

■ Artigo original

Diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV em travestis e mulheres transexuais no Brasil, 2019-2021

Laboratory diagnosis of HIV infection in *travestis* and transgender women in Brazil, 2019-2021

Márcia Jorge Castejon^[1], Carmem Aparecida de Freitas Oliveira^[1], Luís Fernando de Macedo Brígido^[2], Rosemeire Yamashiro^[1], Katia Cristina Bassichetto^[3], Norberto Camilo Campos^[2], Elaine Lopes de Oliveira^[1], Ana Rita Coimbra Motta Castro^[4], Inês Dourado^[5], Laio Magno^[5], Roberto José de Carvalho da Silva^[5], Maria Amélia de Sousa Mascena Veras^[3]

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

^[2]Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Coordenadoria de Controle de Doenças, Instituto Adolfo Lutz, Centro de Virologia, São Paulo, São Paulo, Brasil

^[3]Santa Casa de Misericórdia, Faculdade de Ciências Médicas, São Paulo, São Paulo, Brasil

^[4]Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil

^[5]Universidade Federal da Bahia, Instituto de Saúde Coletiva, Salvador, Bahia, Brasil

^[6]Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Coordenadoria de Controle de Doenças, Centro de Referência e Treinamento DST/AIDS-SP, São Paulo, São Paulo, Brasil

Autor para correspondência

Márcia Jorge Castejon

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

Instituição: Instituto Adolfo Lutz (IAL)

Endereço: Av. Dr. Arnaldo, 341, 10º andar, CEP : 01246-000. São Paulo, São Paulo, Brasil

Como citar

Castejon MJ, Oliveira CA de F, Brígido LF de M, Yamashiro R, Bassichetto KC, Campos NC, Oliveira EL de, Castro ARCM, Dourado I, Magno L, Silva RJ de C da, Veras MA de SM. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV em travestis e mulheres transexuais no Brasil, 2019-2021. BEPA, Bol. epidemiol. paul. 2023; 20: e38087.

doi: <https://doi.org/10.57148/bepa.2023.v.20.38087>

Primeira submissão: 16/08/2022 • Aceito para publicação: 15/02/2023 • Publicação: 30/05/2023

Editora-chefe: Regiane Cardoso de Paula

Resumo

A prevalência de HIV em travestis e mulheres transexuais (TrMT) é desproporcionalmente maior quando comparada com a população geral do Brasil. O objetivo deste estudo foi analisar – por meio de ensaios molecular e sorológicos convencionais para o diagnóstico da infecção pelo HIV – amostras de sangue de uma população TrMT de cinco capitais brasileiras que apresentaram resultado reagente em testes rápidos (TR). Um total de 435 amostras com resultado reagente em pelo menos um TR foi encaminhado ao laboratório de referência do estado de São Paulo – o Instituto Adolfo Lutz (IAL) – para que fossem analisadas, por meio de testes laboratoriais convencionais. Das amostras avaliadas, 99,3% (432/435) foram reagentes para HIV nos testes laboratoriais convencionais, e destas, 22,7% (98/432) apresentaram carga viral HIV-1 acima de 5.000 cópias/mL e 77,3% (334/432) mostraram-se reagentes em testes sorológicos (imunoensaio de quimioluminescência ou ELISA e imunoblot rápido). As três amostras restantes (0,7%) foram classificadas como “indeterminada para HIV”, com base em ensaios molecular e sorológicos convencionais. A sensibilidade analítica dos diferentes ensaios – molecular e sorológicos – utilizados neste estudo pode ter variado pela influência da imunossupressão viral do HIV-1 resultante da terapia antirretroviral (TARV). Estudos complementares são necessários para melhor entender o impacto da terapia no diagnóstico do HIV.

Palavras-chave: testes rápidos, carga viral, anticorpos anti-HIV, imunoensaio, indivíduos transgênero, terapia antirretroviral de alta atividade.

Abstract

HIV prevalence among travestis and transgender women (TrTW) is disproportionately higher when compared to the overall Brazilian population. The objective of this study was to evaluate, through conventional serological and molecular tests for the diagnosis of HIV infection, blood samples of TrTW residents of five Brazilian capitals with previous reactive HIV point-of-care rapid tests (RT). A total of 435 samples with at least one reactive HIV result on point-of-care tests were sent to the HIV reference laboratory in São Paulo State – the Adolfo Lutz Institute – for further evaluation by conventional laboratory tests. From total, 432 (99.3%) samples were reactive for HIV infection in conventional laboratory assays, comprising 98/432 (22.7%) with HIV-1 viral load over 5,000 copies/ml, and 334/432 (77.3%) reactive to serological tests (chemiluminescence immunoassay or ELISA, and rapid immunoblotting). The three remaining samples (0.7%) were classified as “indeterminate for HIV” based on conventional serological and molecular assays. Analytical sensitivity of different molecular and serological assays used in this study may have varied due to HIV-1 viral suppression resulting from antiretroviral therapy (ART). Additional studies are needed to better understand the impact of therapy on HIV diagnosis.

Keywords: point-of-care testing, viral load, HIV antibodies, immunoassay, transgender persons, highly active antiretroviral therapy.

Introdução

A prevalência do vírus da imunodeficiência humana (HIV) em travestis e mulheres transexuais (mulheres trans) (TrMT) é desproporcionalmente maior em comparação com a população geral, em países com estudos disponíveis.¹ Uma metanálise com dados de 39 estudos, conduzidos em 15 países entre 2000 e 2011, com um total de 11.066 mulheres transgênero, estimou prevalência agrupada de HIV de 19,1% nessa população em comparação com todos os adultos em idade reprodutiva, em todos os países.² Essa metanálise incluiu três artigos com dados do Brasil que mostraram uma prevalência de HIV de 33,1% para infecção pelo HIV em mulheres trans em comparação com adultos com idade entre 15 e 49 anos.² Essa população, portanto, apresenta uma das mais altas taxas de prevalência de HIV no país.

O Brasil tem uma epidemia concentrada de HIV nas denominadas populações- chave.^{3,4} Em 2019, as regiões Sudeste e Centro-Oeste apresentaram predominância na categoria de exposição homo/bissexual,⁵ enquanto pesquisas mais recentes com TrMT adultas encontraram prevalência de HIV de 30% a 31,2%.⁴

O diagnóstico de HIV é um passo fundamental para o controle da epidemia e requer uma combinação de exames laboratoriais convencionais com outros que usam novas tecnologias – como os testes rápidos (TR) – *point-of-care* – para expandir a cobertura, melhorar o acesso e obter como resultado um impacto positivo na gestão do cuidado de pessoas vivendo com HIV (PVHIV). Para que se mantenha o papel central do diagnóstico de HIV em programas de aids/IST, são necessários monitoramento periódico e otimização com garantia de qualidade, a fim de que sejam informados ajustes ou alinhamentos para o controle da epidemia.⁶

Desde 1988, o Ministério da Saúde (MS) tem padronizado fluxogramas para a testagem da infecção pelo HIV, que são revisados à medida que as tecnologias disponíveis evoluem. Atualmente, dispomos de diferentes fluxogramas para diagnósticos em diferentes situações e condições de infraestrutura laboratorial.⁷ Então, de acordo com a necessidade, podem ser usados desde testes rápidos até testes moleculares para garantir que o diagnóstico de HIV seja seguro e rapidamente concluído.⁸

A terapia antirretroviral (TARV) é muito eficaz no controle do HIV.⁹ Seu uso contínuo pode modificar a reatividade típica da resposta de anticorpos específicos anti-HIV, assim como pode alterar a cinética dessa resposta em indivíduos que interrompem o tratamento.^{8,10} A confirmação de uma infecção em pacientes imunossuprimidos tornou-se um desafio à medida que diretrizes vigentes no Brasil indicam tratamento imediato após o primeiro diagnóstico com testes rápidos ou convencionais. A TARV pode conter a replicação do vírus e reduzir presença

do antígeno com o tempo, o que pode resultar na diminuição de anticorpos produzidos pela pessoa vivendo com HIV/aids (PVHA).¹¹ A TARV prolongada com viremia não detectada pode levar a uma diminuição de títulos de anticorpos específicos anti-HIV, incluindo eventuais casos de sororreversão.^{9,12-14} No entanto, os benefícios da TARV são evidentes; mesmo com redução parcial da carga viral (CV), os pacientes podem obter benefícios tanto imunológicos como clínicos.¹¹

O objetivo deste estudo foi analisar, por meio de ensaios molecular e sorológicos convencionais para o diagnóstico da infecção pelo HIV, amostras de sangue de uma população TrMT de cinco capitais brasileiras que apresentaram resultado reagente em teste rápido (TR) de HIV e avaliar uma possível mudança no perfil da resposta imune mediada por anticorpos anti-HIV em participantes que informaram ter feito uso da TARV.

Métodos

As amostras de soro analisadas faziam parte do “Estudo de prevalência da sífilis e outras infecções sexualmente transmissíveis entre travestis e mulheres transexuais no Brasil: cuidado e prevenção” – Estudo TransOdara, de abrangência nacional. A população era composta de travestis e mulheres trans (TrMT) residentes em cinco grandes cidades brasileiras (capitais estaduais), de todas as cinco regiões do país: São Paulo (Sudeste), Porto Alegre (Sul), Salvador (Nordeste), Campo Grande (Centro-Oeste) e Manaus (Norte). Um dos objetivos do TransOdara era analisar, por meio de ensaio molecular [carga viral (CV)], as amostras de sangue de TrMT que apresentassem padrões reagentes em testes rápidos (TR) de HIV e, em caso de discordância de resultados (CV < 5.000 cópias/mL ou não detectada) ou de CV não realizada, complementar a análise com testes sorológicos convencionais.

O estudo foi baseado em recrutamento por meio da técnica de amostragem dirigida pelo participante (*respondent driven sampling* – RDS) e as TrMT confirmaram sua aceitação para participar assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). O RDS é um processo de recrutamento de indivíduos inseridos em uma mesma rede pessoal de relacionamento.¹⁵⁻¹⁹ Foi escolhido como um método apropriado para amostragem da população não enumerada, considerada, então, de difícil acesso. Além de preencher o questionário padrão (*status* do HIV, TARV e outras perguntas) e de assinar termos de consentimento para possíveis profilaxia e tratamento, foi solicitado às participantes colher materiais biológicos para a realização de testes de sífilis e outras infecções sexualmente transmissíveis (IST) – entre eles, o de HIV.

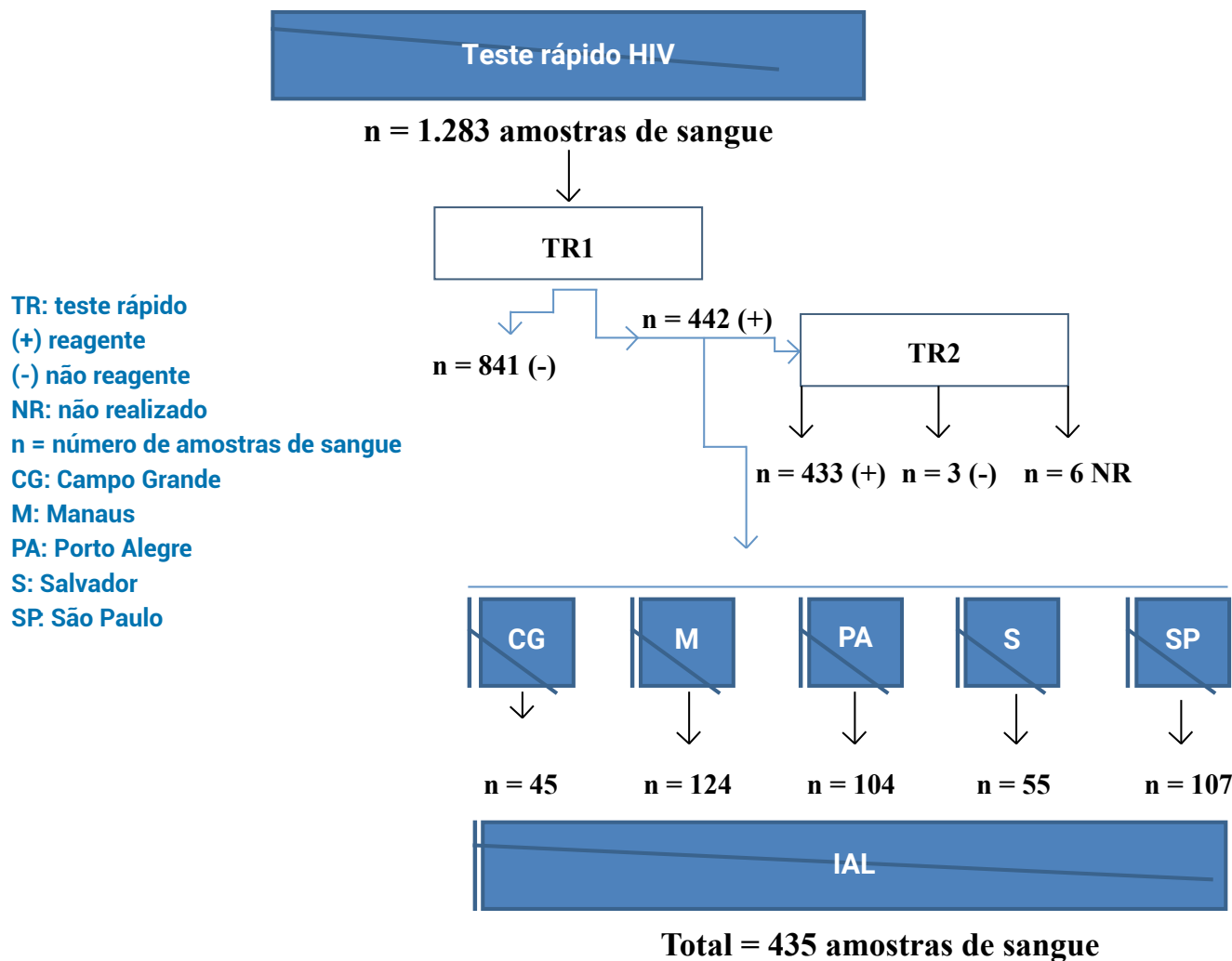
De dezembro de 2019 a julho de 2021, das 1.317 participantes recrutadas, 1.283 (97,4%) aceitaram fazer exames de sangue para diagnóstico de HIV. As amostras de sangue foram obtidas por meio de punção venosa, realizada depois da entrevista sociodemográfica. Todos os procedimentos foram feitos em conformidade com as boas práticas técnicas e regulamentação ética vigentes no Brasil e observando-se as recomendações de segurança para a Covid-19.

O Fluxograma de Testagem 1 para a triagem sorológica de HIV, preconizado pelo MS,⁷ utiliza dois testes rápidos sequenciais (TR1 e TR2) em amostras de sangue. Neste estudo, inicialmente foi utilizado o ensaio imunocromatográfico para detecção de anticorpos anti-HIV 1 + 2 – TR1 [ABON (Abon Biopharm, Hangzhou, China)]; as amostras com resultados reagentes foram submetidas a um segundo ensaio imunocromatográfico, diferente do primeiro – TR2 [TR DDP HIV 1/2 (Bio-Manguinhos, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil)]. Os testes utilizados foram adquiridos pelo MS e realizados nos locais deste estudo. Todos os aplicadores foram treinados para realizar os testes, feitos em condições consideradas satisfatórias e em conformidade com o protocolo padrão dos locais de exames estabelecidos na pesquisa.

Das 1.283 amostras, 841 (65,5%) tiveram resultado de HIV não reagente (–) e 442 (34,5%) resultado reagente (+) no TR1. A maioria dessas 442 amostras com TR1 (+) [433 (98%)] também foi reagente no segundo teste, TR2. Três amostras (0,7%) apresentaram resultados discordantes [TR1 (+) e TR2 (–)], e seis (1,4%) participantes recusaram a realização do TR2. Vale ressaltar que, além dos tubos de amostra utilizados para os testes sorológicos (TR e exames laboratoriais convencionais), um tubo de sangue (plasma) foi separado para confirmação pelo teste molecular, após autorização.

Todas as amostras de soro e mais as amostras de plasma das participantes com TR1 reagente para HIV foram encaminhadas ao Instituto Adolfo Lutz (IAL). Em seguida, as amostras de plasma foram para o Centro de Virologia-IAL – para a realização do teste molecular ([Figura 1](#)).

Figura 1. Resultado de TR para HIV e número de amostras das cinco cidades brasileiras (capitais estaduais) enviadas ao Centro de Virologia do IAL para avaliação da carga viral.



Fonte: elaborada pelos autores.

Inicialmente, as amostras de plasma de 98,4% (435/442) das participantes com resultado de HIV reagente no TR1 foram enviadas ao Centro de Virologia do IAL para avaliação com teste molecular (Abbott M2000 HIV RT-PCR). O ácido ribonucleico (RNA) do plasma foi extraído no equipamento automatizado M2000sp e analisado por meio da reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) (Abbott Real Time M2000rt), de acordo com as recomendações do fabricante, com resultado expresso em cópias/mL. No Centro de Imunologia do IAL (CIM-IAL), na amostra na qual não foi detectada viremia (ND) ou estava abaixo do limite de detecção, assim como naquela com CV detectada, mas abaixo de 5.000 cópias/mL, foi realizada a sorologia convencional. Foi aplicado o Fluxograma 6 do MS para a testagem de anticorpos⁷ – imunoensaio de 4ª geração seguido por Western blot, imunoblot ou imunoblot rápido como teste complementar. Usamos o imunoensaio por quimioluminescência (CLIA) [Advia

Centaur HIV Ag/Ab Combo (CHIV); Siemens Healthcare Diagnostics, Inc., NY, EUA] ou o ensaio imunoenzimático do tipo ELISA [Murex HIV Ag/Ab Combination; DiaSorin S.p.A. Sucursal Reino Unido, Dartford, Reino Unido], seguido pelo ensaio confirmatório de imunoblot rápido (IBR) [Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2 (IBR DPP HIV); Bio-Manguinhos-Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil].

As amostras que tiveram resultado reagente nos ensaios CLIA ou ELISA e IBR foram interpretadas como positivas para HIV, assim como aquelas que apresentaram $\text{CV} \geq 5.000$ cópias/mL. As amostras com resultado reagente no CLIA ou ELISA e não reagente ou indeterminado no IBR foram classificadas como indeterminadas para HIV. Para o ensaio de confirmação (IBR), foi necessária a reatividade específica para pelo menos duas das proteínas p24, gp41 e gp120/gp160 para que o resultado fosse interpretado como positivo. Portanto, perfis de reatividade não compatíveis com interpretação positiva nem negativa (ausência de bandas) produzem resultados indeterminados. Assim, os perfis de bandas incompletas das tiras testadas, que mostram reatividade específica a qualquer uma das proteínas virais não compatíveis com os critérios aprovados para uma interpretação positiva, são considerados resultados indeterminados.

Para a avaliação de desempenho analítico, foram selecionadas aleatoriamente 92/841 (10,9%) amostras HIV não reagente no TR e 14/98 (14,3%) amostras HIV reagente simultaneamente no TR e teste molecular ($\text{CV} > 5.000$ cópias/mL). Elas foram submetidas aos testes sorológicos convencionais para a verificação de concordância entre os testes. As amostras foram analisadas no Murex HIV Ag/Ab e, quando reagentes, submetidas ao teste de confirmação IBR DPP HIV 1/2. A interpretação dos níveis de concordância entre os resultados do TR1 e do CLIA/ELISA e os Fluxogramas de Testagem 1 (TR1 e TR2) e 6 (teste de triagem e confirmatório) foi feita por meio do índice Kappa (K) conforme proposto por Altman (1990)^{20,21} e adaptado de Landis e Koch (1977). O valor $K < 0,2$ representa fraca concordância; de 0,21 a 0,4, razoável; de 0,41 a 0,6, moderada; de 0,61 a 0,8, boa; e de 0,81 a 1, excelente concordância. Para a análise Kappa, além das amostras com resultado reagente no TR, foram consideradas as amostras não reagentes usadas para verificar o desempenho analítico.

O estudo foi registrado no Conselho Técnico-Científico do Instituto Adolfo Lutz (CTC-IAL 51L/2019) e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE: 05585518.7.3008.0059).

Resultados

Das amostras de sangue de 442 participantes com TR1 reagente, 435 (98,4%) foram enviadas para a realização de teste molecular no Centro de Virologia do IAL. A CV não foi realizada (NR) em 2,8% (12/435) delas, devido ao volume insuficiente de sangue para a realização dos testes ou à presença de hemólise. Os resultados do TR (Fluxograma de Testagem 1) das 423 amostras analisadas para CV são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Resultado do TR HIV e sua relação com o resultado da detecção CV HIV-1 em travestis e mulheres trans no Brasil, 2019-2021.

TR	CV (cópias/mL)				
	ND	≤ 40	44 - 4.953	5.147 - 3.6 milion	NR
TR1 (+) / TR2 (+) n = 427	238 (55,7%)	5 (1,2%)	75 (17,6%)	97 (22,7%)	12 (2,8%)
TR1 (+) / TR2 (-) n = 3	2 (66,7%)	0 0,00%	0 0,00%	1 (33,3%)	0 0,00%
TR1 (+) / TR2 NR n = 5	5 (100,0%)	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%
Total n = 435	245 (56,3%)	5 (1,2%)	75 (17,2%)	98 (22,5%)	12 (2,8%)

Fonte: elaborada pelos autores.

HIV: vírus da imunodeficiência humana; TR: teste rápido; CV: carga viral; (+): reagente; (-): não reagente; ND: não detectada; NR: não realizada.

De abril de 2020 a julho de 2021, o Laboratório de HIV/Aids do CIM-IAL recebeu um total de 337 amostras de soro das participantes (TrMT), acompanhadas de seus respectivos resultados de carga viral ["CV < 5.000 cópias/mL", "viremia não detectada" (ND) ou "CV não realizada (NR)"] e dos respectivos resultados de TR (Fluxograma de Testagem 1). Esse número corresponde a 77,5% (337/435) dos casos nos quais foi preciso complementar a análise com ensaios sorológicos convencionais, que necessitavam de infraestrutura laboratorial, e de acordo com o preconizado pelo MS (Fluxograma de Testagem 6).⁷

A Tabela 2 mostra o perfil de resultados do TR e da sorologia convencional para HIV em 337 amostras de soro.

Tabela 2. Resultados de diferentes testes de HIV (TR, CLIA/ELISA, IBR e CV) realizados em 337 amostras de travestis e mulheres trans brasileiras (2019-2021).

Resultado					Nº de amostras (n) = 337
Sorológico				Molecular	
TR1	TR2	CLIA/ELISA	IBR	CV (cópias/mL)	
				≤ 40	5 (1,5%)
(+)	(+)	(+)	(+)	44 - 4.953	75 (22,3%)
				ND	236 (70,0%)
				NR	11 (3,3%)
(+)	(-)	(+)	(+)	ND	2 (0,6%)
(+)	NP	(+)	(+)	ND	5 (1,5%)
(+)	(+)	(+)	I	ND	2 (0,6%)
				NR	1 (0,3%)

Fonte: elaborada pelos autores

HIV: vírus da imunodeficiência humana; TR: teste rápido; CLIA: imunoensaio por quimioluminescência; ELISA: ensaio imunoenzimático; IBR: ensaio imunoblot rápido; (-): não reagente; (+): reagente; I: indeterminado; CV: carga viral; NR: não realizada; ND: não detectada.

Conforme os critérios estabelecidos para a interpretação do índice Kappa, nas 443 amostras [337 amostras reagentes para HIV e amostras adicionais para o desempenho analítico (14 amostras reagentes para HIV com CV > 5.000 cópias/mL e 92 não reagentes para HIV)], o grau de concordância entre o TR1 e o CLIA/ELISA foi considerado excelente [K = 1,00 (95%, intervalo de confiança (IC) 1,00%-1,00%)]. O grau de concordância entre o Fluxograma de Testagem 1 (dois TR) e o Fluxograma de Testagem 6 (CLIA/ELISA e IBR/CV) também foi considerado excelente [K = 0,97 (95% IC 0,937%-0,996%)].

A [Tabela 3](#) mostra uma estimativa de participantes com ou sem tratamento (TARV) e os resultados de ensaios moleculares e sorológicos.

Tabela 3. Resultados de ensaios laboratoriais em amostras de travestis e mulheres trans brasileiras, de acordo com relato de uso terapia antirretroviral (TARV), de 2019 a 2021.

Tratamento	TR1 (+) e TR2 (+)					
TARV	Ensaio molecular n = 427				Sorologia convencional n = 330	
	ND	CV < 5.000 cp/mL	NR	CV > 5.000 cp/mL	(+)	I
Sim	201 (47,1%)	35 (8,2%)	6 (1,4%)	16 (3,7%)	240 (72,7%)	2* (0,6%)
Não	3 (0,7%)	8 (1,9%)	2 (0,5%)	24 (5,6%)	13 (3,9%)	0 (0,0%)
No passado	0 (0,0%)	1 (0,2%)	0 (0,0%)	2 (0,5%)	1 (0,3%)	0 (0,0%)
Não informado	34 (8,0%)	36 (8,4%)	4 (0,9%)	55 (12,9%)	73 (22,1%)	1* (0,3%)
TARV	TR1 (+) e TR2 (-)					
	Ensaio molecular n = 3				Sorologia convencional n = 2	
	ND	CV < 5.000 cp/mL	NR	CV > 5.000 cp/mL	(+)	I
Sim	2 (66,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (100,0%)	0 (0,0%)
Não reportado	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (33,3%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
TARV	TR1 (+) e TR2 NR					
	Ensaio molecular n = 5				Sorologia convencional n = 5	
	ND	CV < 5.000 cp/mL	NR	CV > 5.000 cp/mL	(+)	I
Sim	5 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	5 (100,0%)	0 (0,0%)
Total	Ensaio molecular n = 435				Sorologia convencional n = 337	
	ND	CV < 5.000 cp/mL	NR	CV > 5.000 cp/mL	(+)	I
	245 (56,3%)	80 (18,4%)	12 (2,8%)	98 (22,5%)	334 (99,1%)	3* (0,9%)

Fonte: elaborada pelos autores.

TR: teste rápido; CV: carga viral; ND: não detectada; NR: não realizada; cp/mL: número de cópias/mL;

TARV: terapia antirretroviral; (+): reagente; I: indeterminado; (-): não reagente.

*Três amostras indeterminadas na sorologia convencional – duas com CV = ND e uma CV = NR.

Quanto ao uso de TARV, das 337 participantes que passaram pela sorologia convencional para HIV, 73,9% (249) relataram estar em uso de TARV e 4,2% (14), que não a utilizavam, incluindo uma que referiu ter interrompido o tratamento. Das 13 participantes que não iniciaram a TARV depois de diagnosticadas com HIV, cinco (38,5%) haviam recebido indicação de tratamento. Das 74 que não informaram o uso de TARV, 62,2% (46/74) declararam soronegatividade para HIV em seu último teste.

A Tabela 4 apresenta o perfil dos resultados laboratoriais de testes moleculares e sorológicos nas diferentes localidades. Das 435 amostras de sangue encaminhadas ao IAL, a positividade para o HIV foi confirmada por ensaios laboratoriais em 432 – sendo 22,7% (98) por CV HIV-1 e 77,3% (334) por sorologia convencional (CLIA/ELISA + IBR). Duas das três (0,9%) amostras com resultado indeterminado no Fluxograma de Testagem 6 tinham a carga viral não detectada e na outra o ensaio não foi realizado (sangue hemolisado).

Tabela 4. Perfil dos marcadores laboratoriais de HIV – carga viral HIV-1 e testes sorológicos – realizados no IAL, de acordo com as localidades.

Ensaio HIV realizado no IAL				
Localização	CV > 5.000 cópias/mL	Resultados sorológicos		HIV positivo
		(+)	I	
Campo Grande	10	35	0	45
	(10,2%)	(10,5%)	(0,0%)	(10,4%)
Manaus	30	92	2	122
	(30,6%)	(27,5%)	(66,7%)	(28,2%)
Porto Alegre	18	86	0	104
	(18,4%)	(25,7%)	(0,0%)	(24,1%)
Salvador	20	34	1	54
	(20,4%)	(10,2%)	(33,3%)	(12,5%)
São Paulo	20	87	0	107
	(20,4%)	(26,0%)	(0,0%)	(24,8%)
Total	98	334	3	432

Fonte: elaborada pelos autores.

HIV: vírus da imunodeficiência humana; IAL: Instituto Adolfo Lutz; CV: carga viral; (+): reagente; I: indeterminado.

Das três amostras com resultado indeterminado no Fluxograma de Testagem,⁶ duas eram da região Norte (Manaus) e uma da região Nordeste (Salvador). O resultado da CV de duas participantes foi não detectado, e uma delas informou uso de TARV; a CV da outra não foi testada, mas ela relatou estar em TARV.

Discussão

Nas amostras das participantes diagnosticadas com HIV no Fluxograma de Testagem 1 [TR1 (+) e TR2 (+)], a carga viral (CV) > 5.000 cópias/mL confirma a infecção, de acordo com protocolos vigentes do Ministério da Saúde do Brasil.⁷ Das participantes deste estudo, 16,5% relataram estar em terapia antirretroviral (TARV) e apresentaram CV que variava de 5.147 cópias/mL (em TARV há 16 anos) a 177.589 cópias/mL (em TARV há três meses). No caso da participante em tratamento há 16 anos, pode ter ocorrido falha na administração do medicamento, resistência ao medicamento ou, então, ela podia não estar de fato usando a TARV.^{9,10} Por outro lado, a maioria dos casos com uso de TARV apresentou viremia não detectada, o que indica sucesso terapêutico.¹¹ A efetiva supressão virológica devido à terapia antirretroviral potente confere benefícios individuais à saúde e redução significativa no risco de transmissão futura, com impacto na incidência de HIV em nível populacional.²² Nos outros casos em que a viremia não foi detectada e as participantes não estavam em tratamento ou não reportaram seu uso, o resultado do teste molecular, assim como qualquer ensaio laboratorial, está sujeito a falhas – principalmente na fase pré-analítica.²³ O acondicionamento, o transporte e o armazenamento de amostras biológicas até a realização do exame são procedimentos fundamentais para garantir a qualidade da amostra e, consequentemente, do resultado.²⁴

Conforme o desenho do estudo, a amostra com resultado reagente no TR HIV e CV < 5.000 cópias/mL, não detectada ou não realizada, foi adicionalmente avaliada nos ensaios sorológicos convencionais. Embora o diagnóstico do HIV por meio de testes rápidos – *point-of-care* – (Fluxograma de Testagem 1) seja adequado para situações em que o atendimento aos pacientes precisa ser realizado de forma ágil e o tratamento iniciado de forma precoce, aos indivíduos com amostra reagente nesses ensaios o MS brasileiro recomenda que a presença do vírus seja confirmada com o teste de quantificação da carga viral do HIV (uma CV ≥ 5.000 cópias/mL confirma infecção), o que permite descartar a ocorrência de possíveis falso-reativos. No entanto, como observamos neste estudo, naqueles casos em que a supressão viral está sendo alcançada com sucesso pelo uso de TARV [CV = ND (47,8%) ou CV < 5.000 cópias/mL (8,0%)], torna-se desafiador estabelecer o diagnóstico por meio de confirmação da presença do vírus, sendo preciso complementar a análise com testes sorológicos convencionais.

Assim, os testes sorológicos convencionais desempenharam papel fundamental na confirmação do diagnóstico de HIV/aids nas 337 amostras enviadas ao CIM-IAL. Cabe destacar que, neste estudo, foram observadas três amostras com resultados discordantes nos fluxogramas de testagem empregados – a interpretação dos resultados no Fluxograma 1 foi “reagente para HIV” [TR1 (+) e TR2 (+)]; já no Fluxograma 6, eles foram interpretados como “indeterminado para HIV” [ELISA (+) e IBR indeterminado].

Com relação ao resultado de viremia nessas três amostras discordantes, em uma delas (sangue hemolisado) não foi possível realizar o ensaio molecular e, nas outras duas, a CV era não detectada (ND). Uma das amostras que apresentaram CV = ND e aquela com CV = NR eram de participantes que relataram uso de TARV; a primeira havia iniciado a terapia seis anos antes, e não havia informação sobre a outra. Testes de monitoramento da carga viral plasmática dessas participantes haviam sido realizados previamente, antes do início da TARV, tendo apresentado alta viremia, compatível com infecção pelo HIV. Depois do início da TARV, a CV tornou-se não detectável, o que pode ser atribuído à alta efetividade desse tratamento. De acordo com o manual de instruções do ensaio de imunoblot rápido (kit IBR DPP HIV1/2), uma das limitações do procedimento refere-se à possibilidade de um resultado falso-negativo em amostras de indivíduos reconhecidamente HIV positivo e que efetivamente se encontram sob tratamento.²⁴ Embora os ensaios sorológicos para diagnóstico de HIV tenham evoluído de maneira considerável, os limites de cada teste devem ser levados em conta.¹² Há casos de indivíduos vivendo com HIV em que foram observados resultados sorológicos inconsistentes durante a TARV. Esse tratamento reduz a viremia de HIV no sangue periférico e reverte a imunodeficiência característica.^{9,25} O consenso é que a TARV iniciada pouco tempo após a exposição afeta o desenvolvimento e a persistência da resposta de anticorpos específicos anti-HIV, durante tanto a infecção aguda quanto a crônica, o que pode levar a resultado sorológico não reagente ou indeterminado, devido à supressão do RNA plasmático do HIV a níveis indetectáveis.^{26,27} De maneira similar, a TARV usada como profilaxia pré-exposição (PrEP) ou profilaxia pós-exposição (PEP) pode suprimir o RNA HIV (carga viral); portanto, o indivíduo pode não ter anticorpos anti-HIV detectáveis, o que precisa ser lembrado quando da realização da testagem do HIV.²²

Sobre o outro caso com resultado indeterminado na sorologia convencional [ELISA reagente (densidade óptica = 2,565: valor de referência < ponto de corte = 0,257) e IBR indeterminado (p24)], observou-se que a carga viral era não detectada. Considerando a orientação do MS para o diagnóstico de HIV, pode-se inferir que se trata, provavelmente, de um resultado falso-reagente no teste laboratorial de triagem e no TR. Outra explicação possível para resultados atípicos em testes sorológicos de HIV seria a infecção pelo HIV-2, que consideramos menos provável, visto que não existem registros de casos autóctones no

Brasil. Há relatos de oito casos de infecção pelo HIV-2 diagnosticados no país, todos ligados a um vínculo epidemiológico na Guiné-Bissau.²⁸ Por outro lado, não houve manifestação da banda gp36, sugestiva de HIV-2 no IBR e não existem evidências de prevalência desse vírus no Brasil. Resultados falso-positivos para HIV podem aparecer em qualquer teste ou método, não importa o fluxograma de testagem usado, seja por causa da própria limitação do método, seja pelas características inerentes ao indivíduo. Os fluxogramas de testagem têm sido utilizados para reduzir a possibilidade de resultados falso-positivos, por meio de testes complementares para a confirmação de infecção pelo HIV.²⁹ Apesar de esses resultados indeterminados no IBR não facilitarem uma decisão clínica final, eles muitas vezes refletem o real status sorológico dos indivíduos testados, como a presença de certos fatores biológicos de interferência.³⁰

Nesse contexto, das 249 amostras de participantes com uso de TARV analisadas por meio de ensaios sorológicos convencionais, apenas duas (0,8%) tiveram resultado indeterminado. Existem indícios de que o momento em que se inicia a TARV define a consequente restauração da resposta imune – a extensão das alterações da resposta imune causada pelo HIV vai definir a restauração, mas a estimulação imune quantitativa induzida pelo HIV também será importante para a extensão da resposta específica anti-HIV detectada durante ou após um bem-sucedido tratamento antirretroviral.⁹

Uma das limitações deste estudo deveu-se à falta de informações mais precisas, nos relatos das participantes, sobre questões relacionadas à infecção por HIV e ao uso de TARV – tais como início da TARV na fase aguda ou tardia da doença, duração da TARV e interrupção do tratamento – que pudessem esclarecer os resultados laboratoriais encontrados. As atuais diretrizes nacionais recomendam iniciar a TARV o mais breve possível após o diagnóstico da infecção pelo HIV, para minimizar o risco de transmissão futura, interromper a propagação de reservatórios latentes, retardar a progressão da doença e, por fim, melhorar a qualidade de vida do paciente.²⁷ Outra limitação foi a não realização do ensaio de Western blot (WB) em amostras com IBR indeterminado para a comparação de resultados. Conforme observado em outro estudo conduzido em nosso laboratório, em nove casos com resultado indeterminado no IBR, quando analisados com WB, seis (66,7%) foram positivos, um (11,1%) resultou negativo e dois (22,2%) permaneceram indeterminados.²⁴ Portanto, não foi possível verificar se os resultados indeterminados detectados no IBR assim permaneceriam se fossem analisados no WB.

Três participantes relataram ter interrompido o tratamento; em dois casos, a CV estava acima de 5.000 cópias/mL e, no outro, abaixo desse valor. Com a interrupção do tratamento, de acordo com a literatura, houve aumento da viremia de HIV. A TARV é bastante efetiva no controle da infecção, mas ainda não se conseguiu a eliminação da infecção viral.⁹ Reservatórios celulares são ativados no início da infecção pelo HIV-1, e os provírus podem emergir

prontamente desses reservatórios se o tratamento for descontinuado ou tornar-se ineficaz, o que resulta em viremia de rebote e na indução da formação de anticorpos.³¹ Profissionais de saúde que lidam com esses casos devem estar cientes dessa possibilidade e agir de maneira a evitar a interrupção da TARV.

O grau de concordância (índice Kappa) obtido dos resultados das análises realizadas nas diferentes regiões do Brasil comprovou que os testes rápidos – *point-of-care* – de HIV têm alta taxa de confirmação quando comparados aos testes sorológicos convencionais,^{24,29} com a vantagem de permitirem diagnóstico de forma precoce na ausência de ambientes laboratoriais, sendo, portanto, uma estratégia de ampliação do acesso ao diagnóstico.

Conclusão

Este estudo demonstra que testes rápidos – *point-of-care* – realizados nas cinco regiões do Brasil têm uma alta taxa de confirmação quando comparados aos testes sorológicos. Nos casos com resultados discordantes, é importante destacar que a sensibilidade analítica dos diferentes ensaios sorológicos e molecular pode variar em diferentes estágios da infecção pelo HIV, e que a TARV pode influenciar de modo considerável os resultados dos testes, principalmente em populações-chave. Os ensaios de sorologia e de carga viral utilizados nos fluxogramas vigentes para diagnóstico de HIV podem não ser suficientes para identificar com precisão a infecção em indivíduos que fazem uso da TARV. Da mesma forma, é importante incrementar as atuais políticas públicas de saúde que promovem adesão à TARV e outros cuidados para pessoas que convivem com o HIV.

Agradecimento

Agradecimentos especiais a André Rodrigues de Campos e Elaine Aparecida Roma de Paula, profissionais do Laboratório Central do CIM-IAL, pelo excelente suporte técnico na realização deste estudo. Também somos gratos às profissionais Lenice Galan de Paula, da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, Rita Bacuri, do Instituto Leônidas e Maria Deane – Fiocruz Amazônia, Daniela Knauth e Andrea Fachel Leal, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pelo apoio adicional prestado.

Referência

1. Magno L, Silva LAV, Vera MA, Santos MP, Dourado I. Stigma and discrimination related to gender identity and vulnerability to HIV/AIDS among transgender women: A systematic review. *Cad Saúde Pública*. 2019; 35(4): e00112718. <https://doi.org/10.1590/0102-311X00112718>
2. Baral SD, Poteat T, Strömdahl S, Wirtz AL, Guadamuz TE, Beyrer C. Worldwide burden of HIV in transgender women: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2013; 13(3): 214-22. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(12\)70315-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(12)70315-8)
3. Kerr L, Kendall C, Guimarães MDC, Mota RS, Veras MA, Dourado I et al. HIV prevalence among men who have sex with men in Brazil: Results of the 2nd national survey using respondent-driven sampling. *Medicine*. 2018; 97 (1S): S9-S15. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000010573>
4. Wilson EC, Jalil EM, Jalil CM, Castro CRV, Ferreira ALN, Martinez NF et al. Results from a peer-based digital systems navigation intervention to increase HIV prevention and care behaviors of young trans women in Rio de Janeiro, Brazil. *J Glob Health*. 2021; 5: e2021077. <https://doi.org/10.29392/001c.28347>
5. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico HIV/Aids 2020. [Internet]. 2020. [Acesso em: 2021, nov 18]. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/media/pdf/2020/dezembro/01/boletim-hiv_aids-2020
6. Parekh BS, Ou C-Y, Fonjungo PN, Kalou MB, Rottinghaus E, Puren A et al. Diagnosis of human immunodeficiency virus infection. *Clin Microbiol Rev*. 2019; 32(1): e00064-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00064-18>
7. Brasil. Ministério da Saúde. 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. *Diário Oficial da União*. 18 dez 2013; Seção 1:59.
8. Castejon MJ, Dordetto PR, Yamashiro R, Brígido LFM, Alves AA, Oliveira CAF. Antiretroviral therapy in patient living with HIV leads negative HIV serological results. *J Bras Patol Med Lab*. 2021; 57(1):1-6. <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20210057>
9. 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>
10. Killian MS, Norris PJ, Rawal BD, Lebedeva M, Hecht FM, Levy JA et al. The effects of early antiretroviral therapy and its discontinuation on the HIV specific antibody response. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2006; 22(7): 640-7. <https://doi.org/10.1089/aid.2006.22.640>
11. Kovacs A, Montepiedra G, Carey V, Pahwa S, Weinberg A, Frenkel L et al. Immune reconstitution after receipt of highly active antiretroviral therapy in children with advanced or progressive HIV disease and complete or partial viral load response. *J Infect Dis*. 2005; 192(2): 296-302. <https://doi.org/10.1086/430922>
12. 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): 1793-7. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy120>

13. 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):1660-9. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa271>
14. de Souza MS, Pinyakorn S, Akapirat S, Pattanachaiwit S, Fletcher JLK, Chomchey N, et al. Initiation of antiretroviral therapy during acute HIV-1 infection leads to a high rate of nonreactive HIV serology. *Clin Infect Dis.* 2016; 63(4):555-61. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw365>
15. Heckathorn DD. Respondent-driven sampling: A new approach to the study of hidden populations. *Soc Probl.* 1997; 44(2):174-99. <https://doi.org/10.2307/3096941>
16. Heckathorn DD, Semaan S, Broadhead RS, Hughes JJ. Extensions of respondent-driven sampling: A new approach to the study of injection drug users aged 18-25. *AIDS Behav.* 2002; 6(1):55-67.
17. Heckathorn DD. Respondent-driven sampling II: Deriving valid population estimates from chain referral samples of hidden populations. *Soc Probl.* 2002; 49(1):11-34. <https://doi.org/10.1525/sp.2002.49.1.11>
18. Salganik MJ, Heckathorn DD. Sampling and estimation in hidden populations using respondent-driven sampling. *Sociol Methodol.* 2004; 34:193-239. <https://doi.org/10.1111/j.0081-1750.2004.00152.x>
19. Volz E, Heckathorn DD. Probability based estimation theory for respondent driven sampling. *J Off Stat.* 2008; 24(1):79-97.
20. Cohen JA. Coefficient of agreement for nominal scales. *Educ Psychol Meas.* 1960; 20(1):37-46. <https://doi.org/10.1177/001316446002000104>
21. Altman DG. Practical statistics for medical research. London: Chapman & Hall; 1990. Inter-rater agreement; p. 403-9.
22. 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(12): e25419. <https://doi.org/10.1002/jia2.25419>.
23. Vieira KF, Shitara ES, Mendes ME, Sumita NM. A utilidade dos indicadores da qualidade no gerenciamento de laboratórios clínicos. *J Bras Patol Med Lab.* 2011; 47(3): 201-10.
24. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CAF, Brígido LFM, Generoso IP, Veras MAS 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>
25. 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):830-9. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1600693>
26. Wang L, Hong W, Zhu W, Lu L, Yang Z, Zhao F et al. Efficacy of early antiretroviral therapy 36 hours after HIV infection in one blood donor. *Transfusion.* 2020; 60(7):1633-8. <https://doi.org/10.1111/trf.15822>
27. 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>
28. Ferreira Junior OC. Programa Sentinela para Vigilância Epidemiológica da infecção pelo HIV-2 no Brasil. TC 288/2013. [Internet] [Acesso em: 2021, dez 22] Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/ct/tc-2882013>

29. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CAF, Mata EHA, Brígido LFM, Guimarães MDC et al. Performance evaluation of HIV infection diagnostic tests. J Bras Patol Med Lab. 2020; 56(1):1-7. <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20200024>
30. Guan M. Frequency, causes, and new challenges of indeterminate results in Western blot confirmatory testing for antibodies to human immunodeficiency virus. Clin Vaccine Immunol. 2007; 14(6): 649-59. <https://doi.org/10.1128/CVI.00393-06>
31. 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>

Contribuição dos autores

Márcia Jorge Castejon: análise e interpretação de dados, redação do manuscrito e aprovação final do manuscrito. Carmem Aparecida de Freitas Oliveira: análise e interpretação de dados e revisão do manuscrito. Luís Fernando de Macedo Brígido: análise e interpretação de dados e revisão do manuscrito. Rosemeire Yamashiro: análise e interpretação de dados. Katia Cristina Bassichetto: revisão do manuscrito. Norberto Camilo Campos: análise e interpretação de dados. Elaine Lopes de Oliveira: revisão do manuscrito. Ana Rita Coimbra Motta Castro: revisão do manuscrito. Inês Dourado: revisão do manuscrito. Laio Magno: revisão do manuscrito. Roberto José de Carvalho da Silva: revisão do manuscrito. Maria Amélia de Sousa Mascena Veras: concepção do projeto de pesquisa e revisão do manuscrito.

Aprovação dos autores

Todos os autores aprovaram a versão final do manuscrito a ser publicada e são responsáveis por todos os aspectos do trabalho, incluindo a garantia de sua precisão e integridade.

Conflito de interesses

Os autores declaram não ter identificado nenhum potencial conflito de interesses.

Financiamento

O estudo teve o apoio do MS-DIAHV /OPAS N° SCON2019-00162.