

ARTIGO ORIGINAL

Diagnóstico sorológico da infecção por HIV/aids no Brasil

Márcia Jorge Castejon^[1] , Celso Francisco Hernandes Granato^[2] , Carmem Aparecida de Freitas Oliveira^[1] 

^[1]Centro de Imunologia | Instituto Adolfo Lutz | Coordenadoria de Controle de Doenças | Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo-SP, Brasil

^[2]Diretoria Clínica | Grupo Fleury. São Paulo-SP, Brasil

Autor para correspondência:

Márcia Jorge Castejon

E-mail: marcia.castejon@ial.sp.gov.br

Telefone (11) 3068-2886

Instituição: CI | IAL | CCD/SES-SP

Endereço: Av. Dr. Arnaldo, 351, 10º andar. Cerqueira César. CEP: 01246-000. São Paulo-SP, Brasil.

Diagnóstico sorológico da infecção por HIV/aids no Brasil

Castejon MJ, Granato CFH, Oliveira CAF

RESUMO

O teste imunoenzimático do tipo ELISA foi comercializado no Brasil logo após ser anunciado nos EUA e Europa, sendo imediatamente utilizado em vários laboratórios públicos e privados. Tecnologias mais recentes para a testagem de HIV, como a de quarta geração, que detecta anticorpos anti-HIV e o antígeno p24, e os testes baseados em ácido nucleico reduziram o intervalo entre a infecção e a detecção da doença. Esta breve revisão narrativa se propõe a apresentar os diferentes fluxogramas de testes para diagnóstico do HIV utilizados nacionalmente, desde os ensaios baseados apenas em anticorpos anti-HIV até os novos fluxogramas em que foram incluídos os testes moleculares. Até 1998, as autoridades sanitárias brasileiras ainda não haviam normatizado um algoritmo para a realização do diagnóstico da infecção pelo HIV. Desde então, diferentes algoritmos de testagem foram preconizados pelo Ministério da Saúde e seguidos pelos laboratórios. Considerando os diferentes cenários em que o diagnóstico do HIV tem sido realizado, há necessidade de avaliações frequentes dos ensaios, visto que a qualidade dos resultados pode ser influenciada por diversos fatores biológicos do hospedeiro e do agente.

PALAVRAS-CHAVE: infecções por HIV; sorodiagnóstico da aids, anticorpos anti-HIV, imunoensaio, soroconversão.

ABSTRACT

After being announced in the US and Europe, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for HIV screening was marketed in Brazil and was immediately put to use in several public and private laboratories. Newer technologies for HIV testing, such as those in the fourth generation, which detect anti-HIV antibodies and the p24 antigen, and nucleic acid-based tests have all shortened the interval between infection and disease markers detection. This brief narrative review intends to present the different HIV diagnostic test flowcharts used nationally in Brazil, from assays based only on anti-HIV antibodies to new flowcharts in which molecular tests have been included. Until 1998, Brazilian health authorities had not yet standardized an algorithm for diagnosing the HIV infection. Since then, different testing algorithms have been recommended by the Ministry of Health and these recommendations have been followed by laboratories. Considering the different scenarios in which the diagnosis of HIV has been performed, there is a need for frequent evaluation of the assays, since the quality of the results can be influenced by several biological factors of the host and the agent.

KEYWORDS: HIV infections, AIDS serodiagnosis, HIV antibodies, immunoassay, seroconversion.

INTRODUÇÃO

A identificação, em 1981, da síndrome da imunodeficiência adquirida, habitualmente conhecida como aids, tornou-se um marco na história da humanidade. A epidemia da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e da aids representa fenômeno global, dinâmico e instável, cuja forma de ocorrência nas diferentes regiões do mundo depende, entre outros determinantes, do comportamento humano individual e coletivo.¹

Globalmente existiam em 2021 cerca de 38,4 milhões (33,9 milhões a 43,8 milhões) de pessoas vivendo com HIV, tendo sido registradas, no mesmo ano, cerca de 1,5 milhão (1,1 milhão a 2,0 milhões) de novas infecções.²

No Brasil, entre 2007 e junho de 2021, foram notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan) 381.793 casos de infecção pelo HIV. Embora se observe uma diminuição dos casos de aids em quase todo o país, principalmente nos últimos anos, cabe ressaltar que parte dessa redução pode estar relacionada à subnotificação, em virtude da mobilização local dos profissionais de saúde em torno da pandemia de COVID-19.³

A importância da realização periódica de testes, como estratégia de prevenção na resposta programática à epidemia de HIV/aids, tem sido assinalada no âmbito global.⁴ Os avanços tecnológicos facilitaram a expansão da testagem do HIV, com custo-efetividade e benefícios indiscutíveis tanto para a atenção básica como para a saúde pública.⁵⁻⁷ Ter acesso ao diagnóstico da infecção precocemente não apenas aumenta a expectativa de vida do indivíduo, dada pelo início do tratamento, como evita a transmissão do vírus para outras pessoas.

Os testes para diagnóstico de infecção pelo HIV evoluíram consideravelmente desde que a *Food and Drug Administration* (FDA) licenciou, nos Estados Unidos, o primeiro ensaio imunoenzimático do tipo ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), em 2 de março 1985.^{8,9} Produzido pela empresa norte-americana *Abbott Laboratories*, em Chicago (Illinois), sob a denominação “Abbott HTLV III EIA”, esse ensaio foi licenciado inicialmente para a triagem de anticorpos anti-HTLV-III (primeira denominação utilizada para o vírus causador da aids) em doadores de sangue. Sua rápida disponibilização possibilitou a proteção de inúmeros indivíduos contra a infecção pelo HIV transmitida pela transfusão de sangue e hemoderivados.⁹⁻¹¹ Três meses após, outras empresas dos Estados Unidos também anunciaram seus testes e, em 1987,¹² o primeiro ensaio de Western blot (WB) para confirmar a infecção pelo HIV foi aprovado.⁹ Desde então, a qualidade desses testes tem sido cada vez mais aprimorada, com métodos que detectam a infecção mais precocemente e produzem resultados com maior rapidez.^{9,11}

A compreensão detalhada da estrutura do vírus, de como a infecção se estabelece e as causas da aids, é crucial não apenas para identificar e desenvolver novos medicamentos e vacinas eficazes, mas também para definir estratégias para o diagnóstico laboratorial da infecção. O teste de HIV é um passo crítico que permite controlar sua disseminação na população. Por isso, as estratégias de diagnóstico laboratorial devem ser continuamente revisadas de acordo com as novas descobertas sobre as características de replicação e os mecanismos patogênicos da infecção.¹³

Diferentes metodologias têm sido utilizadas para detecção de marcadores laboratoriais na infecção por HIV/aids, como: a determinação de anticorpos específicos e antígeno p24 circulantes, carga viral, genotipagem, resistência a drogas e ensaios de infecção recente.¹⁴⁻¹⁹ No Brasil, esses ensaios têm sido conduzidos por redes laboratoriais específicas.

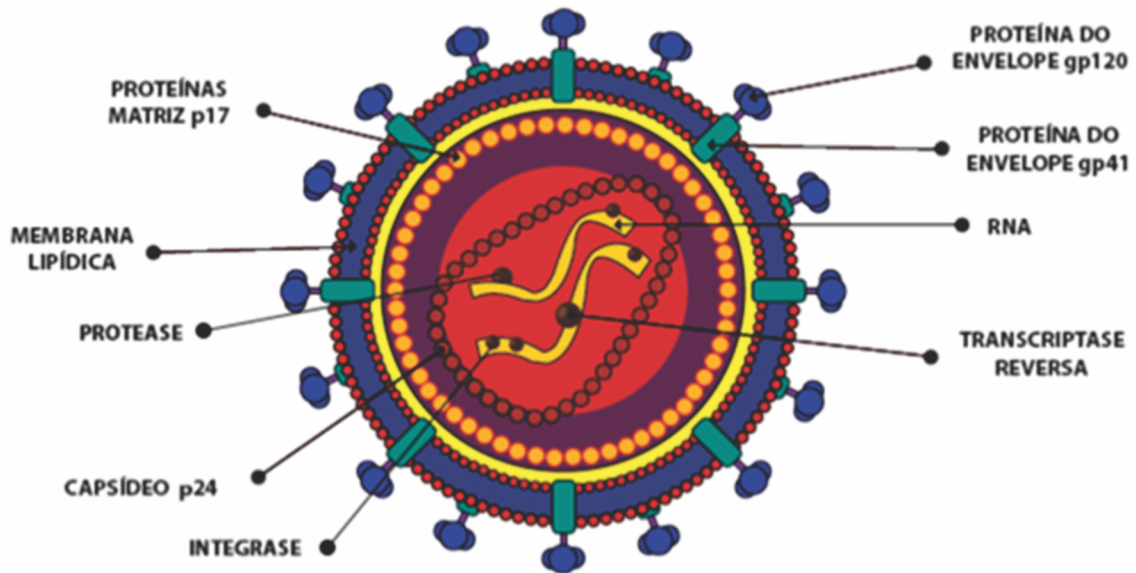
O levantamento bibliográfico foi realizado considerando-se o período de 1986 a 2021, em cinco bases de dados — PubMed, Medline, Web of Science, SciELO e LILACS, com os seguintes descritores — HIV, aids, imunoenaios, soroconversão, anticorpos anti-HIV. Esta breve revisão narrativa propõe-se a apresentar os diferentes fluxogramas de testes para diagnóstico da infecção utilizados no país, desde os ensaios baseados somente em anticorpos anti-HIV até os novos fluxogramas em que foram incluídos os testes moleculares, contextualizando seu emprego e resultados obtidos. Este trabalho também alerta para a existência de vários marcadores do vírus e do hospedeiro durante o curso da infecção que podem ser monitorados e utilizados para identificá-los. A cinética e o tempo de aparecimento dos marcadores são bastante consistentes entre os diferentes indivíduos e devem ser levados em consideração na escolha de um teste diagnóstico.

HISTÓRICO

O HIV pertence à família *Retroviridae*, subfamília *Lentivirinae*. Os retrovírus são vírus envelopados que armazenam seu material genético na forma de ácido ribonucleico (RNA)^{20,21} (Figura 1). Eles frequentemente induzem efeitos citopáticos em células infectadas e compartilham uma característica biológica distinta: um estágio inicial de infecção primária, seguido por um período relativamente assintomático, que pode durar de meses a anos, seguido de um estágio de doença evidente.²² Como todos os vírus, o HIV pode se replicar apenas dentro das células, onde ele passa a comandar a maquinaria para sua replicação.²³ A infecção inicia-se pelo reconhecimento de proteínas virais por receptores presentes na superfície das células-alvo.¹⁹ Uma vez na célula infectada, o vírus precisa converter seu RNA em ácido desoxirribonucleico (DNA) por meio do processo de transcrição reversa, catalisado pela enzima retroviral transcriptase reversa.²⁴ Essa enzima transcreve uma molécula de RNA viral de fita simples em DNA viral complementar (cDNA), que pode então ser inserido no genoma

do hospedeiro durante o processo de integração, que depende da enzima retroviral integrase, bem como de cofatores celulares do hospedeiro. Após a adição bem-sucedida de cDNA viral ao genoma do hospedeiro (provírus), a replicação viral pode ser iniciada.^{21,23,25}

Figura 1. Estrutura básica do HIV.



Legenda: gp: glicoproteína; p: proteína; RNA: ácido ribonucleico.

Fonte: https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/diagnostico_hiv_2014.pdf

Até 1986 acreditava-se que o vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) era o único agente causador da aids, quando um segundo tipo, o HIV-2, foi isolado.²⁶ É a ampla variabilidade genética que faz com que o HIV seja classificado nesses dois tipos principais, em diversos subtipos, formas recombinantes circulantes (CRF – *circulating recombinant forms*) e formas recombinantes únicas (URF – *unique recombinant forms*). Essa diversidade viral tem impacto no diagnóstico, monitoramento, terapia e desenvolvimento de vacinas.²⁷

Uma vez que a infecção pelo HIV tenha ocorrido, os marcadores na corrente sanguínea do indivíduo são detectados em ordem cronológica: RNA, antígeno p24 e anticorpos. Nesse contexto, os testes para sua detecção são realizados em conjunto para produzir resultados altamente precisos e confiáveis, divididos em duas categorias: testes de triagem (alto grau de sensibilidade), projetados para detectar todos os indivíduos infectados e ensaios confirmatórios (alta especificidade) para diferenciar as amostras falsamente reativas na triagem daquelas que são realmente de indivíduos infectados.²⁸

Resultados falso-negativos em ensaios de triagem de anticorpos anti-HIV também podem ocorrer e ser atribuídos ao período de janela imunológica, ou seja, antes do desenvolvimento dos anticorpos específicos para HIV. Além disso, outras causas de falhas podem ocorrer, como limitações do próprio ensaio (sensibilidade e especificidade); fatores relacionados a equipamentos/insumos (armazenamento inadequado de reagentes e falta de calibração ou de manutenção dos equipamentos) e utilização de algoritmos subótimos para o diagnóstico. Essas falhas também são passíveis de ocorrer em pacientes que iniciaram precocemente a terapia antirretroviral (TARV), que pode levar ao desenvolvimento de resposta incompleta de anticorpos em função da supressão virológica e subsequente falta de antígeno.²⁸⁻³¹

TRATAMENTO

A infecção pelo HIV tem sido considerada de caráter crônico evolutivo e potencialmente controlável, desde o surgimento da terapia antirretroviral e da disponibilização de marcadores biológicos para o monitoramento de sua progressão.³²

O acesso universal e gratuito à TARV, com início no Brasil em 1996, causou notável impacto na morbidade e mortalidade pela aids.³³

Atualmente, a recomendação é iniciar a terapia o mais rápido possível, após o diagnóstico da infecção. Essa abordagem minimiza o risco de transmissão, preserva o sistema imune, interrompe a propagação de reservatórios latentes e retarda a progressão da doença.³⁴⁻³⁷

DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO HIV

Dependendo do objetivo do teste diferentes algoritmos são utilizados. Para triagem de doadores de sangue, tecidos e órgãos e estudos epidemiológicos, por exemplo, é recomendado um algoritmo altamente sensível para detecção de anticorpos anti-HIV. Quando se trata de diagnóstico clínico, um resultado positivo no teste de triagem, altamente sensível, deve ser seguido por uma investigação adicional, o teste confirmatório. De qualquer forma, passou-se a requer um teste/procedimento confirmatório.

Em 1989, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), nos EUA, publicou as diretrizes para o sorodiagnóstico de infecções pelo HIV-1. Amostras de soro repetidamente reagentes no ensaio imunoenzimático para detecção de anticorpos anti-HIV foram então submetidas a um teste suplementar mais específico, o WB para HIV-1. Em 1992, com a recomendação de testes de triagem

para detecção simultânea de anticorpos anti-HIV-1 e anti-HIV-2, o WB para HIV-2 foi introduzido como ensaio confirmatório. Em novembro de 2002, o teste rápido para HIV-1 foi aprovado para auxiliar no diagnóstico da infecção em locais de atendimento. Diante de resultados reagentes foi preciso descrever protocolos para confirmação dos testes rápidos.^{34,38-40}

Nesse contexto, o algoritmo de testes teve como objetivo melhorar a precisão do diagnóstico. A melhoria contínua dos testes diagnósticos tem sido consequência dos grandes avanços no conhecimento dos mecanismos imunológicos e patogênicos da infecção e da interação vírus/hospedeiro obtidos nas pesquisas sobre HIV/aids. As descobertas dos mecanismos de replicação do vírus, bem como de resposta imune do indivíduo infectado durante todo o curso da doença, têm sido fundamentais para desenvolver testes capazes de detectar tanto anticorpos específicos quanto antígeno e ácido nucléico do HIV.⁹ Assim, a evolução tecnológica tem proporcionado maior sensibilidade e especificidade aos testes.

Cerca de três a quatro anos depois das primeiras descrições da aids (1981), seu agente causador foi cultivado, o que levou ao desenvolvimento e produção de testes que ajudaram os profissionais de saúde a identificar pessoas vivendo com o vírus.⁴¹ Com isso sucederam-se quatro gerações de imunoenaios, definidas de acordo com a evolução das metodologias empregadas, desde o primeiro ensaio disponível comercialmente no ano de 1985.^{28,42}

Os ensaios para detecção de anticorpos anti-HIV de primeira geração empregam antígenos purificados de “vírus inteiros” (lisado viral), obtidos de culturas de células. A detecção de anticorpos (apenas da classe de imunoglobulinas G – IgG) ligados a antígenos do HIV utiliza-se de uma abordagem “indireta”.^{11,42} A alta sensibilidade, embora útil para proteger o suprimento de sangue, pode gerar resultados falso-positivos, principalmente quando testados em indivíduos de baixo risco.⁴³ Com isso, logo se observou a necessidade de exames complementares para confirmar a infecção pelo HIV,¹² como os de WB e de imunofluorescência indireta (IFI).⁴³

Desenvolvidos no final da década de 1980, os testes de segunda geração também detectam IgG em formato indireto, mas utilizam antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos derivados de proteínas estruturais do HIV para melhorar a especificidade.^{42, 43} Com a descoberta do tipo 2, foram desenvolvidos ensaios de detecção simultânea para os anticorpos anti-HIV-1 e anti-HIV-2.⁴⁴ Assim, o ensaio de confirmatório para HIV-2 foi adicionado ao algoritmo de testes.⁴³

O imunoensaio que chegou ao mercado em seguida, o de terceira geração, tem formato “sanduíche” (ou imunométrico) e detecta imunoglobulinas das classes IgG e IgM. Utiliza peptídeos sintéticos e proteínas recombinantes como antígenos tanto na fase sólida quanto sob a forma de conjugado. Usados em vários países desde a década de 1990, os imunoenaios de quarta geração,

em formato “sanduiche”, possibilitam a detecção combinada de antígeno (p24) e de anticorpos (IgG e IgM). E, também, incluem vários ensaios que discriminam a reatividade do antígeno p24 e do anticorpo.^{42,45}

Na virada para o terceiro milênio, o mundo testemunhou uma revolução no diagnóstico da infecção pelo HIV com os testes rápidos (TR).¹² Eles são imunoenaios simples (imunocromatográficos), com resultados em até 30 minutos, realizados prioritariamente de forma presencial em ambiente não laboratorial (*point-of-care*). Existem vários formatos de testes rápidos, os mais utilizados com maior frequência são os dispositivos (ou tiras) de imunocromatografia de fluxo lateral, a imunocromatografia de duplo percurso (DPP) e a imunocorcentração.^{11,42} A maioria detecta HIV-1 e HIV-2; os TR de quarta geração podem diferenciar a reatividade entre o antígeno e o anticorpo.

Os ensaios complementares (confirmatórios), realizados somente em amostras reagentes nos testes de triagem, utilizam diferentes formatos e princípios – WB, imunoblot (IB), incluindo o imunoblot rápido (IBR) e IFI – são menos sensíveis que os imunoenaios de terceira e quarta geração. Em casos de reatividade nos ensaios de quarta geração por detecção do antígeno p24 e ausência de anticorpos específicos do HIV circulantes (“janela sorológica”), a viremia pode ser detectável pela presença do RNA ou do antígeno p24.¹¹ Por isso, os testes moleculares também foram incluídos nos algoritmos como complementares, uma vez que auxiliam no esclarecimento dos resultados da infecção aguda pelo HIV.⁴⁰

DIAGNÓSTICO DO HIV NO BRASIL

A expansão da epidemia de aids levou à necessidade de realização de exames sorológicos para o diagnóstico da infecção pelo HIV em um número crescente de pessoas. No Brasil, o teste imunoenzimático do tipo ELISA foi comercializado logo após ser anunciado nos Estados Unidos e Europa, sendo imediatamente utilizado por vários laboratórios públicos e privados na investigação de casos suspeitos de infecção pelo HIV, bem como para determinar a prevalência do vírus em diferentes grupos populacionais.^{12,46}

Em 1987, tornou-se nacionalmente obrigatória a testagem de anticorpos anti-HIV em bancos de sangue para triagem de doadores, com o propósito de evitar a transmissão do vírus aos receptores de transfusão sanguínea.^{12,46,47} No entanto, não eram obrigatórios testes confirmatórios com finalidade diagnóstica aos pacientes com sorologia reagente na triagem.^{12,47} Entre os anos de 1987 e 1989, foi estimulada a criação do Centro de Orientação e Apoio Sorológico (COAS), posteriormente denominado de Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA), para oferecer aos indivíduos a possibilidade de conhecer seu *status* sorológico para HIV em base gratuita, confidencial e anônima.^{46,48}

Até 1998 as autoridades sanitárias nacionais não haviam normatizado o modo como, em termos de algoritmos ou fluxogramas de testes, seria realizado o diagnóstico da infecção pelo HIV no país.¹² Assim, as orientações norte-americanas, também endossadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS), foram seguidas pela maioria, senão a totalidade, dos laboratórios brasileiros.¹² Nesse modelo, o ELISA foi o de escolha para a triagem inicial, mas sob uma dicotomia importante quanto ao uso de testes confirmatórios. Na rede pública, o Ministério da Saúde (MS) passou a produzir, por meio do Laboratório de Reativos de Bio-Manguinhos, da Fundação Osvaldo Cruz (Fiocruz), o teste de IFI para HIV-1 que, comparado ao WB, tinha baixo custo.¹²

Então, surgiram vários casos de resultados falso-positivos na triagem para detecção de anticorpos anti-HIV, que posteriormente não eram submetidos aos testes confirmatórios. Como uma consequência a esses fatos, em junho de 1998 o Ministério da Saúde editou a Portaria SVS/MS 488/1998, que regula o processo diagnóstico da infecção pelo HIV em indivíduos com idade acima de 2 anos através de fluxograma de testes sequenciais, com vistas a maximizar o grau de confiabilidade dos resultados desses testes em amostras de soro ou plasma.^{12,49} Com relação às crianças menores de 2 anos, a sorologia não pode ser utilizada para o estabelecimento desse diagnóstico em função da transferência passiva de anticorpos de mães soropositivas, que podem ser detectados no sangue da criança por até dois anos após o nascimento. Em 2000, a Coordenação Nacional de DST e Aids/MS publicou um fluxograma no qual foi regulamentado o uso da carga viral (CV) para o HIV (método quantitativo), no diagnóstico da infecção em crianças nessa faixa etária.⁵⁰

Para a detecção de anticorpos anti-HIV foram adotados obrigatoriamente, os procedimentos sequenciados em unidades hemoterápicas e em laboratórios de análises clínicas, públicos e privados.⁴⁹ Eram utilizados dois testes de triagem distintos na primeira etapa (Etapa I) de testes sequenciais; na Etapa II, a IFI era empregada nas amostras com resultados reagentes ou discordantes nos testes realizados concomitantemente na Etapa I. Por fim, em uma terceira etapa (Etapa III), era utilizado o ensaio de WB em amostra com resultado não reagente ou indeterminado na IFI ou quando não pudesse ser realizada a Etapa II.

Após cinco anos de vigência dessa portaria e o aprimoramento dos testes de triagem, entrou em vigor a Portaria GM/MS nº 59, de 28 de janeiro de 2003,⁵¹ que modificou o fluxograma proposto previamente. A testagem inicial (Etapa I) deixou de realizar dois testes paralelos de triagem, havendo uma redução significativa no custo total do diagnóstico.¹² Além da IFI, a Etapa II passou a permitir a utilização de um ensaio do tipo IB. Essa revisão não alterou o fluxo da Etapa III, exceto pelo critério de interpretação do ensaio de WB, o qual deveria seguir as instruções do fabricante do conjunto diagnóstico.

Em meados dos anos 2000, o surgimento dos testes rápidos causou grande evolução no diagnóstico da infecção pelo HIV.⁴⁷ No Brasil, a utilização dos TR teve início com a triagem de gestantes, que não haviam sido previamente testadas para o vírus, conforme as recomendações para profilaxia da transmissão materno-infantil. Porém, os resultados obtidos nesses testes eram presuntivos, necessitando o encaminhamento de uma amostra de sangue ao laboratório para esclarecimento do diagnóstico.⁴⁷

Na busca por alternativas que ampliassem o acesso ao diagnóstico da infecção pelo HIV para conhecimento do *status* sorológico de indivíduos infectados, principalmente nos locais do país sem rede de laboratórios, adoção de medidas para interromper a cadeia de transmissão e fornecimento de atenção adequada, o uso de TR foi regulamentado pela Portaria SVS/MS nº 34, de 28 de julho de 2005.⁵² Dois diferentes testes rápidos (TR1 e TR2) passaram a ser realizados sequencialmente e, nas amostras de sangue com resultados reagentes ou discordantes, um terceiro, o TR3, era utilizado para fechar o diagnóstico.

Com a finalidade de consolidar os algoritmos para uso em laboratório e para testagem rápida em um único documento foi publicada a Portaria SVS/MS nº 151, de 14 de outubro de 2009,⁵³ que aprovava o fluxograma mínimo para o diagnóstico laboratorial do HIV em indivíduos com idade acima de 18 meses. Esse diagnóstico passou a ser realizado em um fluxograma dividido em duas etapas: Etapa I (triagem) e Etapa II (complementar). Os testes rápidos permitiam liberar um resultado negativo com apenas o TR1, enquanto o positivo no TR1 também passava pelo TR2. Em caso de resultados discordantes nesses dois testes era necessário coletar uma nova amostra por punção venosa e submetê-la ao fluxograma laboratorial.¹² Vale ressaltar a regulamentação para a utilização de amostras de sangue coletadas em papel-filtro nos conjuntos diagnósticos desenvolvidos para essa finalidade.

Então, em 17 de dezembro de 2013 foi publicada a Portaria SVS/MS nº 29,²⁸ que regulamentava o diagnóstico da infecção pelo HIV no Brasil e aprovava a utilização do “Manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo HIV”. Esse documento descrevia os seis fluxogramas, sendo os dois primeiros (Fluxograma 1 e Fluxograma 2) para o diagnóstico por TR, enquanto os demais (Fluxograma 3, Fluxograma 4, Fluxograma 5 e Fluxograma 6) tratavam do diagnóstico laboratorial. A última edição do manual, que já passou por quatro revisões, foi publicada em 2018. O fluxograma 1 emprega dois testes rápidos (TR1 e TR2), que contêm antígenos diferentes, usados sequencialmente em amostras de sangue, as quais podem ser obtidas por punção da polpa digital ou por punção venosa (sangue total, soro ou plasma). O fluxograma 2 utiliza dois testes rápidos (TR1-FO e TR2), de antígenos diferentes, também usados em sequencia. O TR1-FO é realizado com amostra de fluido oral (FO), enquanto o TR2 utiliza amostra de sangue, a qual pode ser obtida por punção da polpa digital ou por punção venosa. O diagnóstico da infecção pelo HIV em ambiente laboratorial é realizado por meio

de testes iniciais e complementares em amostras de soro ou plasma, sendo também empregado para a confirmação diagnóstica das amostras que apresentam resultados discordantes nos TR dos fluxogramas 1 e 2. Os fluxogramas 3 e 6 empregam um imunoensaio de quarta geração como teste inicial (T1), diferenciando-se na etapa complementar para amostra com resultado reagente. O teste complementar (T2) do fluxograma 3 é molecular (CV), enquanto o do fluxograma 6 é para a detecção de anticorpos (WB ou IB). Em caso de resultados discordantes entre T1 e T2, a amostra é submetida a outro teste complementar (T3). No fluxograma 3 é utilizado o WB, IB ou IBR e no fluxograma 4, teste molecular. Os fluxogramas 4 e 5 empregam como teste inicial o imunoensaio de terceira geração e como etapa complementar o fluxograma 4 assemelha-se ao fluxograma 3 (teste molecular) enquanto o fluxograma 6 ao fluxograma 5 (teste para detecção de anticorpos).²⁸ Vale ressaltar que, a IFI foi muito utilizada como teste complementar durante a primeira década da epidemia de HIV, mas foi substituída por WB e IB.²⁸ O resumo dos fluxogramas utilizados no país desde 1998 está descrito no Quadro a seguir.

Quadro 1. Fluxogramas preconizados pelo Ministério da Saúde para o diagnóstico da infecção pelo HIV no Brasil.

Portaria	Publicação	Etapa I	Etapa II	Etapa III
SVS/MS nº 488	1998	Dois testes sequenciais (imunoensaio)	IFI	WB
GM/MS nº 59	2003	Imunoensaio	IFI ou IB	WB
SVS/MS nº 34	2005	TR 1 + TR2 concomitantes	TR3	_____
SVS/MS nº 151	2009	Imunoensaio	IFI, IB ou WB	_____
		TR1	TR2	_____
		TR1 (Fluxograma 1)	TR2	_____
SVS/MS nº 29	2013	TR1 (FO) (Fluxograma 2)	TR2	_____
		Imunoensaio 4ª Geração (Fluxograma 3)	TM	IB ou WB
		Imunoensaio 3ª Geração (Fluxograma 4)	TM	IB ou WB

IFI: imunofluorescência indireta; WB: Western blot; IB: imunoblot; TR: teste rápido; FO: fluido oral; TM: teste molecular; SVS: Secretaria de Vigilância em Saúde; GM: Gabinete do Ministro; MS: Ministério da Saúde.

Nesse contexto, o algoritmo de testes para o diagnóstico sorológico da infecção pelo HIV tem sido utilizado há mais de 20 anos no país. Dado o grande número de avanços tecnológicos nos testes, o MS tem trabalhado para desenvolver novos potenciais algoritmos, seja em laboratórios ou em locais que permitam fornecer o resultado durante o período da visita do indivíduo.

Na era atual da TARV imediata e da profilaxia pré-exposição (PrEP) ou pós-exposição (PEP), o diagnóstico do HIV com confiança torna-se cada vez mais complexo. Quando utilizada de forma otimizada a terapia antirretroviral pode efetivamente controlar a replicação do vírus, prevenir o desenvolvimento da aids, prolongar a vida dos seus portadores e reduzir significativamente o risco de transmissão, com impacto na sua incidência do vírus em nível populacional.⁵⁴⁻⁵⁶

Estudos têm demonstrado que a terapia antirretroviral em uso contínuo pode modificar a evolução típica da resposta de anticorpos específicos para HIV, assim como alterar a cinética esperada dessa resposta em indivíduos que descontinuem a terapia.³⁷ A redução ou eliminação da expansão viral pelo uso da TARV na infecção aguda, abaixo do limiar necessário para evolução de uma resposta imune anti-HIV, pode ser afetada, com atraso ou bloqueio na formação de anticorpos específicos contra o vírus, que são a base para a detecção sorológica do HIV. É fundamental que os resultados dos testes baseados na detecção de anticorpos específicos ou na detecção de marcadores virológicos sejam analisados em conjunto com as condições clínicas e os dados epidemiológicos do paciente, visto que eles podem influenciar a qualidade dos resultados.^{36,57-60}

A pesquisa científica e a vigilância epidemiológica são necessárias para determinar os ensaios mais apropriados em algoritmos de testes precisos e acessíveis.⁵⁴ Alguns parâmetros biológicos, no entanto, levam a resultados de testes inconsistentes ou conflitantes e devem ser investigados³⁵. Mesmo com limitações os testes para diagnóstico da infecção continuam a desempenhar um importante papel na prevenção do HIV.⁴²

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a evolução das gerações dos testes sorológicos, foi possível fazer o diagnóstico da infecção pelo HIV de forma cada vez mais precoce, reduzindo a janela imunológica e melhorando o valor preditivo positivo e disponibilizando uma diversidade de opções no mercado. É importante ter sempre em mente que a resposta imune, incluindo a sorológica, é muito dinâmica e, se uma pessoa não preenche os critérios definidos de soropositividade, em certo momento, é fundamental que seja submetida a um seguimento sorológico depois de 15 a 30 dias. Tal medida permite observar se teria ocorrido uma “conversão sorológica” mais completa, ou não, possibilitando uma definição de seu estado sorológico mais conclusivamente.

Essa revisão narrativa mostra os diferentes cenários em que o diagnóstico do HIV tem sido realizado e reforça a necessidade de avaliações frequentes desses ensaios. Isso porque a qualidade dos resultados pode ser influenciada por diferentes fatores biológicos do hospedeiro e do agente, como uso de TARV e diversidade viral.

REFERÊNCIA

1. Brito AM, de Castilho E A, Szwarcwald CL. AIDS e infecção pelo HIV no Brasil: uma epidemia multifacetada. Rev Soc Bras Med Trop. 2001;34:207-17. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822001000200010>
2. World Health Organization. Key facts HIV [internet]. Geneva; July 2022. [acesso em: 11 ago 2022]. Disponível em: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/hq-hiv-hepatitis-and-stis-library/key-facts-hiv-2021-26july2022.pdf?sfvrsn=8f4e7c93_5
3. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico HIV/Aids 2021 [internet]. Brasília 2021. [acesso em: 10 fev 2022]. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2021/boletim-epidemiologico-hiv-aids-2021>
4. Redoschi BRL, Zucchi ME, Barros CRS, Paiva VS. Uso rotineiro do teste anti-HIV entre homens que fazem sexo com homens: do risco à prevenção. Cad Saúde Pública. 2017;33(4):e00014716. <https://doi.org/10.1590/0102-311X00014716>
5. Baggaley RF, Irvine MA, Leber W, Cambiano V, Figueroa J, McMullen H, et al. Cost-effectiveness of screening for HIV in primary care: a health economics modelling analysis. Lancet HIV. 2017;4(10):e465-e474. [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(17\)30123-6](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(17)30123-6)
6. Vermund SH. Control of HIV epidemic: improve access to testing and ART. Lancet HIV. 2017;4(12):e529-e576. [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(17\)30166-2](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(17)30166-2)
7. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CAF, Brígido LFM, Generoso IP, Veras MASM, et al. Performance of rapid tests compared to conventional tests used for HIV diagnosis. J Bras Patol Med Lab. 2018;54(6):364-71. <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20180058>
8. National Museum of American History. Abbott HTLV III EIA (Enzyme Immunoassay for the Detection of Antibody to Human T- Lymphotropic Virus Type III in Human Serum or Plasma) [internet]. Washington (DC); 1986. [acesso em: 14 jun 2022]. Disponível em: https://americanhistory.si.edu/collections/search/object/nmah_1322289
9. Branson BM. State of the art for diagnosis of HIV infection. Clin Infect Dis. 2007;45 (4):221-25. <https://doi.org/10.1086/522541>
10. Gallo RC, Montagnier L. The discovery of HIV as the cause of AIDS. N Engl J Med. 2003;349(24):2283-85. <https://doi.org/10.1056/NEJMp038194>
11. Buttò S, Suligoi B, Fanales-Belasio E, Raimondo M. Laboratory diagnostics for HIV infection. Ann Ist Super Sanità. 2010;46(1):24-33. https://doi.org/10.4415/Ann_10_01_04

12. Ferreira Junior OC, da Motta LR [internet]. Três décadas de diagnóstico de HIV: a experiência brasileira. In: Ministério da Saúde. Histórias de luta contra a aids. Brasília: Ministério da Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais; 2015:258-75. [acesso em: 5 mar 2022]. Disponível em: <https://www.ucs.br/ips2/wp-content/uploads/2020/09/Tres-Decadas-de-Diagnostico-de-HIV-A-Experiencia-Brasileira.pdf>
13. Fanales-Belasio E, Raimondo M, Suligoï B, Buttò S. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. Ann Ist Super Sanità. 2010;46(1):5-14. https://doi.org/10.4415/ANN_10_01_02
14. Centers for Disease Control. Current trends update: Serologic testing for antibody to human immunodeficiency virus. MMWR. 1988;36(52):833-45.
15. Kleinschmidt A, Matuschke A, Goebel FD, Erfle V, Hehlmann R. Serological markers as prognostic criteria for the course of HIV infection. Infection. 1991;19(2):S89-92. <https://doi.org/10.1007/BF01644474>
16. Constantine NT, Callahan JD, Watts DM. HIV testing and quality control: a guide for laboratory personnel. Durham, North Carolina, USA: Family Health International. 1991. 170 p.
17. World Health Organization. HIV testing methods. UNAIDS - Technical update [internet]. Geneva; Nov 1997. [acesso em: 5 mar 2022]. Disponível em: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/testmtu_en_0.pdf
18. World Health Organization. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. Guidelines for using HIV testing technologies in surveillance: selection, evaluation, and implementation [internet]. WHO/CDS/CSR/EDC/2001.16 UNAIDS/01.22E, 2001. [Acesso em: 5 Mar 2022]. Disponível em: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/jc602-hivsurvguidel_en_1.pdf
19. Constantine NT, Zink H. HIV testing technologies after two decades of evolution. Indian J Med Res. 2005; 121:519-38.
20. Yılmaz G. Diagnosis of HIV infection and laboratory monitoring of its therapy. J Clin Virol. 2001;21:187-96. [https://doi.org/10.1016/s1386-6532\(01\)00165-2](https://doi.org/10.1016/s1386-6532(01)00165-2)
21. Smith JA, Daniel R. Following the path of the virus: the exploitation of host DNA repair mechanisms by retroviruses. Acs Chem Biol. 2006;1(4):217-26. <https://doi.org/10.1021/cb600131q>
22. Levy JA. Human immunodeficiency viruses and the pathogenesis of AIDS. JAMA. 1989; 261(20):2997-3006. <https://doi.org/10.1001/jama.1989.03420200087044>
23. Klimas N, Koneru AO, Fletcher MA. Overview of HIV. Psychosom Med. 2008;70(5): 523-30. <https://doi.org/10.1097/PSY.0b013e31817ae69f>

24. Fuentes GM, Fay PJ, Bambara RA. Relationship between plus strand DNA synthesis removal of downstream segments of RNA by human immunodeficiency virus, murine leukemia virus and avian myeloblastoma virus reverse transcriptases. *Nucleic Acids Res.* 1996;24(9):1719-26. <https://doi.org/10.1093/nar/24.9.1719>
25. Craigie R. HIV integrase, a brief overview from chemistry to therapeutics. *J. Biol. Chem.* 2001;276(26):23213-16. <https://doi.org/10.1074/jbc.R100027200>
26. Bentsen C, McLaughlin L, Mitchell E, Ferrera C, Liska S, Myers R, et al. Performance evaluation of the Bio-Rad Laboratories GS HIV Combo Ag/Ab EIA, a 4th generation HIV assay for the simultaneous detection of HIV p24 antigen and antibodies to HIV-1 (groups M and O) and HIV-2 in human serum or plasma. *J Clin Virol.* 2011;52(Suppl 1):S57- S61. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2011.09.023>
27. Simon D, Béria JU, Tietzmann DC, de Carli R, Stein AT, Lunge VR. Prevalência de subtipos do HIV-1 em amostra de pacientes de um centro urbano no sul do Brasil. *Rev Saúde Pública.* 2010;44(6). <https://doi.org/10.1590/S0034-89102010005000039>
28. Ministério da Saúde (BR). Portaria SVS/MS nº 29, de 17 de dezembro de 2013. Aprova o manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo HIV em adultos e crianças e dá outras providências. Brasília; Diário Oficial da União. 18 dez 2013. Seção 1; 245.
29. Kassutto S, Johnston MN, Rosenberg ES. Incomplete HIV type 1 antibody evolution and seroreversion in acutely infected individuals treated with early antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis.* 2005;40(6):868-73. <https://doi.org/10.1086/428127>
30. Hare CB, Pappalardo BL, Busch MP, Karlsson AC, Phelps BH, Alexander SS, et al. Seroreversion in subjects receiving antiretroviral therapy during acute/early HIV infection. *Clin Infect Dis.* 2006;1;42(5):700-8. <https://doi.org/10.1086/500215>
31. Spivak AM, Sydnor ERM, Blankson JN, Gallant JE. Seronegative HIV-1 infection: a review of the literature. *AIDS.* 2010;24:1407-14. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32833ac65c>
32. Granjeiro A, Ferraz D, organizadores. Centros de Testagem e Aconselhamento do Brasil: desafios para a equidade e o acesso [internet]. Série Estudos pesquisa e avaliação n. 11. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e Aids; 2008 [acesso em 10 fev 2022]. Disponível em: https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/centros_testagem_aconselhamento_brasil.pdf
33. Rezende ELLF, Vasconcelos AMN, Pereira MG. Causes of death among people living with HIV/AIDS in Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2010;14(6):558-63. <https://doi.org/10.1590/S1413-86702010000600003>

34. Centers for Disease Control and Prevention. Notice to readers: Protocols for confirmation of reactive rapid HIV tests. [internet]. MMWR Weekly. 2004;53(10):221-22.[acesso em: 23 Feb 2022]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5310a7.htm>
35. Centers for Disease Control and Prevention. Technical update on HIV-1/2 differentiation assays. [internet]. 2016. [acesso em: 23 Feb 2022]. Disponível em: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/40790>
36. Manak MM, Jagodzinski LL, Shutt A, Malia JA, Leos M, Ouellette J, et al. Decreased seroreactivity in individuals initiating antiretroviral therapy during acute HIV infection. J Clin Microbiol. 2019;57(10):e00757-19. <https://doi.org/10.1128/JCM.00757-19>
37. Castejon MJ, Dordetto Priscila R, Yamashiro R, Brígido LFM, Alves A A, Oliveira CAF. Antiretroviral therapy in patient living with HIV leads negative HIV serological results. J Bras Patol Med Lab. 2021;57:1-6. <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20210057>
38. Centers for Disease Control and Prevention. Interpretation and use of the Western blot assay for serodiagnosis of human immunodeficiency virus type 1 infections. [internet]. MMWR Suppl. 1989;38(7):1-7. [acesso em: 23 fev 2022]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001431.htm>
39. O'Brien TR, George JR, Epstein JS, Holmberg SD, Schochetman G. Testing for antibodies to human immunodeficiency virus type 2 in the United States. [internet]. MMWR. Recomm Rep. 1992; 41(RR-12):1-9. [acesso em: 23 fev 2022] <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00038078.htm>
40. Branson BM, Owen SM, Wesolowski LG, Bennett B, Werner BG, Wroblewski KE, et al. Laboratory testing for the diagnosis of HIV infection: updated recommendations. [internet]. June 27 2014. [acesso em: 10 fev 2022] Disponível em: <http://dx.doi.org/10.15620/cdc.23447>
41. Guarner J. Human immunodeficiency virus: Diagnostic approach. Semin Diagn Pathol. 2017; 34(4):318-24. <https://doi.org/10.1053/j.semdp.2017.04.008>
42. Owen SM. Testing for acute HIV infection: implications for treatment as prevention. Curr Opin HIV AIDS. 2012;7(2):125-30. <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e3283506613>
43. Alexander TS. Human immunodeficiency virus diagnostic testing: 30 years of evolution. Clin Vaccine Immunol. 2016;23(4):249-53. <https://doi.org/10.1128/CVI.00053-16>
44. Nkengasong J , van Kerckhoven I, Carpels G, Vercauteren G, Piot P, van der Groen G. HIV screening and confirmation: a simplified and less expensive testing algorithm. Ann Soc Belg Med Trop. 1992;72(2):129-39.

45. Stone M, Bainbridge J, Sanchez AM, Keatinga SM, Pappasc A, Rountree W, et al. Comparison of detection limits of fourth- and fifth-generation combination HIV antigen-antibody, p24 antigen, and viral load assays on diverse HIV isolates. *J Clin Microbiol*. 2018;56(8):e02045-17. <https://doi.org/10.1128/JCM.02045-17>
46. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação Nacional de DST e Aids. Diretrizes dos Centros de Testagem e Aconselhamento (CTA): manual. Brasília; 1999. [Acesso em 24 Feb 2022] Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_cta.pdf
47. Comparini RA, da Silva ET, Pereira DCR. Estratégias de ampliação do diagnóstico da infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana no Brasil, 2015. *Com. Ciências Saúde*. 2017;28(2):158-67. <https://doi.org/10.51723/ccs.v28i02.210>
48. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. Manual de adesão ao tratamento para pessoas vivendo com HIV e aids. [internet]. Série A. Normas e manuais técnicos. Brasília; 2008. n.84. 130p. [acesso em: 24 Feb 2022]. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_adesao_tratamento_hiv.pdf
49. Ministério da Saúde (BR). Portaria SVS/MS nº 488, de 17 de junho de 1998. Padroniza, nos serviços de saúde, o conjunto de procedimentos sequenciados, com vistas a maximizar o grau de confiabilidade dos resultados dos testes para detecção de anticorpos anti-HIV, em indivíduos com idade acima de 2 anos. *Diário Oficial da União*. 18 jun 1998; Seção 1;114.
50. Okay TS, Granato CFH. O diagnóstico molecular da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV-1) em crianças entre dois e 24 meses. *Rev Ass Med Brasil*. 2000;46(4):298-99.
51. Ministério da Saúde (BR). Portaria GM/MS nº 59, de 28 de janeiro de 2003. Estabelece a padronização dos procedimentos sequenciados para detecção de anticorpos anti-HIV no diagnóstico laboratorial de infecção por HIV em indivíduos com idade acima de 2 anos. *Diário Oficial da União*. 30 jan 2003. Seção 1;22.
52. Ministério da Saúde (BR). Portaria SVS/MS nº 34, de 28 de julho de 2005. Regulamenta o uso de testes rápidos para diagnóstico da infecção pelo HIV em situações especiais. *Diário Oficial da União*. 29 jul 2005. Seção 1;145.
53. Ministério da Saúde (BR). Portaria SVS/MS nº 151, de 14 de outubro de 2009. Define o fluxograma mínimo de diagnóstico da infecção pelo HIV em indivíduos com idade acima de 18 (dezoito) meses. Brasília: *Diário Oficial da União*. 16 out 2009. Seção 1; 198.
54. Elliott T, Sanders EJ, Doherty M, Ndung'u T, Cohen M, Patel P, et al. Challenges of HIV diagnosis and management in the context of pre-exposure prophylaxis (PrEP), post-exposure prophylaxis (PEP), test and start and acute HIV infection: a scoping review. *J. Int. AIDS Soc*. 2019;22:e25419. <https://doi.org/10.1002/jia2.25419>

55. Deeks SG, Overbaugh J, Phillips A, Buchbinder S. HIV infection. *Nat Rev Dis Primers*. 2015;1:15035. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.35>
 56. Deeks SG, Lewin SR, Ross AL, Ananworanich J, Benkirane M, Cannon P, et al. International AIDS Society global scientific strategy: towards an HIV cure 2016. *Nat. Med.* 2016;22(8):839-50. <https://doi.org/10.1038/nm.4108>
 57. Bongertz V, Ouverney EP, Fernandez SC, Grinsztejn B, Veloso V, Couto-Fernandez JC, et al. Anti-human immunodeficiency virus type 1 humoral immune response and highly active antiretroviral treatment. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007;102(7):817-25. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762007005000119>
 58. Cohen MS, Chen YQ, McCauley M, Gamble T, Hosseinipour MC, Kumarasamy N, et al. Antiretroviral therapy for the prevention of HIV-1 transmission. *N Engl J Med*. 2016;375(9):830-39. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1600693>
 59. Stefic K, Novelli S, Mahjoub N, Seng R, Molina J-M, Cheneau C, et al. Nonreactive human immunodeficiency virus type 1 rapid tests after sustained viral suppression following antiretroviral therapy initiation during primary infection. *J Infect Dis*. 2018;217(11):1793-97. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy120>
 60. Stoffels K, Vanroye F, Mortier V, Debaisieux L, Delforge M-L, Depypere M, et al. Chronic and early antiretroviral therapy impact human immunodeficiency virus (HIV) serological assay sensitivity, leading to more false-negative test results in HIV diagnosis. *J Infect Dis*. 2020;222(10):1660-69. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa271>
-

Histórico

Recebimento

17/06/2022

Aprovação

27/09/2022

Publicação

18/10/2022

Como citar

Jorge Castejon M, Hernandes Granato CF, de Freitas Oliveira CA. Diagnóstico sorológico da infecção por HIV/aids no Brasil. Bepa [Internet]. 18º de outubro de 2022 [citado 30º de dezembro de 2022];19:1-39. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/BEPA182/article/view/37710>

Acesso aberto



Diagnóstico sorológico da infecção por HIV/aids no Brasil

Castejon MJ, Granato CFH, Oliveira CAF