hab.) e percentual de declínio ou incremento, segundo UF de residência, por ano de diagnóstico no Brasil, comparação de 2006 e 2016.....	20
Figura 2 - Morfologia do HIV .....	21
Figura 3 - Esquematização de ensaio ELISA (A) e placa de ensaio ELISA (B). .....	25
Figura 4 - Esquema da metodologia ELFA.....	26
Figura 5 - Interpretação do Teste (A) e cassete do Teste Rápido (B). .....	26
Figura 6 - Esquema da metodologia Quimiluminescência. ....	27
Figura 7 - Esquema do ensaio e fita de WB. ....	27
Figura 8 - Esquema e lâmina de Imunofluorescência Indireta.....	28
Figura 9 - Caderno de registro 2010 e 2011.....	34
Figura 10 - Quantificação das Metodologias. ....	38
Figura 11 - Reatividade das amostras no Western Blot. ....	45
Figura 12 - Reatividade das amostras no ELFA.....	46
Figura 13 - Reatividade das amostras no ensaio de Quimiluminescência. ....	46
Figura 14 - Distribuição das amostras em relação ao volume.....	48
Figura 15 - Amostras em relação ao critério de exclusão .....	50
Figura 16 - Amostras revalidadas e excluídas.....	50

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados do caderno de kits de 2010 e 2011.....	37
Tabela 2 - Exclusão das amostras de acordo com o critério metodologia. ....	44
Tabela 3 - Volume das amostras.....	47

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Planilha exemplo do ensaio ELISA. ....	39
Quadro 2 - Análise individual das amostras no teste Imunocromatográfico (Teste Rápido).....	40
Quadro 3 - Planilha exemplificada do Western Blot. ....	40
Quadro 4 - Planilha exemplificada do Ensaio Enzimático Fluorescente Ligado a Enzima (ELFA). ....	41
Quadro 5 - Planilha exemplificada do ensaio de Quimiluminescência. ....	41
Quadro 6 - Planilha com os critérios de aceitação para a revalidação das amostras. ....	43
Quadro 7 - Planilha das amostras revalidadas.....	49

## LISTA DE SIGLAS

AIDS: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida  
ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
ARV: Antirretrovirais  
CD4 +: Glicoproteína de Superfície  
CO: Cut-Off  
DI: Departamento de Imunologia  
DNA: Ácido Desoxirribonucleico  
DO: Densidade Óptica  
ELFA: Ensaio Enzimático Fluorescente Ligado a Enzima  
ELISA: Ensaio Imunoenzimático  
Env: Proteína de envelope  
FIOCRUZ: Fundação Oswaldo Cruz  
gp 120: Glicoproteína de Superfície 120  
gp 41: Glicoproteína de Superfície 41  
HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana  
IAL: Centro de Imunologia Instituto Adolfo Lutz  
IFI: Imunofluorescência Indireta  
IgM: Imunoglobulina M  
INCQS: Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde  
LA: Laudo de Análise  
LSH: Laboratório de Sangue e Hemoderivados  
mL: Mililitro  
Nef: Proteína do Capsídeo  
p 17: Proteína 17  
p 24: Proteína 24  
p 31: Proteína 31  
p 51: Proteína 51  
p 6: Proteína 6  
p 66: Proteína 66  
p 7: Proteína  
PSVP: Painel Sorológico Verdadeiro Positivo  
Rev: Proteína Acessória



RNA: Ácido Ribonucleico

TARV: Terapia Antirretroviral

Tat: Proteína Acessória

TCD4 +: Linfócito T

Vif: Proteína do Capsídeo

Vpr: Proteína do Capsídeo

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>1.1 Histórico do HIV .....</b>	<b>18</b>
<b>1.2 Epidemiologia do HIV.....</b>	<b>18</b>
<b>1.3 Morfologia do vírus .....</b>	<b>20</b>
<b>1.4 Infecção e replicação viral.....</b>	<b>22</b>
<b>1.5 Diagnóstico.....</b>	<b>23</b>
1.5.1 Testes de triagem.....	23
1.5.2 Testes confirmatórios .....	27
1.5.3 Detecção do vírus HIV.....	28
<b>1.6 Tratamento.....</b>	<b>28</b>
<b>1.7 Registro de produtos para diagnóstico <i>in vitro</i>.....</b>	<b>29</b>
<b>1.8 Painel sorológico positivo para HIV .....</b>	<b>30</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>32</b>
<b>3 OBJETIVO .....</b>	<b>33</b>
<b>3.1 Objetivos específicos.....</b>	<b>33</b>
<b>4 METODOLOGIA .....</b>	<b>34</b>
<b>4.1 Dados do estudo .....</b>	<b>34</b>
<b>4.2 Revalidação do painel.....</b>	<b>34</b>
4.2.1 Etapas da revalidação .....	34
4.2.2 Critérios adotados para revalidação .....	35
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>37</b>
<b>5.1 Dados coletados.....</b>	<b>37</b>
<b>5.2 Metodologias utilizadas .....</b>	<b>37</b>
<b>5.3 Planilhas do Excel® .....</b>	<b>38</b>
5.3.1 Planilha de Ensaio ELISA.....	39
5.3.2 Planilha de Teste Rápido .....	39
5.3.3 Planilha de Western Blot .....	40
5.3.4 Planilha de ELFA.....	40
5.3.5 Planilha de Quimiluminescência.....	41

<b>5.4 Critérios de aceitação estabelecidos.....</b>	<b>41</b>
5.4.1 Ensaio realizado e resultados obtidos para o ELISA .....	45
5.4.2 Ensaio realizado e resultados obtidos no Teste Rápido .....	45
5.4.3 Ensaio realizado e resultados obtidos para Western Blot.....	45
5.4.4 Ensaio realizado e resultados obtidos no ELFA .....	45
5.4.5 Ensaio realizado e resultados obtidos na Quimiluminescência .....	46
5.4.6 Volume das amostras.....	47
<b>5.5 Revalidação do painel sorológico para HIV .....</b>	<b>48</b>
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>51</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>52</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Histórico do HIV

Em outubro de 1983 no Instituto Pasteur, foi realizado o primeiro isolamento do vírus HIV (*Human Immuno deficiency Virus*), retirado de linfonodos de pacientes com linfadenopatia, característica em um estágio inicial de uma imunodeficiência que começava a surgir no início da década de 80. A identificação, em 1981, dessa síndrome da imunodeficiência adquirida, habitualmente conhecida como AIDS, tornou-se um marco na história da humanidade. As causas da síndrome ainda eram desconhecidas, porém, seus efeitos já eram devastadores, principalmente entre a população masculina homossexual nas grandes cidades norte-americanas, onde moradores já se deparavam com uma dura realidade naquele início de década. Em busca de respostas sobre a síndrome, iniciava assim, uma corrida contra o tempo, que perdura até nossos dias, na busca da cura da AIDS (GOLDANI, 2008; BRITO et al., 2001; ROTELLO, 1998).

A epidemia de AIDS desde sua descoberta trouxe consequências devastadoras para famílias, comunidades e países, a patologia é considerada a quinta causa de morte entre adultos da população mundial, sendo um dos maiores desafios para a saúde pública. A infecção pelo HIV representa um fenômeno global, dinâmico e instável, cuja forma de ocorrência nas diferentes regiões do mundo depende entre outros determinantes, o comportamento humano individual e coletivo. A AIDS destaca-se entre as enfermidades infecciosas emergentes, por sua grande magnitude e extensão dos danos causados na população e, desde a sua origem, tem sido exaustivamente discutida pela comunidade científica e pela sociedade em geral, cada uma de suas características e repercussões. No mundo, desde o início da epidemia, foram contabilizados 77,3 milhões de pessoas infectadas pelo HIV e 35,4 milhões de pessoas foram à óbito por causas relacionadas à AIDS (UNAIDS, 2018; MARTINS et al., 2014; BRITO et al., 2001).

## 1.2 Epidemiologia do HIV

Em todo o mundo, desde os primeiros casos, a epidemia tem sido considerada como uma epidemia social de comparável gravidade, onde era baseado

no medo, na ignorância, e no preconceito com os grupos fortemente afetados pelo HIV, o estigma e a discriminação frequentemente sobrecarrega a capacidade e vontade de comunidades e países para responder a epidemia. Essa epidemia de HIV no mundo continua a ter efeitos profundos em mulheres, usuários de drogas, homens homossexuais e transgêneros, que representam populações de alto risco, em relação as mulheres as trabalhadoras do sexo têm doze vezes mais chance de serem positivas para o HIV quando comparadas com outras mulheres (MARTINS et al, 2014).

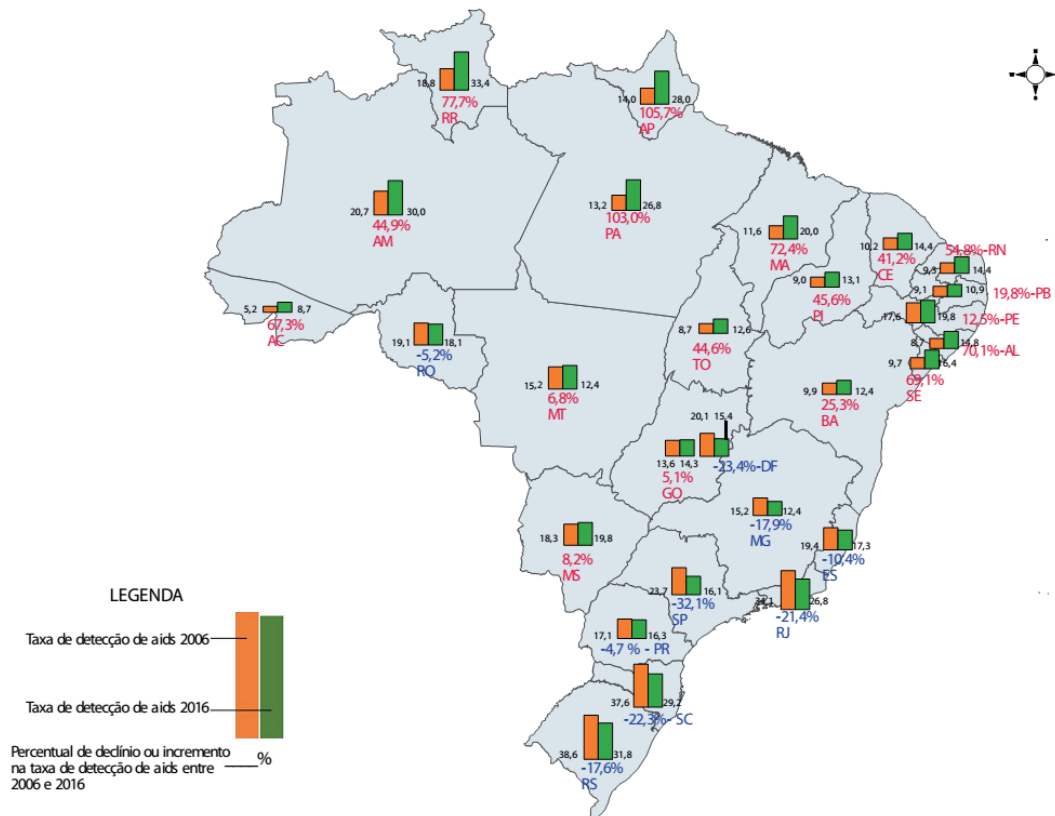
Dados divulgados revelam que no mundo em 2017 havia 36,9 milhões de pessoas vivendo infectadas pelo HIV, sendo 35,1 milhões de adultos e 1,8 milhões de crianças menores de 15 anos, aproximadamente 75% de todas as pessoas vivendo com HIV já haviam sido testadas e conheciam seu estado sorológico positivo em 2017. O número de novas infecções por HIV caiu 47% desde o pico que ocorreu no ano de 1996 e em 2017 foram notificados 1,8 milhões de novas infecções por HIV, um número bem menor quando comparado com 1996, onde 3,4 milhões de casos haviam sido notificados (UNAIDS, 2018). A região da África Subsaariana continua sendo a mais atingida no mundo com 60% das pessoas vivendo com HIV no mundo, onde mulheres representam 58% deste total. (MARTINS et al, 2014; BASTOS & BARCELLOS, 1995;).

Desde 2010, as novas infecções por HIV entre adultos tiveram uma queda de 16%, de 1,9 milhão de casos notificados passou para 1,6 milhão em 2017, entre as crianças essa diminuição foi de 35% de 270.000 casos em 2010 para 180.000 em 2017. As mortes relacionadas à AIDS caíram mais de 51% desde o pico em 2004, sendo registrados em 2017, 940.000 óbitos de pessoas por doenças relacionadas à AIDS em todo o mundo, em comparação com 1,9 milhão em 2004 e 1,4 milhão em 2010 (UNAIDS, 2018).

No Brasil, em meados da década de oitenta, a síndrome dava os primeiros sinais de presença, a epidemia iniciou-se na região Sudeste (São Paulo e Rio de Janeiro), que apresenta até hoje, taxas de incidência acumulada elevada. Nos primeiros anos da década de 80 a epidemia tornava-se visível do ponto de vista médico e social, ocorrendo entre homossexuais masculinos, tendo sido os dois primeiros casos notificados em 1982, na Cidade de São Paulo. Até 1987, havia ainda Estados da Federação, Regiões Norte e Nordeste do país, com menos de 5 (cinco) casos notificados da doença, porém em 1992 se difunde para o conjunto da

Federação, com taxas anuais de incidência crescentes em praticamente todas as unidades e as cidades de São Paulo e Rio de Janeiro persistem com taxas de incidência anuais elevadas. Entre os anos de 2006 e 2016 ocorreu um declínio na taxa de detecção de AIDS em nove estados: São Paulo (32,1%), Distrito Federal (23,4%), Santa Catarina (22,3%), Rio de Janeiro (21,4%), Minas Gerais (17,9%), Rio Grande do Sul (17,6%), Espírito Santo (10,4%), Rondônia (5,2%) e Paraná (4,7%). Porém os estados do Amapá e Pará dobraram suas taxas de detecção entre os anos de 2006 e 2016, como demonstrados na Figura 1 (BRASIL, 2017).

Figura 1 - Taxa de detecção de AIDS (/100 mil hab.) e percentual de declínio ou incremento, segundo UF de residência, por ano de diagnóstico no Brasil, comparação de 2006 e 2016.



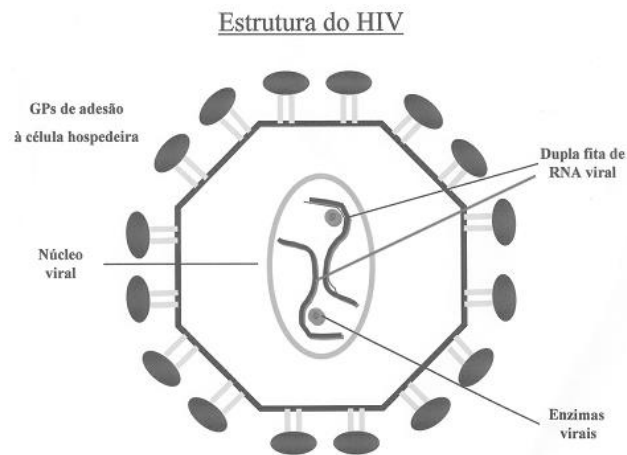
Fonte: (BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim epidemiológico**. Brasília, 2017).

### 1.3 Morfologia do vírus

O HIV pertence à família *Retroviridae*, do gênero *Lentivirus*. Estruturalmente, o HIV constitui-se de uma partícula icosaédrica, composta de um envelope fosfolipídico, onde estão inseridas proteínas virais e das células hospedeira,

incluindo as duas principais glicoproteínas, a gp120 e gp41. Apresentam enzimas que serão fundamentais em seu processo de replicação, em especial a transcriptase reversa e a protease, Figura 2. É por meio da inibição dessas enzimas virais que agem algumas drogas anti-retrovirais (VALENTE et al., 2005).

Figura 2 - Morfologia do HIV



Fonte: (VALENTE et al., 2005).

O mapa genético do HIV mostra três principais regiões, sendo elas: a região gag, que codifica as proteínas estruturais internas p17 (MA), p24 (CA), p7 (NC) e p6, a região pol, onde ocorre a codificação da protease (p11, PR), da transcriptase reversa (p66/p51, RT) e da integrase (p31, IN) e, finalmente, a região env, responsável pela codificação das proteínas do envoltório, gp120 (SU) e gp41 (TM). O genoma do HIV-1 codifica ainda seis outras proteínas acessórias, sendo duas (tat e rev) relacionadas com a regulação da expressão gênica. Internamente às glicoproteínas de superfície (gp120 e gp41) e à membrana de lipídios, a proteína p17 completa o envelope viral. Já o capsídeo viral é envolvido pela proteína gag p24. No interior do capsídeo há duas cópias do RNA genômico de monofita (35S RNA) que, supostamente, existe na forma de uma ribonucleoproteína contendo transcriptase reversa, integrase e a proteína p7 (NC) de ligação ao RNA. No interior do capsídeo encontram-se ainda as proteínas p6, Vif, Vpr e Nef. Apesar da característica mais marcante da infecção por HIV ser uma depleção seletiva de linfócitos CD4+, os macrófagos, monócitos e células de Langerhans, também são também susceptíveis à infecção por HIV (VALENTE et al., 2005; PEÇANHA; ANTUNES, 2002).

## 1.4 Infecção e replicação viral

No início da infecção, ocorre primeiramente a ligação da partícula viral aos receptores específicos na superfície da célula alvo, ou seja, a interação com o receptor celular é mediada por uma glicoproteína do envelope. O processo de replicação inicia quando ocorre a ligação da gp120 do envelope do vírus à molécula CD4 e, posteriormente, ao receptor para quimiocinas (co-receptor). Após essa ligação, ocorre a fusão, que é mediada através da gp41, com a membrana plasmática da célula da hospedeira, e dessa forma ocorre a entrada do vírus no citoplasma. Na próxima fase, a enzima transcriptase reversa transcreve o genoma de RNA viral em DNA pró-viral de fita dupla, que se integra no genoma humano pela ação da proteína integrase, iniciando assim o processo de transcrição do HIV no genoma. Por distintos estímulos, principalmente por genes regulatórios, o HIV se replica e sai novamente para o citoplasma na forma de proteínas virais desorganizadas, ocorrendo então, a clivagem pela protease, para que posteriormente, sejam liberadas na circulação sanguínea como novos vírions (VALENTE et al., 2005; PEÇANHA; ANTUNES, 2002; PARHAM, 2000).

A replicação viral desencadeia as seguintes causas potenciais da depleção das células CD4+: as consequências tóxicas diretas da infecção; a formação de sincícios; a destruição ocasional das células com gp120 absorvida; a regeneração prejudicada do compartimento das células T periféricas; a destruição autoimune, os superantígenos e a apoptose (WALKER, 2001).

A transmissão do vírus HIV pode ocorrer por via sexual, que é a mais frequente, por contaminação sanguínea e por “transmissão vertical”. A Infecção pelo vírus pode ser caracterizada em três fases: fase aguda (nas primeiras semanas de infecção, onde há intensa replicação viral), fase persistente (caracterizada pela manutenção dos níveis de TCD4+ e baixa concentração de HIV plasmático) e AIDS (onde ocorre redução significativa de células TCD4+, altos níveis de HIV plasmático e aparecimento de manifestações clínicas características e infecções oportunistas) (SANTOS et al., 2015; LOPES, 2006; RIBEIRO; BORGES, 2006).



## 1.5 Diagnóstico

No Brasil, o diagnóstico da infecção pelo HIV em acordo com a Portaria Nº 59/GM/MS, de 29 de janeiro de 2003, em indivíduos com idade acima de dois anos é baseado na detecção de anticorpos. Para a identificação da infecção pelo HIV em crianças com idade inferior a dois anos, são utilizados testes para quantificação da carga viral do HIV-1, em função da transferência passiva de anticorpos da mãe para o bebê, que pode ocasionar resultados falsos positivos nos testes para detecção de anticorpos (BRASIL, 2008).

Existem dois retrovírus capazes de levar a AIDS, o HIV-1 e o HIV-2, o HIV-2 tem sido descrito em diferentes regiões do mundo, porém, sempre em indivíduos que tiveram algum contato com o continente africano ou com sua população. Os métodos laboratoriais são específicos para cada um dos retrovírus, e devem ser tomados alguns cuidados em determinadas interpretações devido a erros que possam ocorrer com os diferentes métodos laboratoriais, quando da pesquisa dos dois vírus (MACHADO; COSTA, 1999).

Os testes para detecção de anticorpos anti-HIV podem ser classificados como de triagem e confirmatórios. O teste de triagem é o primeiro teste realizado para identificar possíveis indivíduos infectados pelo HIV, possui um alto grau de sensibilidade, enquanto os testes confirmatórios são testes ou conjuntos de testes que podem definir o diagnóstico de uma amostra, após um resultado inicial reagente e possuem um alto grau de especificidade (BRASIL, 2008).

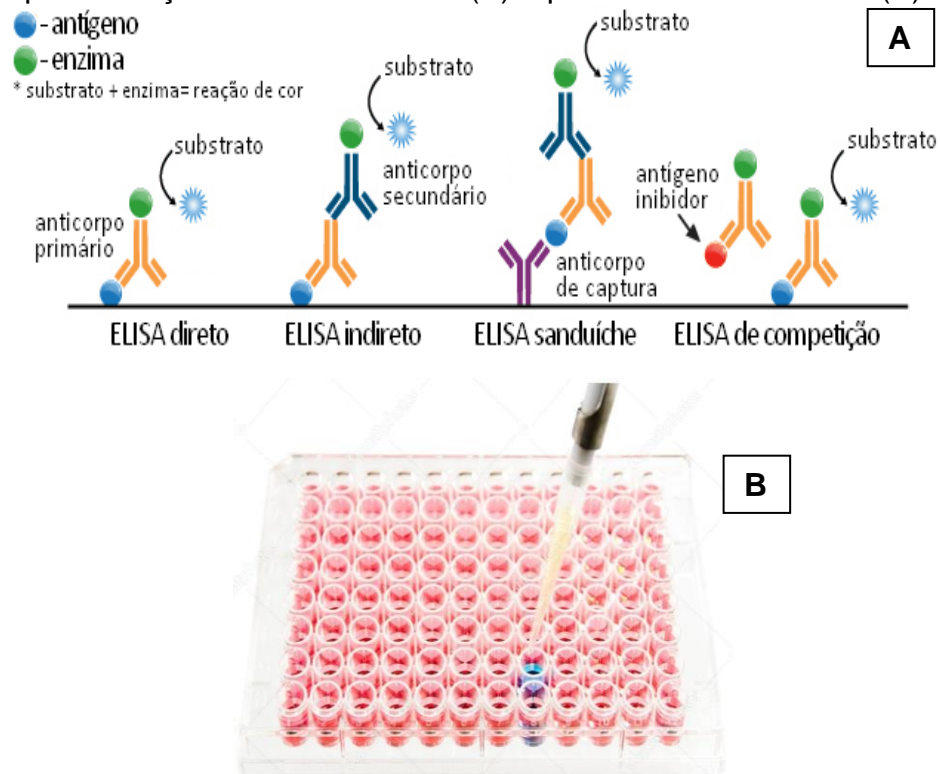
### 1.5.1 Testes de triagem

- **Ensaio Imunoenzimático (ELISA)** -É o ensaio mais comumente empregado na detecção de antígenos e/ou anticorpos anti-HIV, pois possui elevada taxa de sensibilidade e especificidade. Em sua fase sólida são empregados antígenos ou anticorpos, detectados por um antígeno ou anticorpo complementar marcado com uma enzima, que é capaz de reagir com um substrato cromogênico. Caso haja a presença de antígenos ou anticorpos na amostra, forma-se um produto final colorido, cuja sua intensidade é medida em espectrofotômetro no comprimento de onda indicado pelo fabricante. A presença de antígenos ou anticorpos na amostra é diretamente proporcional a intensidade da coloração formada anteriormente (Figura

3 A e B) (RACHID; SCHECHTER, 2017). Os Ensaio Imunoenzimáticos utilizados atualmente são os de terceira e quarta gerações, porém existem quatro gerações, sendo elas:

- ✓ Primeira Geração: Possui formato indireto, ou seja, a presença de anticorpos específicos é detectada por um conjugado constituído por um anticorpo anti-IgG humana e na sua fase sólida, os antígenos são originados de um lisado viral de HIV (RACHID; SCHECHTER, 2017; BRASIL, 2013).
  
- ✓ Segunda Geração: Possui formato indireto, porém, utiliza antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos derivados de proteínas do HIV (RACHID; SCHECHTER, 2017; BRASIL, 2013).
  
- ✓ Terceira Geração: Tem o formato “sanduíche” e utiliza antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos tanto na fase sólida quanto sob a forma de conjugado, assim esse formato permite a detecção simultânea de anticorpos anti-HIV IgM e IgG (RACHID; SCHECHTER, 2017; BRASIL, 2013).
  
- ✓ Quarta Geração: Detecta simultaneamente o antígeno p24 e anticorpos específicos anti-HIV. O componente de detecção de anticorpo tem o formato de “sanduíche”; portanto, detectam todas as classes de imunoglobulinas contra proteínas recombinantes ou peptídeos sintéticos derivados das glicoproteínas gp41 e gp120/160 (RACHID; SCHECHTER, 2017; BRASIL, 2013).

Figura 3 - Esquemática de ensaio ELISA (A) e placa de ensaio ELISA (B).



Fonte: (www.biomedicinapadrao.com.br); (Fonte: pt.depositphotos.com)

- Ensaio Enzimático Fluorescente Ligado a Enzima (ELFA)** – Trata-se de um método automatizado, de grande reprodutibilidade. Devido a sua alta sensibilidade, pode detectar níveis baixos de anticorpos por longos períodos após fase aguda (18 meses). Útil para confirmação de IgM positivos em outros ensaios. Apresenta sensibilidade de 100% e especificidade de 98,6%. Os anticorpos/antígenos presentes no soro do paciente ligam-se aos anticorpos/antígenos fixados no cone. Após uma etapa de lavagem, o conjugado fixa-se aos anticorpos/antígenos específicos presentes no cone, seguido de outra etapa de lavagem que elimina o conjugado não fixado. Na etapa final, a enzima do conjugado catalisa a reação de hidrólise de um substrato, resultando na emissão de fluorescência, proporcional à quantidade analito presente na amostra, Figura 4 (ARANTES, 2008).

Figura 4 - Esquema da metodologia ELFA.

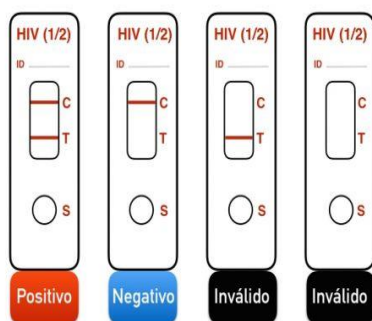


Fonte: ([www.telelab.aids.gov.br/moodle/pluginfile](http://www.telelab.aids.gov.br/moodle/pluginfile)).

- **Ensaio Imunocromatográfico (Teste Rápido)** - São testes que produzem resultados em no máximo, 30 minutos. Apresentam metodologia simples, utilizando antígenos virais fixados em um suporte sólido (membranas de celulose ou nylon, látex, micropartículas ou cartelas plásticas) e são acondicionados em embalagens individualizadas, permitindo assim a testagem individual das amostras (Figura 5 A e B) (BRASIL, 2013).

Figura 5 - Interpretação do Teste (A) e cassete do Teste Rápido (B).

#### Teste rápido da gota de sangue



A



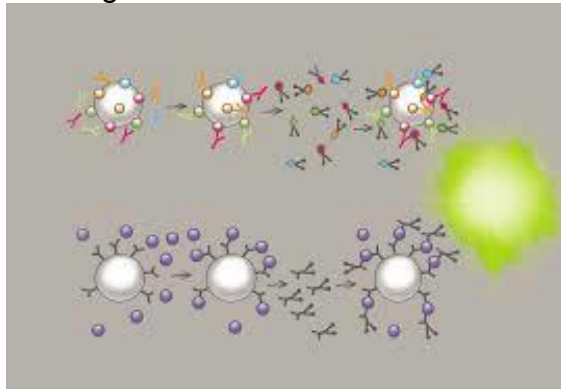
B

Fonte: ([www.tuasaude.com/teste-caseiro-de-hiv](http://www.tuasaude.com/teste-caseiro-de-hiv)); Fonte: ([midianews.com.br](http://midianews.com.br)).

- **Quimioluminescência** - Trata-se de uma reação onde ocorre condução da emissão de luz a partir de complexos fluorescentes, que podem ser iniciados elétrica ou quimicamente (Figura 6). A reação acontece em diferentes etapas, na primeira o soro ou plasma do paciente é incubado frente a antígenos ou anticorpos marcados com biotina e exposto a anticorpo marcado com substância luminescente (conjugado). Na próxima etapa, o anticorpo ou o antígeno presente na amostra se liga a micropartícula marcada por streptavidina e é exposta a campo elétrico, no caso da eletroquimioluminescência, ou é utilizado o substrato luminescente, para a quimioluminescência, e a luz emitida é detectada e amplificada por um

fotomultiplicador. A quantidade de luminescência emitida é diretamente proporcional a concentração de anticorpos ou antígenos presentes na amostra. A sensibilidade dessa técnica é comparável aos testes ELISA, porém para sua realização há necessidade de equipamento específico (MORIMURA et al., 2006).

Figura 6 - Esquema da metodologia Quimiluminescência.

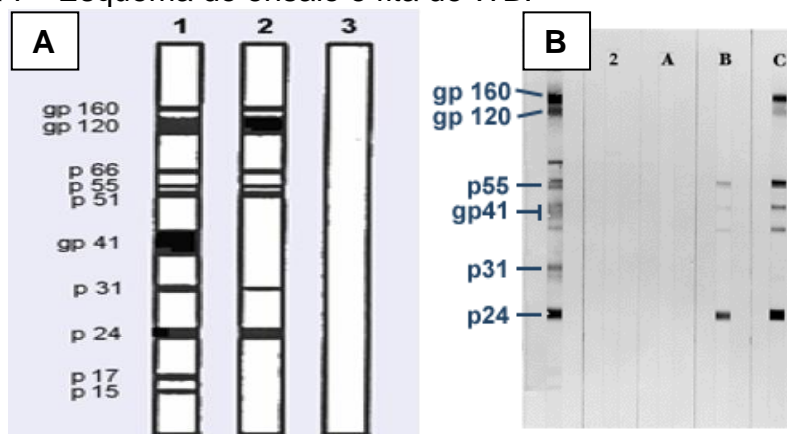


Fonte: ([www.telelab.aids.gov.br/moodle/pluginfile](http://www.telelab.aids.gov.br/moodle/pluginfile)).

### 1.5.2 Testes confirmatórios

- **Western Blot** – Trata-se de um imunensaio em suporte sólido (tiras de nitrocelulose) que utiliza proteínas virais imobilizadas para detectar anticorpos contra estas proteínas específicas e é considerado “padrão ouro”. As tiras são incubadas com amostras de soro ou plasma. Os anticorpos presentes na amostra se ligam de maneira específica as proteínas fixadas nas tiras e são detectados por anticorpos secundários, conjugados com uma enzima, seguido por um substrato que gera um produto colorido (Figura 7 A e B)(RACHID; SCHECHTER, 2017; BRASIL, 2013).

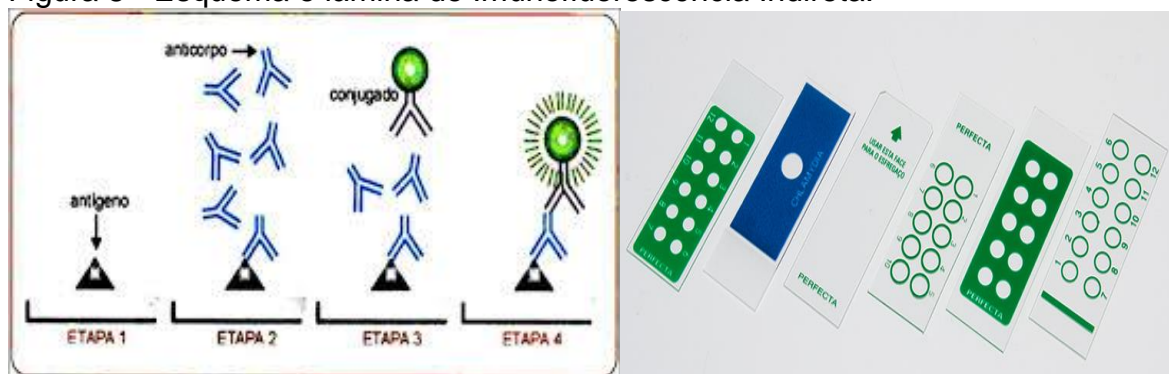
Figura 7 - Esquema do ensaio e fita de WB.



Fonte: ([www.i-base.info/guides/testing/appendix](http://www.i-base.info/guides/testing/appendix)); Fonte: ([imunologiahematologia.wordpress.com](http://imunologiahematologia.wordpress.com)).

- **Imunofluorescência Indireta (IFI)** – O teste permite a detecção de anticorpos contra o HIV. No entanto, somente é utilizado quando a amostra de sangue do paciente apresentar resultado positivo no teste Elisa. Para a sua realização, utiliza-se uma lâmina de vidro que contém células infectadas com o HIV, fixadas nas cavidades onde o soro ou plasma do paciente é adicionado, a reação é observada através do microscópio de fluorescência (Figura 8) (RACHID; SCHECHTER, 2017; BRASIL, 2013).

Figura 8 - Esquema e lâmina de Imunofluorescência Indireta.



Fonte: ([www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/patologia](http://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/patologia)); Fonte: (<http://www.perfectalab.com.br>).

### 1.5.3 Detecção do vírus HIV

A identificação do HIV é realizada por meio da detecção direta de componentes do vírus, como o antígeno p24, RNA pró-viral. A detecção do antígeno p24 do HIV-1 ou de RNA desempenha um papel importante quando a detecção de anticorpos não é possível. (BRASIL, 2013).

A Portaria Nº 59/GM/MS de 29 de janeiro de 2003 preconiza o algoritmo da infecção que após a realização de todas as etapas obrigatórias e também recomendadas para a detecção de anticorpos anti-HIV-1, em amostras que tiveram resultado indeterminado, recomenda-se realizar a investigação do HIV-2 quando os dados epidemiológicos forem sugestivos de infecção por este vírus ou se os dados clínicos forem compatíveis com a infecção HIV/AIDS (BRASIL, 2003).

## 1.6 Tratamento

Surgiram na década de 1980 os medicamentos antirretrovirais (ARV) para impedir a multiplicação do HIV no organismo. Esses medicamentos possuem a

função de evitar o enfraquecimento do sistema imunológico do infectado. Desde 1996, o Brasil distribui gratuitamente os ARV, através da política nacional de distribuição gratuita dos medicamentos que compõe a terapia antirretroviral (TARV), disponível para todas as pessoas vivendo com HIV que necessitam de tratamento. Desde 1996, foi empregada uma associação de medicamentos conhecidos como coquetel, uma combinação de medicamentos que utiliza fármacos capazes de inibir diferentes etapas da replicação viral, sendo classificadas de acordo com as enzimas virais que inibem, dividindo-se em três categorias: Inibidores de transcriptase reversa nucleosídeo-nucleotídeo; Inibidores de transcriptase reversa não-nucleosídeo e Inibidores de protease (PADOIN et al., 2013; SOUZA; ALMEIDA, 2003; PEÇANHA; ANTUNES, 2002).

O sucesso do tratamento está diretamente relacionado à adesão do paciente aos medicamentos. O uso irregular dos ARV favorece a falha do tratamento e o desenvolvimento de mutações do HIV. As mutações do HIV nada mais são que do desenvolvimento de formas mais resistentes do vírus, o que conseqüentemente torna o tratamento mais difícil e favorece as manifestações mais graves da doença. Por isso, o uso regular dos ARV é fundamental para aumentar o tempo e a qualidade de vida das pessoas que vivem com HIV e reduzir o número de internações e infecções por doenças oportunistas. O tratamento tem como objetivo atingir uma viremia indetectável, ou seja, redução da carga viral. A partir de uma carga indetectável, o organismo é capaz de recuperar a quantidade de CD4, responsável pela defesa contra as infecções oportunistas (PADOIN et al., 2013; SOUZA; ALMEIDA, 2003; PEÇANHA; ANTUNES, 2002).

### **1.7 Registro de produtos para diagnóstico *in vitro***

O Laboratório de Sangue e Hemoderivados (LSH) por meio de análise prévia, fiscal e de controle, avalia os parâmetros de sensibilidade e especificidade dos Kits de diagnóstico para HIV, empregando painéis sorológicos específicos. Por definição uma análise prévia quando efetuada em determinados produtos sob o regime de Vigilância Sanitária, a fim de ser verificado se os mesmos podem obter o registro, a análise para controle é realizada em produtos após sua entrega ao consumo e destinada a comprovar a conformidade do produto com a fórmula que deu origem ao registro, já a análise fiscal é efetuada sobre os produtos para apuração de infração

ou verificação de ocorrência de desvio quanto à qualidade, segurança e eficácia dos produtos ou matérias-primas (BRASIL, 2015).

A Resolução RDC nº 36 de 26 de agosto de 2015, tem por objetivo estabelecer a classificação de risco, os regimes de controle de cadastro e registro, os requisitos de rotulagem e instruções de uso de produtos para diagnóstico *in vitro*, inclusive seus instrumentos. Os produtos para uso em diagnóstico *in vitro* são classificados de acordo com sua relevância epidemiológica. Os kits de diagnóstico para detecção do HIV possuem sua classificação de risco na classe IV, sendo assim um produto de alto risco ao indivíduo e alto risco à saúde pública. Devido a isso sua análise prévia se torna obrigatória, sendo os produtos de origem nacional ou importados pelo Brasil (BRASIL, 2015).

De acordo com a Lei nº 6360 de 23 de setembro de 1976, no Art. 12 - Nenhum dos produtos de que trata esta Lei, inclusive os importados, poderá ser industrializado, exposto à venda ou entregue ao consumo antes de registrado no Ministério da Saúde. Somente produtos registrados na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA/MS) podem ser comercializados. Desde 1995 o LSH do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (LSH/INCQS), da Fundação Oswaldo Cruz avalia os produtos empregados no diagnóstico do HIV quanto aos parâmetros de sensibilidade e especificidade que devem obter valores respectivamente de 100% e  $\geq 99,5\%$  em análise laboratorial, como parte do processo de registro desses produtos (BRASIL, 1976).

### **1.8 Painel sorológico positivo para HIV**

Na análise prévia dos produtos destinados ao diagnóstico do HIV os painéis sorológicos constituídos de amostras verdadeiros positivos são utilizados como principal ferramenta na avaliação da sensibilidade. Trata-se de um conjunto de amostras obtido a partir de unidades de plasma provenientes de Serviços de Hemoterapia das diversas regiões do país. Por meio de solicitação formal os Serviços de Hemoterapia foram contatados para envio de unidades de plasma que após realização dos testes de triagem sorológica apresentaram resultado reagente para uma ou mais patologias, sendo assim, segundo critérios estabelecidos na legislação vigente, consideradas impróprias para o uso terapêutico. As unidades de plasma foram obtidas a partir do fracionamento do sangue total de doadores.



Os plasmas encaminhados ao LSH foram cadastrados em caderno ata de acordo com o preconizado e após a finalização do cadastro as unidades receberam identificação alfanumérica própria do laboratório. As unidades de plasma selecionadas para processamento apresentavam volume aproximado ou superior a 200 mL, as mesmas foram descongeladas à temperatura ambiente e o seu conteúdo filtrado. As unidades de plasma foram fracionadas e estocadas em garrafas Nalgene™, tubos Falcon™ e também distribuídas em criotubos que são utilizados para realização dos testes sorológicos na rotina laboratorial.

Posteriormente essas amostras foram testadas frente às metodologias disponíveis no LSH para HIV1/2, HTLV-I/II, Hepatite B, Hepatite C, Doença de Chagas e Sífilis. Os plasmas foram caracterizados em concordância aos critérios estabelecidos para a validação compondo assim os painéis sorológicos referentes a cada patologia e que possuem quantitativo de amostras variáveis. As unidades de plasmas que apresentaram reatividade para HIV e atenderam aos critérios de validação na época exigidos, formaram o painel sorológico verdadeiro positivo (PSVP) para HIV, objeto de revalidação desse trabalho.

## 2 JUSTIFICATIVA

O LSH é responsável pela execução da análise prévia dos kits para diagnóstico do HIV, um dos critérios exigidos para o registro dos produtos pertencentes à Classe de Risco IV, segundo a RDC nº 36/2015 (BRASIL, 2015).

Na análise prévia são empregados os painéis positivos constituídos a partir de unidades de plasma humano, provenientes de Serviços de Hemoterapia de todas as regiões do país. O envio das unidades de plasma ao LSH é realizado por meio de solicitação formal e após realização dos testes de triagem sorológica as mesmas são consideradas reagentes para HIV. Atualmente o painel positivo de HIV possui 44 amostras, obtidas e cadastradas a partir do ano de 1996 e sua utilização é destinada ao controle da qualidade dos kits no que diz respeito a sensibilidade.

Dessa forma, a revalidação do Painel Sorológico Verdadeiro Positivo (PSVP) com critérios claramente definidos é de extrema relevância, a fim de manter a confiabilidade e segurança dos testes para diagnóstico sorológico do HIV, uma vez que a cada ano são disponibilizados novos kits no mercado nacional e internacional, com finalidade de atender a demanda da população por testes cada vez mais sensíveis (RIBEIRO; BORGES, 2006).

### 3 OBJETIVO

Revalidar o painel sorológico positivo para HIV do LSH, oriundo de plasma humano, utilizado na avaliação da sensibilidade dos kits de diagnóstico de uso *in vitro* para fins de registro.

#### 3.1 Objetivos específicos

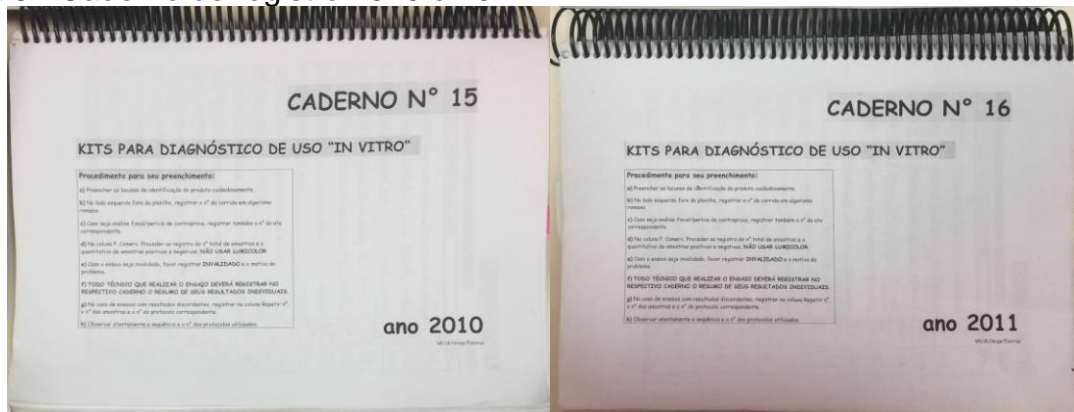
- Realizar levantamento dos Kits de diagnóstico de uso *in vitro* do HIV encaminhados para análise prévia no LSH no período de janeiro de 2010 a dezembro de 2011;
- Avaliar os protocolos analíticos dos testes utilizados para caracterização das amostras, nas seguintes metodologias: ELISA, Teste Rápido, Western Blot, ELFA e Quimiluminescência;
- Elaborar planilhas no Microsoft EXCEL® com as metodologias e os resultados relacionados as amostras do painel sorológico positivo para HIV;
- Estabelecer critérios para a revalidação do painel;
- Identificar e quantificar as amostras por meio dos critérios estabelecidos;
- Revalidar as amostras que compõe o Painel Sorológico Verdadeiro Positivo para HIV, de acordo com os critérios previamente estabelecidos.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Dados do estudo

O estudo foi realizado no período de 2010 a 2011, no LSH que pertence ao Departamento de Imunologia (DI) do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). O levantamento dos dados necessários para a confecção deste trabalho foi obtido por meio de buscas nos Cadernos de Registros para kits de diagnósticos *in vitro* do LSH, que contém dados de análises referentes aos ensaios realizados, número dos protocolos, nome do kit, fabricante e resultado da avaliação do kit (satisfatório ou insatisfatório).

Figura 9 - Caderno de registro 2010 e 2011.



Fonte: (LSH, 2018).

### 4.2 Revalidação do painel

#### 4.2.1 Etapas da revalidação

Com o objetivo de revalidar o painel sorológico verdadeiro positivo para HIV, foram estabelecidos os seguintes procedimentos:

- Desarquivamento dos cadernos de kits para diagnóstico no período de 2010 a 2011;
- Levantamento dos kits de diagnóstico sorológico do HIV, enviados ao LSH para fins de registro, que obtiveram laudo satisfatório para os parâmetros de sensibilidade (100%) e especificidade ( $\geq 99,5\%$ ) e dos protocolos de análise das seguintes metodologias:

- ✓ Ensaio Imunoenzimático (ELISA);
- ✓ Imunocromatográfico (Teste Rápido);
- ✓ Western Blot;
- ✓ Ensaio Enzimático Fluorescente Ligado a Enzima (ELFA);
- ✓ Ensaio de Quimiluminescência.
- Avaliação dos resultados nos protocolos analíticos de cada uma das amostras que compõe o painel sorológico positivo para HIV;
- Elaboração de planilhas de EXCEL® para todas as metodologias contendo os resultados de cada amostra do painel sorológico verdadeiro positivo para HIV, obtidos a partir de todas as análises efetuadas no período de 2010 a 2011, contendo as seguintes informações:
  - ✓ N° da amostra;
  - ✓ N° do laudo de análise (LA) de cada produto;
  - ✓ N° do protocolo de cada ensaio realizado;
  - ✓ Resultado individual das amostras;
  - ✓ Valor da densidade ótica (DO) de cada amostra para os testes ELISA;
  - ✓ Valor de Cut Off (CO) de cada teste ELISA;
  - ✓ Cálculo da razão de todos os resultados dos testes da metodologia de ELISA, utilizando a fórmula: DO/CO;
  - ✓ Resultado no teste confirmatório (Western Blot).

#### 4.2.2 Critérios adotados para revalidação

- Para a revalidação das amostras que compõe o painel positivo para HIV, foi estabelecido como critério os requisitos mínimos de positividade nas seguintes metodologias:
  - ✓ 03 (três) ensaios ELISA;
  - ✓ 03 (três) Testes Rápidos;
  - ✓ 03 (três) Western-Blot;
  - ✓ 01 (um) ELFA;
  - ✓ 03 (três) ensaios de Quimiluminescência.
- Foram considerados como positivas amostras com valor da razão 1,5 nos testes ELISA e Quimiluminescência para uniformidade dos resultados das amostras;

- Volume considerado foi igual ou superior a 01 (um) mililitro das amostras em estoque ou rotina laboratorial.

Para revalidação foram consideradas as amostras que cumpriram todos os critérios estabelecidos, com a finalidade de verificar a uniformidade e confiabilidade. As amostras que não contemplaram os critérios estabelecidos foram segregadas para posterior reavaliação pelo LSH e excluídas do painel de amostras positivas para HIV.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Dados coletados

No período de 2010 a 2011 foram recebidos no LSH para análise prévia 76 kits para diagnóstico *in vitro* para a detecção do HIV. No ano de 2010 foram recebidos para análise prévia 38% (28/73) kits, sendo satisfatórios 71% (20/28) kits e insatisfatórios 29% (08/28) kits, já no ano de 2011 foram recebidos 62% (45/73) kits, sendo 60% (27/45) satisfatórios e 40% (18/45) insatisfatórios. Foi recebido no período de estudo um total de 64% (47/73) kits satisfatórios e 36% (26/73) insatisfatórios, Tabela 1.

Tabela 1 - Dados do caderno de kits de 2010 e 2011.

CADERNO/ANO	KITS RECEBIDOS	SATISFATÓRIO	INSATISFATÓRIO
15/2010	28	20	08
16/2011	45	27	18
<b>TOTAL</b>	<b>73</b>	<b>47</b>	<b>26</b>

Fonte: (LSH, 2018).

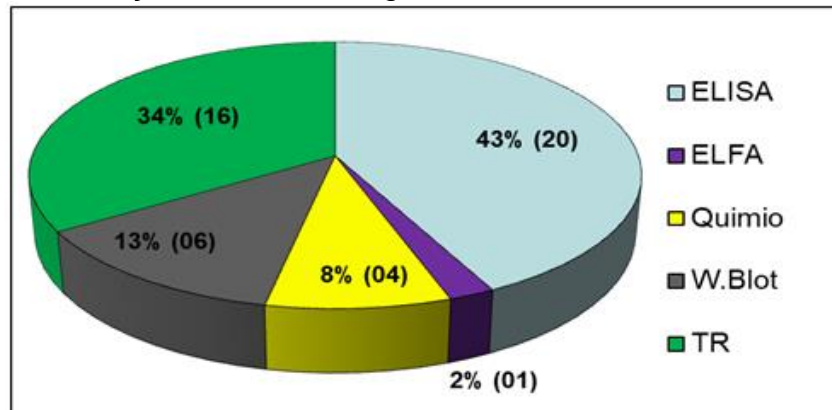
Para a pesquisa foram selecionados somente os kits satisfatórios, ou seja, aqueles que por meio das diversas etapas de análise conseguiram o seu registro junto a ANVISA. Os que não foram aprovados foram considerados insatisfatórios e desconsiderados para o estudo. As análises realizadas nos kits possuem a finalidade de garantir que os produtos apresentem o desempenho desejado de sensibilidade e especificidade. A utilização de produtos não registrados, além de ilegal, pode alterar sua qualidade, o que não pode ocorrer quando se trata da segurança da saúde do usuário (CHIATTONE *et al*, 2008).

### 5.2 Metodologias utilizadas

Para o presente estudo foi considerado um total de 47 kits satisfatórios em diferentes metodologias, sendo 43% (20/47) ensaios ELISA, 34% (16/47) Testes

Rápidos, 13% (06/47) Western Blot, 2% (01/47) ELFA, 8% (04/47) ensaios de Quimiluminescência, como observado na Figura 10.

Figura 10 - Quantificação das Metodologias.



Fonte: (LSH, 2018).

### 5.3 Planilhas do Excel®

Após busca dos protocolos analíticos referentes a cada kit para diagnóstico do HIV, foi realizada análise individual dos resultados das amostras que compõe o painel sorológico positivo. Foi elaborada uma planilha no EXCEL® contendo os resultados das amostras que compõem o painel positivo frente a cada uma das metodologias. As planilhas elaboradas foram compostas pelos seguintes dados :

- ✓ Número da amostra;
- ✓ Número do protocolo analítico;
- ✓ Número do laudo de análise (LA);
- ✓ Resposta da amostra frente ao teste.

O Teste Rápido e o ELFA apresentam resultado unitário na planilha, para o ensaio ELISA e Quimiluminescência foram calculados o racio (razão) de cada amostra, que é o resultado da divisão da densidade ótica (DO) obtida pelo ponto de corte do teste determinado pelo fabricante (DO/CO), Em relação ao Western Blot, foi inserido o resultado de cada banda do HIV detectada.



### 5.3.1 Planilha de Ensaio ELISA

O Quadro 1 contém o número da amostra, número do protocolo analítico, número do laudo de análise (LA), além da densidade ótica e o valor do cut-off, necessário para o cálculo da razão, pois no presente estudo são consideradas como amostras reativas aquelas com valor de razão  $\geq 1,5$ . Abaixo segue exemplo de uma parte da tabela referente ao ensaio ELISA do ano de 2010, a tabela original é composta por 20 (vinte) ensaios.

Quadro 1 - Planilha exemplo do ensaio ELISA.

Amostras	ELISA 2010				
	LA: XXXX/ANO				
	#	DO	CO	Racio	Resposta
09	4829	3	0,333	9,009009	<b>POS</b>
10	4829	3	0,333	9,009009	<b>POS</b>
11	4829	3	0,333	9,009009	<b>POS</b>
12	4829	3	0,333	9,009009	<b>POS</b>
15	4829	3	0,333	9,009009	<b>POS</b>
16	4829	3	0,333	9,009009	<b>POS</b>

Fonte: (LSH, 2018).

### 5.3.2 Planilha de Teste Rápido

A planilha original referente a metodologia imunocromatográfica é composta por um total de 16 (dezesesseis) testes correspondente a todo o período de estudo, frente as 44 amostras do painel sorológico positivo. A planilha foi elaborada informando o número da amostra, número do protocolo analítico, número do laudo de análise (LA) e a conclusão da reatividade da amostra em relação a metodologia.

O Quadro2 exemplifica 06 (seis) amostras frente ao Teste Rápido, no ano de 2010.

Quadro 2 - Análise individual das amostras no teste Imunocromatográfico (Teste Rápido).

Amostras	TESTE RÁPIDO 2010	
	LA: XXXX/ANO	
	#	Resposta
09	5170	POS
10	5170	POS
11	5170	POS
12	5170	POS
15	5170	POS
16	5170	POS

Fonte: (LSH, 2018).

### 5.3.3 Planilha de Western Blot

A planilha referente ao Western Blot em seu formato original é composta por 06 (seis) testes, constituída pelo número da amostra, número do protocolo analítico, número do laudo de análise (LA), apresenta o resultado de reatividade em cada banda do teste e a resposta da reatividade da amostra. Como observado no exemplo do Quadro 3, a amostra se apresenta como reativa em relação a cada uma das bandas do teste.

Quadro 3 - Planilha exemplificada do Western Blot.

Amostras	W. Blot 2010		
	LA: XXXX/ANO		
	#	BANDA	Resposta
09	4795	gp160, gp120, p66, gp41, p31, p24,p17, IgG	POS
10	4795	Gp160, gp120, p66, p55, p51, gp41, p31, p24,p17, IgG	POS
11	4795	gp160, gp120, p66, p55, gp41, p31, p24,p17, IgG	POS
12	4795	gp160, gp120, p66, p55,gp41, p31, p24,IgG	POS
15	4795	gp160, gp120, p66, p55, gp41, p31, p24,p17, IgG	POS
16	4795	gp160, gp120, p66, p55,gp41, p31, p24, IgG	POS

Fonte: (LSH, 2018).

### 5.3.4 Planilha de ELFA

A planilha relacionada ao ELFA é constituída por um total de 01 (um) teste, foi elaborada informando o número da amostra, número do protocolo analítico, número do laudo de análise (LA) e a resposta da reatividade da amostra em relação a

metodologia, como demonstrado no Quadro 4 em relação a 06 (seis) das 44 (quarenta e quatro) amostras do painel.

Quadro 4 - Planilha exemplificada do Ensaio Enzimático Fluorescente Ligado a Enzima (ELFA).

Amostras	ELFA 2010	
	LA:XXXX/ANO	
	#	Resposta
09	4928	POS
10	4928	POS
11	4928	POS
12	4928	POS
15	4928	POS
16	4928	POS

Fonte: (LSH, 2018).

### 5.3.5 Planilha de Quimiluminescência

No método de quimiluminescência utilizou-se como critério valores da razão igual ou acima de 1,5, número da amostra, número do protocolo analítico, número do LA e a resposta das amostras. A planilha utilizada para a pesquisa contém 04 (quatro) ensaios, com os dados acima citados, como o exemplo do Quadro 5.

Quadro 5 - Planilha exemplificada do ensaio de Quimiluminescência.

Amostras	Quimiluminescência2010		
	LA: XXXX/ANO		
	#	Racio	Resposta
09	4908	358,22	POS
10	4908	565,8	POS
11	4908	453,61	POS
12	4908	593,16	POS
15	4908	537,65	POS
16	4908	439,64	POS

Fonte: (LSH, 2018).

### 5.4 Critérios de aceitação estabelecidos

De acordo com os critérios de aceitação estabelecidos foi exigida a reatividade mínima das amostras em:

- ✓ 03 (três) ensaios ELISA;
- ✓ 01(um) ELFA;

- ✓ 03 (três) Quimiluminescência;
- ✓ 03 (três) Western Blot;
- ✓ 03(três) Testes Rápidos.

Na metodologia ELISA e Quimiluminescência foram consideradas como amostras positivas somente as que possuíam valor do razão  $\geq 1,5$ , garantindo melhor uniformidade aos resultados. Os critérios de revalidação estabelecidos em relação as metodologias foram baseados nos critérios de validação das amostras realizados anteriormente no LSH, sendo assim requerido um quantitativo de positividade igual ou superior ao exigido no processo de validação, a fim de garantir resultados ainda mais fidedignos, Quadro 6.

Quadro 6 - Planilha com os critérios de aceitação para a revalidação das amostras.

AMOSTRAS	ELISA (3)	ELFA (1)	QUIMIO (3)	W.BLOT (3)	TR (3)	RESULTADO
09	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
10	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
11	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
12	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
15	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
16	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
17	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
23	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
24	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
26	SIM	SIM	NÃO	NÃO	SIM	NÃO
30	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
37	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
42	SIM	SIM	SIM	NÃO	SIM	NÃO
43	SIM	SIM	NÃO	SIM	SIM	NÃO
44	SIM	SIM	NÃO	SIM	SIM	NÃO
45	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
46	SIM	SIM	NÃO	SIM	SIM	NÃO
47	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
49	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
50	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
51	SIM	SIM	NÃO	SIM	SIM	NÃO
52	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
53	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
61	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
64	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
66	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
69	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
70	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
73	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
74	SIM	NÃO	NÃO	SIM	SIM	NÃO
77	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
82	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
83	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
84	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
85	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
86	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
87	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
88	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
90	SIM	SIM	NÃO	SIM	SIM	NÃO
108	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
128	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
129	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
130	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
131	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM

Fonte: (LSH, 2018).

Sendo assim, foi avaliado um total de 44 amostras previamente validadas, que compõe o painel sorológico positivo utilizado nas análises laboratoriais de rotina do LSH, com objetivo de revalidação do painel.

Após estabelecer os critérios de revalidação foi possível observar que as amostras 26, 42, 43, 44, 46, 51, 74 e 90 não concordam nos resultados das diferentes metodologias avaliadas, ou seja, não se enquadraram a um ou mais critérios estabelecidos. Essas 18% (08/44) amostras fazem parte do início do painel positivo para HIV, sendo utilizadas na rotina laboratorial a mais de 20 (vinte) anos, portanto o tempo de uso justifica a perda ou diminuição da sua reatividade, assim dificultando sua identificação em testes com o limite de detecção baixo.

Outra hipótese avaliada em relação a reatividade das amostras, seria o processo de congelamento e descongelamento dos soros, porém um estudo foi elaborado para investigar o impacto dos múltiplos ciclos de congelamento e descongelamento na estabilidade das amostras de soro estocadas há -20 °C, com amostras oriundas de painel sorológico negativo e do painel sorológico positivo para HIV, provenientes do Centro de Imunologia Instituto Adolfo Lutz (IAL). A estabilidade foi avaliada por meio de ELISA/EIA, Western blot e imunofluorescência indireta, os soros foram submetidos a 11 consecutivos ciclos de congelamento e descongelamento, que variaram de 7 a 60 ciclos. Na avaliação nenhum efeito significativo na reatividade dos anticorpos específicos foi observado, portanto esse processo não interfere na reatividade da amostra (CASTEJÓN, 2012).

Das 8 amostras excluídas do painel positivo para anticorpos HIV por apresentarem resultados divergentes 12,5% (01/08) amostra foi não reagente no teste ELFA, 87,5% (07/08) no ensaio de Quimiluminescência e 25% (02/08) no Western Blot, Tabela 2.

Tabela 2 - Exclusão das amostras de acordo com o critério metodologia.

<b>METODOLOGIA</b>	<b>AMOSTRAS</b>
ELFA	01
Quimiluminescência	07
Western Blot	02
<b>TOTAL</b>	<b>10</b>

Fonte: (LSH, 2018).

#### 5.4.1 Ensaio realizados e resultados obtidos para o ELISA

Todas as amostras do painel sorológico para HIV atenderam ao critério de revalidação, pois apresentaram reatividade em pelo menos 03 (três) ensaios com o razão igual ou acima de 1,5.

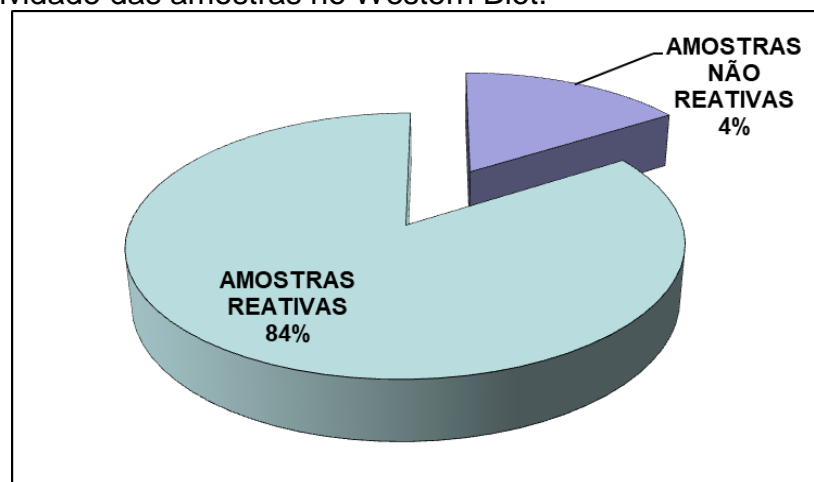
#### 5.4.2 Ensaio realizados e resultados obtidos no Teste Rápido

As 44 amostras do painel sorológico para HIV atenderam ao critério de revalidação, apresentando reatividade em 03 (três) ou mais testes rápidos.

#### 5.4.3 Ensaio realizados e resultados obtidos para Western Blot

Baseando-se no critério de revalidação estabelecido, espera-se que as amostras apresentem reatividade em pelo menos 03 (três) ensaios, dessa forma foi verificado que as amostras 26 e 42 não atenderam ao critério, Figura 11.

Figura 11 - Reatividade das amostras no Western Blot.

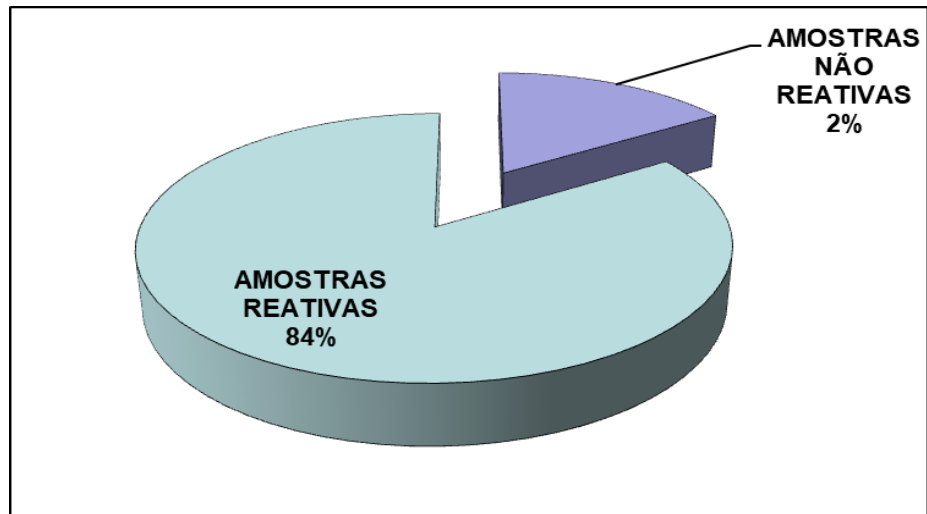


Fonte: (LSH, 2018).

#### 5.4.4 Ensaio realizados e resultados obtidos no ELFA

Para essa metodologia foi estabelecido como critério de revalidação a reatividade em 01 (um) teste. A amostra 74 se mostrou como não reativa, como observado na Figura 12.

Figura 12 - Reatividade das amostras no ELFA.

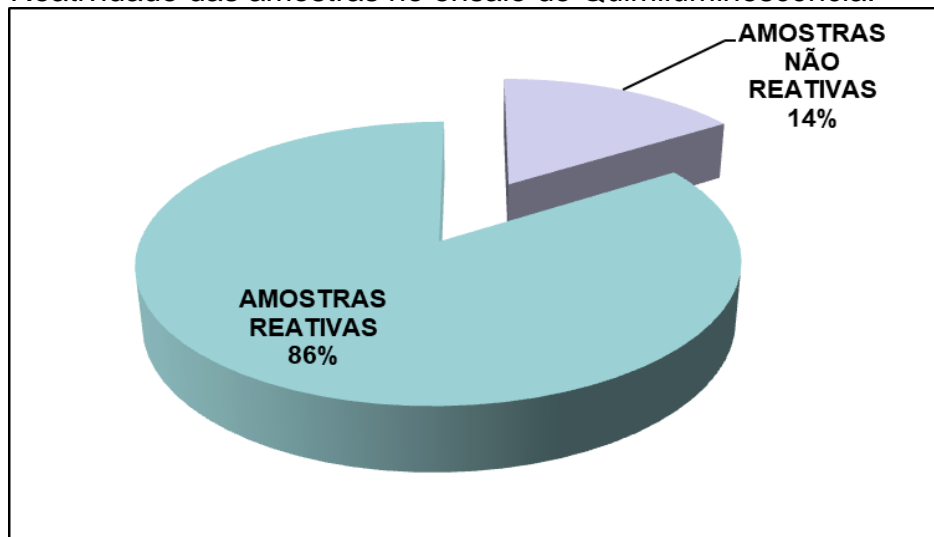


Fonte: (LSH, 2018).

#### 5.4.5 Ensaio realizado e resultados obtidos na Quimiluminescência

De acordo com o critério estabelecido, as amostras devem apresentar reatividade em pelo menos 03 (três) ensaios e ter a razão igual ou acima de 1,5. Após a análise, foi identificado que 07 (sete) amostras do painel sorológico formado por 44, não apresentaram reatividade nesse ensaio, sendo elas as amostras 26, 43, 44, 46, 51, 74 e 90, Figura 13.

Figura 13 - Reatividade das amostras no ensaio de Quimiluminescência.



Fonte: (LSH, 2018).



#### 5.4.6 Volume das amostras

Para a revalidação, além de cumprirem os critérios relacionados a metodologia e o valor mínimo da razão, as amostras deveriam possuir um volume mínimo de 1 (um) mililitro em estoque ou em utilização no LSH.

Os plasmas quando recebidos são armazenados em tubo Falcon, posteriormente as amostras são alíquotadas desses tubos e armazenadas em câmara fria a  $-20^{\circ}\text{C}$  e sendo transferidas para criotubos de 02 (dois) mililitros e posteriormente armazenadas em caixas, assim são utilizadas em kits para conferir a sua sensibilidade e especificidade. O conhecimento do volume foi importante na avaliação do número de amostras verdadeiro positivas disponíveis do painel armazenado.

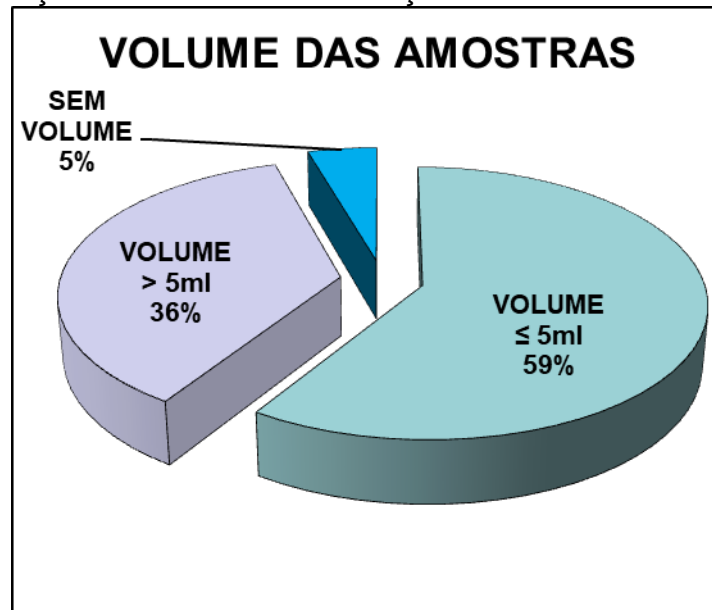
Com a verificação do volume das amostras pertencentes ao painel positivo, foi possível constatar que 59% (26/44) das amostras possuíam um volume igual ou inferior a 05 (cinco) mililitros. Foi encontrado um volume superior a 05 (cinco) mililitros em 36% (16/44) amostras do painel e constatado que 5% (2/44) amostras não cumpriam o critério de volume, pois não se encontravam mais disponíveis em estoque e nem rotina laboratorial (Tabela 3 e Figura 14).

Tabela 3 - Volume das amostras.

<b>AMOSTRAS</b>	
<b>VOLUME <math>\leq</math> 5ml</b>	26
<b>VOLUME <math>&gt;</math> 5ml</b>	16
<b>SEM VOLUME</b>	02
<b>TOTAL</b>	44

Fonte: (LSH, 2018).

Figura 14 - Distribuição das amostras em relação ao volume.



Fonte: (LSH, 2018).

### 5.5 Revalidação do painel sorológico para HIV

O Quadro 7 demonstra as amostras do painel sorológico positivo para HIV que foram revalidadas, pois atenderam todos os critérios exigidos em relação a metodologia, razão, volume e amostras excluídas do painel.

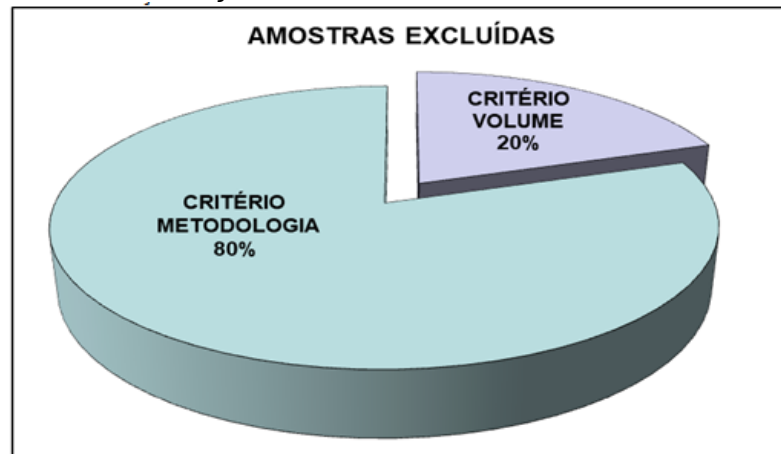
Quadro 7 - Planilha das amostras revalidadas

AMOSTRAS	CRITÉRIO METODOLOGIA	CRITÉRIO VOLUME	REVALIDAS
09	Atende	Atende	SIM
10	Atende	Atende	SIM
11	Atende	Atende	SIM
12	Atende	Atende	SIM
15	Atende	Atende	SIM
16	Atende	Atende	SIM
17	Atende	Atende	SIM
23	Atende	Atende	SIM
24	Atende	Atende	SIM
26	Não atende	Atende	NÃO
30	Atende	Atende	SIM
37	Atende	Atende	SIM
42	Não atende	Atende	NÃO
43	Não atende	Atende	NÃO
44	Não atende	Atende	NÃO
45	Atende	Atende	SIM
46	Não atende	Atende	NÃO
47	Atende	Atende	SIM
49	Atende	Atende	SIM
50	Atende	Atende	SIM
51	Não atende	Atende	NÃO
52	Atende	Atende	SIM
53	Atende	Atende	SIM
61	Atende	Atende	SIM
64	Atende	Atende	SIM
66	Atende	Atende	SIM
69	Atende	Atende	SIM
70	Atende	Atende	SIM
73	Atende	Atende	SIM
74	Não atende	Atende	NÃO
77	Atende	Atende	SIM
82	Atende	Atende	SIM
83	Atende	Atende	SIM
84	Atende	Atende	SIM
85	Atende	Atende	SIM
86	Atende	Atende	SIM
87	Atende	Atende	SIM
88	Atende	Não atende	NÃO
90	Não atende	Atende	NÃO
108	Atende	Atende	SIM
128	Atende	Não atende	NÃO
129	Atende	Atende	SIM
130	Atende	Atende	SIM
131	Atende	Atende	SIM

Fonte: (LSH, 2018).

As amostras 88 e 128 foram excluídas por não apresentarem volume suficiente para uso. As amostras 26, 42, 43, 44, 46, 51, 74, 88, 90 e 128 foram excluídas por não apresentarem reatividade nas metodologias (ELFA, Quimiluminescência e Western Blot). Em resumo, 20% (02/10) das amostras excluídas foram devido ao critério volume e 80% (08/10) por não atenderem aos critérios de positividade nas diferentes metodologias, Figura 15.

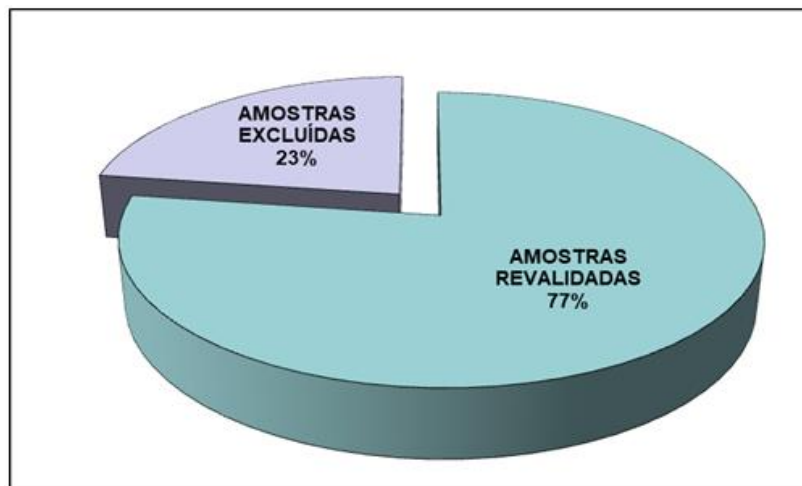
Figura 15 - Amostras em relação ao critério de exclusão



Fonte: (LSH, 2018).

Do painel de amostras de plasma composto inicialmente por 44 amostras validadas como positivas, após avaliação 77% (34/44) foram revalidadas, sendo excluídas 23% (10/44) das amostras por não se adequarem aos critérios estabelecidos para revalidação, Figura 16.

Figura 16 - Amostras revalidadas e excluídas.



Fonte: (LSH, 2018).

## 6 CONCLUSÃO

O presente estudo avaliou o comportamento das 44 amostras que compõe o painel sorológico de amostras reagentes para HIV, frente a 47 kits válidos recebidos no período de 2010 a 2011, com a finalidade de revalidação desse painel.

O plasma humano, matéria prima para confecção do painel sorológico, trata-se de material de volume limitado e esgotável, sendo assim, há uma grande necessidade de inserção de novas amostras no painel, pois se trata de um processo dinâmico e randômico. À medida que os novos plasmas atendam as especificações exigidas, os mesmos serão caracterizados e inseridos ao painel positivo.

O estudo demonstrou que a grande parte das amostras do painel positivo possui baixo volume sendo 26 amostras com volume  $\leq 5\text{ml}$ , 16 amostras com volume  $>5\text{ml}$  e 2 sem volume, ratificando com isso a necessidade de receber, cadastrar e caracterizar mais amostras reagentes para HIV.

As 10 (dez) amostras que não atenderam aos critérios serão remanejadas para o painel de amostras indeterminadas, as mesmas podem ter reduzido a sua reatividade frente aos kits, pois se trata de amostras com mais de 20 anos de utilização em rotina laboratorial.

A revalidação se conclui importante, pois possui a finalidade de reafirmar a garantia da confiabilidade e a segurança dos resultados das amostras em relação aos kits avaliados para uso diagnóstico in vitro do HIV, que já havia sido conferida no processo de validação. O painel sorológico verdadeiro positivo para HIV composto por um total de 44 amostras validadas, após revalidação passou a ser composto por 34 amostras revalidadas.

## REFERÊNCIAS

ARANTES, C. Z. K. Interferência de reações cruzadas no diagnóstico da toxoplasmose. **Academia de Ciência e Tecnologia**, São José do Rio Preto, 2008.

BASTOS, F. I; BARCELLOS, C. Geografia social da AIDS no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.29, p.52-62, 1995.

BRASIL. **Boletim Epidemiológico – AIDS e IST**. Brasil, 2017. Disponível em: [www.aids.gov.br](http://www.aids.gov.br). Acesso em: 30 ago. 2018.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 36 de 26 de agosto de 2015. Dispõe sobre a classificação de risco, os regimes de controle de cadastro e registro e os requisitos de rotulagem e instruções de uso de produtos para diagnóstico in vitro, inclusive seus instrumentos e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Disponível em: [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Acesso em: 30 ago. 2018.

BRASIL. **Manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo HIV**. Brasil, 2013. Disponível em: [sms.saude.gov.br](http://sms.saude.gov.br). Acesso em: 30 ago. 2018.

BRASIL. **Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV - 2007/2008** - Documento preliminar, 2008. Disponível em: [www.aids.gov.br](http://www.aids.gov.br). Acesso em: 30 ago. 2018.

BRASIL. Portaria nº 59 de 28 de janeiro de 2003. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 jan. 2003. Disponível em: [sms.saude.gov.br](http://sms.saude.gov.br). Acesso em: 30 ago. 2018.

BRASIL. Lei nº 6.360 de 23 de setembro de 1976. Dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos saneantes e outros produtos, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Disponível em [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Acesso em: 30 ago. 2018.

BRITO, A. M. *et al.* AIDS e infecção pelo HIV no Brasil: uma epidemia multifacetada. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.34, p.207-217, 2001.

CASTEJÓN, M. J. *et al.* Avaliação dos múltiplos ciclos de congelamento e descongelamento na estabilidade dos soros para a detecção de anticorpos anti-HIV. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, p. 573-581, 2012.

CHIATTONE, Carlos S. *et al.* Urgência na introdução do NAT: é fundamental não cometer os erros do passado. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, p. 259, 2008.

GOLDANI, L. Z. Descoberta do HIV: o reconhecimento. **Revista HCPA**, v.28, p.205-206, 2008.

LOPES, A.C. **Tratado de clínica médica**. 3. ed. São Paulo: ROCA, 2006.

MACHADO, A. A; COSTA, J. C. Métodos laboratoriais para o diagnóstico da infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). **Revista de Medicina**, Ribeirão Preto, v.32, p.138-146, 1999.

MARTINS, T. A. *et al.* Cenário Epidemiológico da Infecção pelo HIV e AIDS no Mundo. **Revista Fisioterapia & Saúde Funcional**, v.3, p.4-7, 2014.

MORIMURA. M. C. *et al.* Frequência de testagem rápida para o HIV durante a admissão para o parto em puérperas no Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira, IMIP. **Revista Brasileira de Saúde Maternidade e Infantil**, Recife, v.6, p.69-76, 2006.

PADOIN, S. M. M. *et al.* Adesão à terapia antirretroviral para HIV/AIDS. **Revista Cogitare Enfermagem**, v.18, p.446-451, 2013.

PARHAM, P. **O sistema imune**. Porto Alegre: Artmed, 2000.

PEÇANHA, E. P; ANTUNES, O. A. C. Estratégias farmacológicas para a terapia anti-AIDS. **Química Nova**, v. 25, p.1108-1116, 2002.

RACHID, M; SCHECHTER, M. **Manual de HIV/AIDS**. 10. ed. Rio de Janeiro: Thieme Revinter Publicações Ltda, 2017.

RIBEIRO, A.S.; BORGES, H.C.B.G. Confecção de Painel Sorológico para Controle da Qualidade de Conjuntos de Diagnósticos para Detecção do Anti – HIV. **Revista de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 2006.

ROTELLO, Gabriel. Comportamento sexual e AIDS: a cultura gay em transformação. **Summus**, São Paulo, p. 96, 1998.

SANTOS, N. S. O.; ROMANOS, M. T. V.; WIGG, M. D. **Virologia Humana**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

SOUZA, M. V. N; ALMEIDA, M. V. Drogas anti-HIV: passado, presente e perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 26, p.366-372, 2003.

SZWARCWALD, C. L. *et al.* A disseminação da epidemia da AIDS no Brasil, no período de 1987-1996: uma análise espacial. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.16, p.7-19, 2000.

UNAIDS. **Relatório informativo**. Brasil, 2018.

VALENTE, A. M. M. *et al.* Alterações Metabólicas da Síndrome Lipodistrófica do HIV. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 49, 2005.

WALKER, B. D. Imunologia relacionada à AIDS/SIDA. *In*: TRATADO de medicina interna. 21. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.