

# Comparação de testes laboratoriais para o diagnóstico de infecção por vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 (HTLV-1) e tipo 2 (HTLV-2) em pacientes infectados por HIV-1

## Comparison of laboratorial tests for the diagnosis of human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and type 2 (HTLV-2) in HIV-1 infected patients

RIALA6/1637

Karoline Rodrigues CAMPOS<sup>1</sup>, Maria Gisele GONÇALVES<sup>1</sup>, Lucila Okuyama FUKASAWA<sup>1</sup>, Nadia Aparecida COSTA<sup>1</sup>, Carlos Henrique BARRETO-DAMIÃO<sup>1</sup>, Mariana Cavalheiro MAGRI<sup>2</sup>, Wong Kuen ALENCAR<sup>3</sup>, Adele CATERINO-DE-ARAUJO<sup>1\*</sup>

\*Endereço para correspondência: <sup>1</sup>Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz. Av. Dr. Arnaldo, 351, 11º andar, São Paulo, SP, Brasil, CEP: 01246-000. Tel/Fax: (11) 3068-2898. E-mail: caterino@ial.sp.gov.br; caterino@usp.br

<sup>2</sup>Laboratório de Investigação Médica em Hepatologia por Vírus – LIM 47, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

<sup>3</sup>Vigilância Epidemiológica, Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids de São Paulo (CRT-DST/Aids-SP), São Paulo, SP, Brasil

Recebido: 08.12.2014 - Aceito para publicação: 25.03.2015

### RESUMO

O presente estudo pesquisou o melhor algoritmo de testes laboratoriais para efetuar o diagnóstico de infecção por vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 (HTLV-1) e 2 (HTLV-2) em pacientes HIV-1 positivos. Amostras de sangue de 1.608 pacientes do CRT DST/Aids-SP foram analisadas quanto à presença de anticorpos específicos usando-se dois ensaios de triagem (EIA Murex HTLV-I+II e Gold ELISA HTLV-I/II), dois confirmatórios [HTLV Blot 2.4 (Western Blot – WB) e INNO-LIA HTLV I/II (Line ImmunoAssay - LIA)] e um molecular (PCR em tempo real pol). Na triagem foram detectados 51(Murex) e 49 (Gold ELISA) soros reagentes. Pelo WB, 23 soros confirmaram infecção por HTLV-1, 12 HTLV-2, seis HTLV e nove apresentaram perfis indeterminados. O LIA detectou 24 soros HTLV-1 positivos, 20 HTLV-2 e seis HTLV. A PCR evidenciou segmento pol de HTLV-1 em 18 e HTLV-2 em 12 amostras de sangue. Pelos testes confirmatórios, em 50 pacientes foi confirmada a infecção por HTLV: 25 HTLV-1 (1,55 %), 21 HTLV-2 (1,31 %) e quatro HTLV (0,25 %). As sensibilidades do LIA, WB e PCR foram de 96 %, 76 % e 60 %, respectivamente. Considerando-se apenas o custo, o melhor algoritmo diagnóstico para população infectada pelo HIV-1 foi o uso da PCR seguida do LIA.

**Palavras-chave.** HTLV-1/2, diagnóstico, sorologia, PCR, coinfeção HIV-1/HTLV, algoritmo de testes laboratoriais.

### ABSTRACT

The present study aimed at investigating the best algorithm definition to be employed for diagnosing the human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and type 2 (HTLV-2) in HIV-1 infected/Aids patients. Blood samples of 1,608 HIV-1 infected patients from the AIDS Reference Center (CRT DST/AIDS-SP) were tested for the presence of HTLV-1/2 antibodies using two screening assays (EIA Murex HTLV-I+II, and Gold ELISA HTLV-I/II), and confirmed by two Blots [HTLV Blot 2.4 (Western Blot –WB) and INNO-LIA HTLV I/II (Line ImmunoAssay - LIA)], and one molecular assay (pol real-time PCR). The screening tests detected 51(Murex) and 49 (Gold ELISA) reagents sera. WB , confirmed 23 HTLV-1, 12 HTLV-2, six HTLV, and nine showed HTLV indeterminate profiles. LIA confirmed 24 HTLV-1, 20 HTLV-2, and six HTLV. PCR detected 18 HTLV-1- and 12 HTLV-2-infected blood samples. By using any confirmatory assay, 50 patients confirmed HTLV infection: 25 HTLV-1 (1.55 %), 21 HTLV-2 (1.31 %) and four HTLV (0.25 %). The sensitivity of LIA, WB and PCR assays were 96 %, 76 % and 60 %, respectively. By considering the assays cost as the sole variable, the best testing algorithm for diagnosing HIV-1/HTLV-coinfection in HIV-1 infected patient was the use of PCR followed by LIA technique.

**Keywords.** HTLV-1/2, diagnosis, serology, PCR, HIV-1/HTLV-coinfection, algorithm tests.

## INTRODUÇÃO

Os vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 e 2 (HTLV-1 e HTLV-2) foram os primeiros retrovírus humanos a serem descritos, seguido do vírus da imunodeficiência humana (HIV-1)<sup>1-3</sup>. Por compartilharem das mesmas vias de transmissão, não é raro que ocorra a coinfeção HIV-1/HTLV. Estudos revelam que a coinfeção HIV-1/HTLV pode interferir no desenvolvimento e instalação da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (Aids), variando de acordo com o tipo viral. Na infecção conjunta HIV-1/HTLV-1; por ambos os vírus terem tropismo por linfócitos T CD4+ pode haver progressão rápida para Aids pelo fato do HTLV-1 imortalizar a célula e aumentar o número de células T CD4+ e, conseqüentemente aumentar a replicação viral de reservatórios latentes<sup>4-6</sup>. Ao mesmo tempo, valores de CD4+ elevados interferem no início do tratamento antirretroviral, pois pode levar à falsa idéia de controle da replicação viral e de doenças<sup>4</sup>. Em casos de coinfeção HIV-1/HTLV-2; pode ocorrer redução da replicação do HIV-1 e progressão lenta para a síndrome, tornando-se um fator protetor. Esta proteção tem sido relacionada à resposta imune inata e a produção de quimiocinas que se ligam ao CCR5 (co-receptor para o HIV-1), impedindo sua penetração na célula hospedeira. Este tipo de coinfeção costuma ser frequente entre usuários de drogas injetáveis (UDIs)<sup>7,8</sup>. Desta forma, faz-se necessário não só o diagnóstico da coinfeção HIV-1/HTLV, mas também o diagnóstico laboratorial final; com a diferenciação do tipo viral presente na dupla infecção.

Desde 1998, o Instituto Adolfo Lutz de São Paulo realiza a sorologia para HTLV-1/2 em amostras de sangue provenientes de Ambulatórios de Especialidades do SUS e de Centros de Referência em Aids e, desde então, relata dificuldades no diagnóstico, principalmente de infecção por HTLV-2<sup>9-16</sup>. Mesmo com as adaptações dos kits e a melhora na especificidade dos ensaios sorológicos para estas infecções virais, não existe até hoje um teste que seja 100 % sensível e específico para detectar todos os casos de infecção por HTLV-1 e principalmente por HTLV-2 no Brasil<sup>10,11,13,17-21</sup>. Desta forma, alguns problemas

como baixa sensibilidade e especificidade dos testes de triagem sorológica<sup>9-12,14,15,18</sup> e a necessidade de se reavaliar o valor do *cut off* da reação<sup>13</sup> foram encontrados. Ainda, devido ao grande número de soros com padrão indeterminado no teste confirmatório de *Western Blot* (WB), ao redor de 35 %, foi sugerida a implantação de ensaios moleculares para confirmação diagnóstica<sup>12,15,22</sup>. De fato foi proposta a utilização da PCR em vez de WB como ensaio de confirmação da infecção HTLV-1/2, mas um estudo piloto realizado com casuística de São Paulo detectou baixa sensibilidade da PCR quando aplicada em amostras de sangue provenientes de pacientes com HIV-1/Aids<sup>23</sup>. Desta forma, o presente estudo objetivou ampliar e confirmar os resultados anteriormente obtidos; comparando o desempenho dos testes sorológicos de triagem e confirmatórios disponíveis no mercado, assim como da PCR em tempo real (*pol*) para definir o melhor algoritmo de diagnóstico de infecção por HTLV-1 e HTLV-2 aplicado à população infectada pelo HIV-1/Aids.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Casuística

No período entre agosto de 2013 a maio de 2014, pacientes atendidos no Centro de Referência e Treinamento em Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids de São Paulo (CRT DST/Aids-SP) foram convidados a participar do estudo de forma aleatória de acordo com a sua ida ao laboratório para coletar amostras para os exames de rotina de contagem de linfócitos T CD4+, linfócitos T CD8+ e quantificação da Carga Viral de HIV-1. Após assinarem Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e responderem questionário tiveram seu sangue coletado em tubo contendo EDTA para a separação de plasma e células para as análises laboratoriais. O grupo de estudo compreendeu 1.608 pacientes atendidos neste Centro. No questionário houve coleta de dados sócio-demográficos, epidemiológicos, clínicos, laboratoriais e, quando necessário, foram obtidos dados complementares através do prontuário do paciente. As amostras de sangue foram encaminhadas ao Instituto Adolfo Lutz para análise.

Foram incluídos pacientes com infecção por HIV-1 confirmada segundo critérios do Ministério da Saúde, maiores de 18 anos e, que realizavam acompanhamento regular no CRT DST/Aids-SP.

### Aspectos Éticos

O projeto foi aprovado pelo Comitê Científico e Diretoria Geral do IAL (CTC # 106D/2013) e pelos Comitês de Ética das Instituições envolvidas, CEPIAL parecer 187.709, e CEP CRT, parecer 201.697, e foi cadastrado na Plataforma Brasil sob número CAAE 11302512.0.0000.0059.

### Preparo das amostras

Amostras de sangue total coletadas em tubo contendo EDTA e separadas após sedimentação espontânea em plasma e em leucócitos do sangue periférico (PBL) depois de choque hipotônico foram armazenadas em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### Sorologia

A triagem dos 1.608 plasmas para detecção de anticorpos anti-HTLV-1/2 foi realizada usando dois kits comerciais: Murex HTLV-I+II, Diasorin, UK e o Gold ELISA HTLV-I+II, REM, SP, Br (ambos de 3ª geração, contendo peptídeos sintéticos e/ou proteínas recombinantes como antígenos e conjugado). Como testes confirmatórios de *Western Blot* (WB) e imunoenensaio de linha (*Line ImmunoAssay* - LIA) foram utilizados os kits HTLV Blot 2.4, MP Biomedicals, USA e o INNO-LIA HTLV I/II, Innogenetics, Belgium. Todas as reações seguiram as instruções dos fabricantes.

### PCR em tempo real

A extração de DNA com os PBL foi realizada usando sistema robotizado da Roche (Extrator MagNA Pure LC 2.0) e o Kit MagNA Pure LC DNA isolation Kit I, Roche Diagnostics GmbH Roche Applied Science-Mannheim, Germany, conforme orientação do fabricante.

Para a PCR em tempo real qualitativa foi utilizado o sistema *Taq Man*® (Applied Biosystems, USA) de três sequências alvo: o gene da albumina humana como controle endógeno e

os genes *pol* de HTLV-1 e de HTLV-2. Os *primers* e sondas, assim como os protocolos de reação foram os descritos por Costa et al<sup>12,23</sup>.

### Análise dos dados

Após a coleta das informações, foi constituído um banco de dados utilizando o programa Epi Info versão 3.5.4 para Windows, e usado o teste do Qui-Quadrado (múltiplos grupos) ou exato de Fisher (dois grupos) para a análise das variáveis categóricas.

Para as variáveis contínuas (densidade óptica nos ensaios imunoenzimáticos) foram usados os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis (múltiplos grupos) ou Mann-Whitney (dois grupos), usando o programa estatístico GraphPad Prism 3.0. Foram consideradas associações estatisticamente significantes quando  $p \leq 0,05$ .

Para avaliação de custo/efetividade dos testes confirmatórios (WB, LIA e PCR em tempo real) foram considerados os valores de R\$ 210,00 para cada teste WB, R\$ 230,00 para cada teste LIA e R\$ 82,95 para a PCR em tempo real *pol*, tomando como base cotação de preços de julho de 2014 e avaliados diferentes algoritmos.

## RESULTADOS

As características demográficas, clínicas e laboratoriais da população coinfectada HIV-1/HTLV são apresentadas na Tabela 1. A média de idade desta população foi de 50 anos. Houve alta prevalência de hepatite B e C, sendo 44 % e 70 % dos pacientes infectados por estes vírus respectivamente. As médias de contagens de linfócitos T CD4+ e T CD8+ em  $\text{cel}/\text{mm}^3$  não mostraram diferença significativa nos grupos HIV-1/HTLV-1, HIV-1/HTLV-2 e HIV-1/HTLV.

Noventa e quatro por cento dos casos de coinfectação HIV-1/HTLV se encontravam em uso de terapia antirretroviral. Setenta por cento dos pacientes (15 HTLV-1, 17 HTLV-2 e três HTLV) apresentaram carga viral de HIV-1 abaixo do limite de detecção do teste utilizado. No entanto, quando havia vírus circulante as médias de carga viral foram baixas, sendo maior nos casos de coinfectação HTLV-1 em relação ao HTLV-2 e HTLV (Tabela 1).

**Tabela 1.** Características demográficas, clínicas e laboratoriais de pacientes coinfectados HIV-1/HTLV do CRT DST/AIDS-SP, São Paulo, Brasil

Características demográficas, clínicas e laboratoriais	HTLV-1 (n=25) <sup>a</sup>	HTLV-2 (n=21) <sup>a</sup>	HTLV (n=4) <sup>a</sup>
Idade em anos <sup>b</sup>	49,3 (28-66)	50,6 (45-68)	50,5(48-53)
<b>Gênero</b>			
Masculino	15 (60 %)	9 (52,9 %)	2 (50 %)
Feminino	10 (40 %)	12 (47,1 %)	2 (50 %)
Coinfecção HCV	17 (68 %)	15 (71,4 %)	3 (75 %)
Coinfecção HBV	12 (48 %)	9 (42,8 %)	1 (25 %)
Use de TARV	23 (92 %)	21 (100 %)	3 (75 %)
Mediana de CD4 cel/mm <sup>3</sup>	433,66 (9-1150)	520,95(65-1089)	464,5(65-944)
Mediana de CD8 cel/mm <sup>3</sup>	850,4(230-2277)	809,3(330-1737)	1210(653-2386)
Mediana de Carga Viral HIV cópias	53912,8 (<Lim-221348)	1627,66 (<Lim-2705)	225 (<Lim-900)
WB	23 (92 %)	12 (57,1 %)	3 (75 %)
LIA	24 (96 %)	20 (95,2 %)	4 (100 %)
PCR	18 (72 %)	12 (57,1 %)	2 (1 HTLV-1 e 1 HTLV-2)

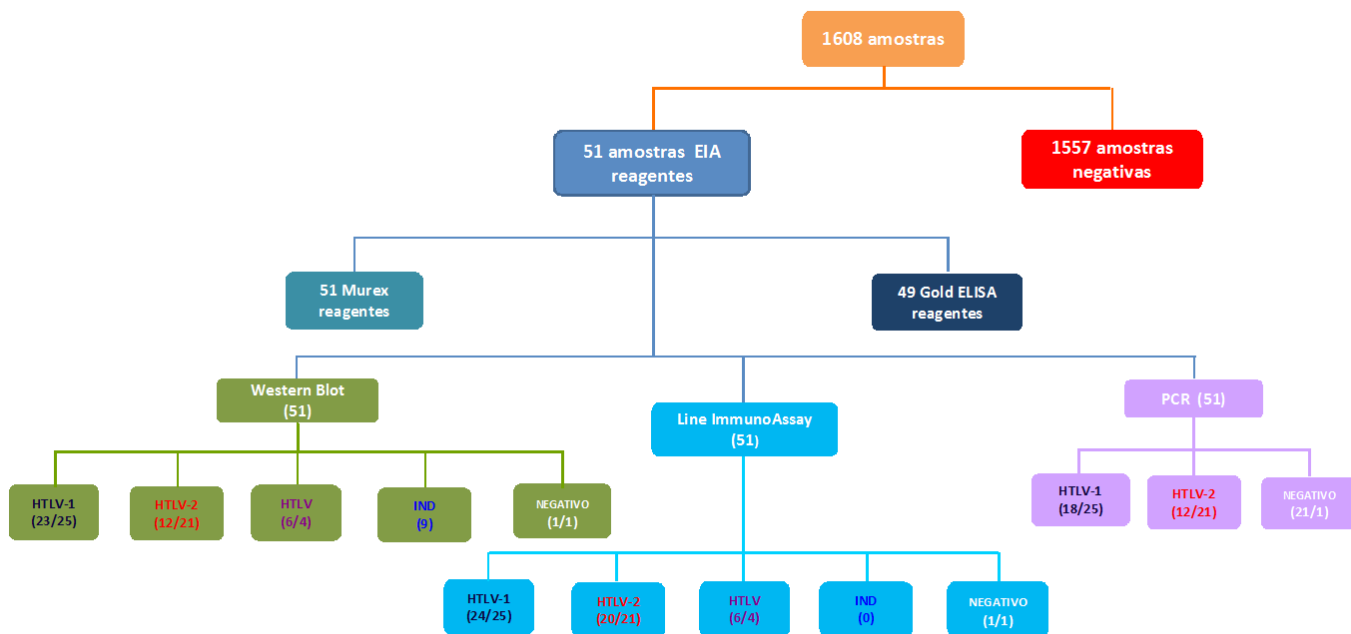
**Legenda:** <sup>a</sup>total de casos positivos para este tipo viral considerando os resultados dos três ensaios confirmatórios. <sup>b</sup>média de idade (mínima e máxima); n= número de pacientes; HCV= vírus da hepatite C; HBV= vírus da hepatite B; TARV= terapia antirretroviral; WB= *Western Blot* 2.4; LIA= *Line ImmunoAssay*; PCR= reação em cadeia da polimerase em tempo real (*pol*)

Das 1.608 amostras analisadas, os testes de triagem detectaram 51 (Murex) e 49 (Gold ELISA) plasmas reagentes.

Pelo teste de WB houve confirmação de positividade para HTLV-1 em 23 amostras, 12 HTLV-2, seis HTLV, nove mostraram perfil indeterminado e uma resultou negativa. Pelo teste

LIA, confirmou-se 24 HTLV-1, 20 HTLV-2, seis HTLV e uma negativa. Já a PCR em tempo real detectou 18 amostras positivas para HTLV-1 e 12 para HTLV-2, uma das quais o Gold ELISA havia resultado inconclusivo (DO/CO = 0,9) e duas com perfil HTLV não tipado no WB e LIA (Figura 1). Assim, o *kit* Murex mostrou-se mais sensível.

**Figura 1.** Algoritmo realizado para triagem e confirmatório da infecção pelos vírus HTLV-1/2 em pacientes HIV-1

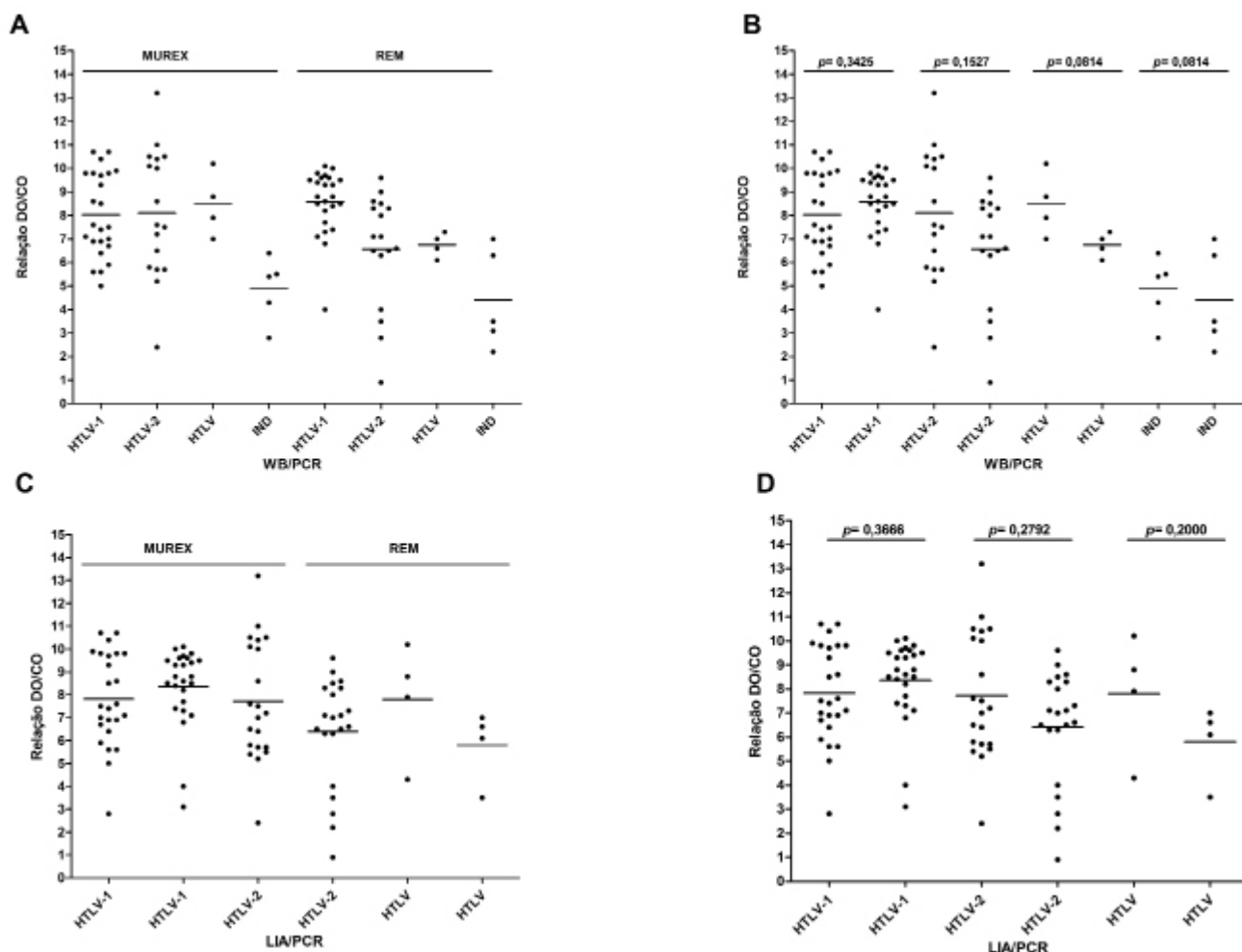


Legenda: IND (perfil indeterminado)

Uma análise mais cuidadosa dos valores da relação entre a densidade óptica sobre o valor de corte “cut off” (DO/CO) mostrou que o *kit* Gold ELISA apresentou média mais baixa nos casos de infecção por HTLV-2 quando comparada ao *kit* Murex. As médias obtidas pelos dois *kits* considerando os resultados do WB/PCR e do LIA/PCR mostraram diferença significativa para os casos de HTLV-1, HTLV-2 e HTLV ( $p = 0,0006$  e  $p = 0,025$ ), no entanto quando os *kits* Murex e Gold ELISA foram analisados de forma pareada, não houve diferença significativa (Figura 2). A sensibilidade e especificidade do *kit* Murex com esta casuística foi de 100 % e 99 %, e a do Gold ELISA de 98 % e 100 %, respectivamente.

A coinfeção por HTLV foi confirmada, considerando o resultado positivo em qualquer um dos três ensaios confirmatórios (WB, LIA ou PCR), assim, foi possível detectar a coinfeção HIV-1/HTLV em 50 pacientes: 25 HIV-1/HTLV-1 (1,55 %), 21 HIV-1/HTLV-2 (1,31 %) e quatro HIV-1/HTLV (0,25 %). As sensibilidades dos testes LIA, WB e PCR em tempo real foram de 96 %, 76 % e 60 %, respectivamente.

Em relação ao custo-benefício os possíveis algoritmos de testes confirmatórios de infecção por HTLV-1/2 estão representados na Tabela 2, onde o algoritmo C (que usa a PCR como primeiro teste confirmatório) apresentou menor custo, embora a melhor eficiência tenha sido do LIA (algoritmo B).



**Figura 2.** Resultados de DO/CO obtidos com os kits Murex e Gold ELISA dos casos de coinfeção HIV-1/HTLV em relação aos resultados de WB e PCR em tempo real *pol* para HTLV-1 e HTLV-2 [A e B] e em relação aos resultados de LIA e PCR em tempo real *pol* para HTLV-1 e HTLV-2 [C e D] usando GraphPad Prism e os programas estatísticos de Kruskal-Wallis ANOVA [A e C] ( $p = 0,0006$  e  $p = 0,025$  respectivamente) e Mann-Whitney U-test [B e D]

**Tabela 2.** Relação custo-benefício de algoritmos de testes confirmatórios de infecção por HTLV-1 e HTLV-2 utilizados em pacientes infectados por HIV-1

Custo-Benefícios dos Algoritmos Aplicados a Pacientes HIV-1/Aids					
Algoritmo A		Algoritmo B		Algoritmo C	
Teste	Custo	Teste	Custo	Teste	Custo
Western Blot (n=51)	R\$ 10.710,00	Line ImmunoAssay (n=51)	R\$ 11.730,00	PCR em tempo real (n=51)	R\$ 4.230,45
PCR em tempo real (n=16)	R\$ 1.327,20	PCR em tempo real (n=6)	R\$ 497,70	Line ImmunoAssay (n=21)	R\$ 4.830,00
<b>Custo total</b>	<b>R\$ 22.313,78</b>		<b>R\$ 12.227,70</b>		<b>R\$ 9.060,45</b>

**Legenda.** Algoritmo A: sequência de ensaios confirmatórios utilizados atualmente no diagnóstico da infecção por HTLV1/2 no Instituto Adolfo Lutz; Algoritmo B: melhor algoritmo confirmatório indicado para o diagnóstico de HTLV1/2 em população HIV/Aids; Algoritmo C: sugestão de algoritmo a ser aplicado visando apenas menor custo em laboratórios com estrutura para realizar ensaios de biologia molecular; Western Blot (HTLV Blot 2.4); Line ImmunoAssay (INNO-LIA HTLV I/II); PCR em tempo real *pol* (Costa et al, 2011)

## DISCUSSÃO

Diante das diversas modificações no formato e composição dos *kits* de triagem para diagnóstico da infecção por HTLV-1/2; em que os de segunda geração eram mais específicos enquanto os de terceira eram demasiadamente sensíveis, e por apenas um ensaio não ser 100 % sensível para detectar todas as amostras realmente infectadas<sup>14-16</sup>, o algoritmo adotado no Instituto Adolfo Lutz consistia na triagem por dois ensaios imunoenzimáticos (um de segunda e outro de terceira geração). No entanto, atualmente só são comercializados *kits* de terceira geração (formato sanduíche e com antígenos recombinantes). Desta forma, o presente estudo avaliou dois *kits* disponíveis no mercado, um de procedência nacional (Gold ELISA) e outro importado (Murex) com o intuito de verificar se os dois *kits* teriam um bom desempenho e conseqüentemente qualquer um dos dois poderia ser utilizado para rotina diagnóstica. Como apresentado na Figura 2, não houve diferença significativa entre as DO/CO obtidas em ambos os testes  $p > 0,05$ , apesar de o Gold ELISA resultar inconclusivo em um caso positivo para HTLV-2. Entretanto, quando este *kit* for aplicado à rotina diagnóstica, deve-se considerar a zona cinza. Este fato reforça as dificuldades já descritas em estudos anteriores encontradas para o diagnóstico de HTLV-2 em pacientes coinfectados por HIV-1<sup>13</sup>.

Não há um consenso em relação ao ensaio confirmatório a ser utilizado, conferindo assim, ausência de um padrão ouro para o diagnóstico desta infecção. Desta forma, o WB ainda é o teste confirmatório mais utilizado em todo país, devido a sua disponibilidade no mercado e por ser uma técnica que não requer uma infraestrutura muito elaborada para sua realização. Costumava apresentar um alto número de padrões indeterminados principalmente em amostras também infectadas por HIV-1<sup>15</sup>. Neste estudo observou-se que o percentual de indeterminados diminuiu para 18 % (9) sendo 89 % dos casos HTLV-2, mostrando que mesmo com as modificações ocorridas durante o passar dos anos na composição das tiras (como incorporação de glicoproteínas recombinantes

do envelope de HTLV-1 e de HTLV-2, juntamente com a proteína recombinante transmembrana GD21 compartilhada por ambos)<sup>17</sup>, elas ainda têm baixa sensibilidade para os isolados de HTLV-2 brasileiros.

Buscando esclarecer os soros com perfil indeterminado, em 2010 Costa e colaboradores<sup>12,23</sup> propuseram a utilização da PCR em tempo real como teste confirmatório de primeira escolha, seguido do WB, uma vez que o Instituto tinha estrutura implantada para um teste molecular, embora a sensibilidade da PCR tenha sido mais baixa em relação ao WB<sup>21</sup>. Estes resultados foram confirmados no presente estudo. A baixa sensibilidade da PCR foi explicada pelo uso da terapia antirretroviral, que suprimiu a carga viral de HIV-1, e, provavelmente, de HTLV, uma vez que a maioria dos pacientes (70 %) apresentou carga viral abaixo do limite de detecção; no entanto a PCR foi capaz de discriminar dois casos de infecção HTLV não tipados (um HTLV-1 e um HTLV-2) pelo WB e LIA. Não foi detectada nenhuma correlação entre os resultados da PCR e o número de células CD4 + e CD8 +. Curiosamente e corroborando os resultados obtidos, houve maior carga viral de HIV-1 nos casos de infecção por HTLV-1 do que por HTLV-2 ou HTLV não tipado e isto pode estar relacionado com evolução clínica do paciente. De fato, a coinfecção HIV-1/HTLV-2 parece desempenhar um papel protetor no desenvolvimento da Aids.

O LIA se mostrou o ensaio mais eficiente na confirmação e discriminação da infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2 e, uma hipótese é de que os antígenos dotados nas tiras de nylon podem ser mais sensíveis na detecção de anticorpos anti-HTLV-2 dos isolados brasileiros. Outro ponto relevante para ser o teste confirmatório de primeira escolha é pelo fato de não ter como requisito infraestrutura de alta complexidade, permitindo que mais LACENs realizem o diagnóstico para HTLV-1 e HTLV-2, uma vez que tenham recebido treinamento, principalmente para a leitura e interpretação dos resultados. Porém, não se pode excluir a possibilidade do LIA ter um critério menos rígido de interpretação em relação ao WB.

Analisando redução de custos e melhor desempenho, o LIA deveria ser o ensaio confirmatório de primeira escolha, pois há diminuição de 45 % dos custos com testes confirmatórios trocando o algoritmo A (utilizado atualmente), em que consiste na realização do WB e as amostras negativas e ou com perfil indeterminados seguem para a PCR em tempo real, pelo B (onde há troca do WB pelo LIA), ambos representados na Tabela 2. Mesmo apresentando valor um pouco mais alto em relação ao WB ocorre a redução, uma vez que o imunoensaio de linha mostrou maior sensibilidade e eficácia na confirmação da infecção por HTLV-1/2 na população estudada; evitando que as amostras necessitassem de um segundo teste para concluir o diagnóstico. Considerando apenas a redução de custos, o melhor algoritmo é o C; em que a PCR é o teste de primeira escolha (Tabela 2) diminuindo 26 % dos gastos em relação ao B e 59 % comparado ao algoritmo atual (A), contando que o laboratório já possua estrutura para ensaios moleculares.

Como conclusão observou-se que, em pacientes infectados pelo HIV-1, o algoritmo adotado deve considerar a zona cinza na triagem sorológica; principalmente quando se utiliza apenas um *kit* EIA. Além disso, o teste confirmatório com melhor desempenho aplicado a esta população de estudo é o imunoensaio de linha.

#### AGRADECIMENTOS

O presente estudo foi financiado pelo Ministério da Saúde/SVS/DDAHV, BRAK57 # CA 125/13; DECIT/SCTIE/MS, CNPq, FAPESP, SES-SP/SUS # 2012/51220-8; IAL # 106D/2013 e recebeu bolsas da FAPESP IC # 2013/19775-2; TT3 # 2013/21014-0, TT3 # 2014/15845-9 e CNPq PD # 303545/2012-7.

A Terezinha Pereira de Araujo e Lúcia Cupertino Barreto pela recepção das amostras e cadastramento no SIGH, ao Alonso Fernandes pelo apoio técnico nas extrações de DNA e a Elisabete Amorim Leandro Lima e Márcia Maria Gonçalves Ribeiro pelo auxílio na prestação de contas junto as Agências de Fomento.

#### REFERÊNCIAS

1. Gallo RC, Sliski A, Wong-Staal F. Origin of human T-cell leukaemia-lymphoma virus. *Lancet*. 1983; 322(8356): 962-3. doi:10.1016/S0140-6736(83)90471-3
2. Kalyanaraman VS, Sarngadharan MG, Robert-Guroff M, Miyoshi I, Golde D, Gallo RC. A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II) associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia. *Science*. 1982; 218(4572): 571-3. doi: 10.1126/science.6981847.
3. Poesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, Bunn PA, Minna JD, Gallo RC. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1980; 77(12): 7415-9.
4. Brites C, Sampaio J, Oliveira A. HIV-1/Human T-cell lymphotropic virus coinfection revisited: impact on AIDS progression. *AIDS Rev*. 2009; 11(1): 8-16. doi: 10.1086/595013
5. Moriuchi H, Moriuchi M, Fauci A. Factors secreted by human T lymphotropic virus type I (HTLV-I)-infected cells can enhance or inhibit replication of HIV-1 in HTLV-I-uninfected cells: implications for in vivo coinfection with HTLV-I and HIV-1. *J Exp Med*. 1998; 187(10): 1689-97.
6. Moriuchi H, Moriuchi M. In vitro induction of HIV-1 replication in resting CD4+ T cells derived from individuals with undetectable plasma viremia upon stimulation with human T-cell leukemia virus type I. *Virology*. 2000; 278(2): 514-9. doi:10.1006/viro.2000.0684
7. Bagheri F, Patel K, Samourjian E, Pathak N, Shamalov V, Gintautas J et al. Further evidence that HTLV protects against HIV-1 progression. *Infect Med J*. 2008; 1-5.
8. Roucoux DF, Murphy EL. The epidemiology and disease outcomes of human T-lymphotropic virus type II. *AIDS Rev*. 2004; 6(3): 144-54.
9. Caterino-de-Araujo A, Santos-Fortuna E, Meleiro MCZ, Suleiman J, Calabro ML, Favero A et al. Sensitivity of two ELISA tests in relation to Western blot in detecting HTLV-I and HTLV-II infection among HIV-1-infected patients from São Paulo, Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1998; 30(3): 173-82. doi:10.1016/S0732-8893(97)00236-8
10. Caterino-de-Araujo A. Best screening assays for the diagnosis of human T-cell lymphotropic virus types 1 and 2 in South America. *J Virol Methods*. 2008; 156(1-2): 150-1. doi: 10.1016/j.jviromet.2008.10.003.



11. Caterino-de-Araujo A. Diagnóstico de infecção por vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 (HTLV-1) e -2 (HTLV-2) em população de risco: passado, presente e futuro. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2009; 68(2): 182-6.
12. Costa EAS. Introdução da reação em cadeia da polimerase em tempo real no algoritmo de testes laboratoriais para o diagnóstico de infecção por HTLV-1 e HTLV-2 [dissertação]. São Paulo (SP): Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde, 2010. 101pp.
13. Jacob F, Magri MC, Costa EAS, Santos-Fortuna E, Caterino-de Araujo A. Comparison of signal-to-cutoff values in first, second, and third generation enzyme immunoassays for the diagnosis of HTLV-1/2 infection in "at-risk" individuals from São Paulo, Brazil. *J Virol Methods*. 2009; 159(2): 288-90. doi: 10.1016/j.jviromet.2009.03.024.
14. Jacob F, Santos-Fortuna E, Azevedo RS, Caterino-de-Araujo A. Performances of HTLV serological tests in diagnosing HTLV infection in high-risk population of São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 2007; 49(6): 361-4. <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652007000600005>
15. Jacob F, Santos-Fortuna E, Azevedo RS, Caterino-de-Araujo A. Serological patterns and temporal trends of HTLV-1/2 infection in high-risk populations attending Public Health Units in São Paulo, Brazil. *J Clin Virol*. 2008; 42(2): 149-55. doi: 10.1016/j.jcv.2008.01.017.
16. Jacob F, Santos-Fortuna E, Caterino-de-Araujo A. Algoritmo de testes sorológicos de triagem para infecção por HTLV-1/2 usado no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo. *BEPA*. 2008; 5:12-8.
17. Costa JMP, Costa EAS, Segurado AAC. Infecção por HTLV-I e HTLV-II. In: Ferreira AW, Moraes SL. *Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Autoimunes*. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013. p.120-34.
18. Caterino-de-Araujo A. Diagnóstico sorológico e molecular do HTLV-1 e HTLV-2. Experiência de um Laboratório de Saúde Pública do Brasil. *Rev Cienc Med PE*. 2011; 7(2): 123-7.
19. Ishaki R, Vallinoto ACR, Azevedo VN, Vicente ACP, Hall WW, Ishaki MOG. Molecular evidence for infection by HTLV-2 among individuals with negative serological screening tests for HTLV antibodies. *Epidemiol Infect*. 2007; 135(4): 604-9. doi: 10.1017/S0950268806006984.
20. Berini CA, Pascuccio MS, Bautista CT, Gendler SA, Eirin ME, Rodriguez C et al. Comparison of four commercial screening assays for the diagnosis of human T-cell Lymphotropic virus types 1 and 2. *J. Virol. Methods*. 2008; 147(2): 322-7. doi:10.1016/j.jviromet.2007.09.012.
21. Bassani S, Toro C, Jiménez V, Rodés B, Soriano V. Can the level of Immunosuppression in Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients Affect the Reliability of Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 2 Serological Diagnosis? *Clin Vaccine Immunol*. 2006; 13(1): 160-1. doi: 10.1128/CVI.13.1.160-161.2006.
22. Morimoto HK, Morimoto AA, Reiche EMV, Ueda LT, Matsuo T, Reice FV et al. Difficulties in the diagnosis of HTLV-2 infection in HIV-1/AIDS patients from Brazil: Comparative performances of serologic and molecular assays, and detection of HTLV-2b subtype. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 2007; 49(4): 225-30. <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652007000400006>
23. Costa EAS, Magri MC, Caterino-Araujo A. The best algorithm to confirm the diagnosis of HTLV-1 and HTLV-2 in at-risk individuals from São Paulo, Brazil. *J Virol Methods*. 2011; 173(2): 280-6. doi: 10.1016/j.jviromet.2011.02.018