

Relato de experiência

Diagnóstico sorológico indeterminado do HIV

Indeterminate serological diagnosis of HIV

Márcia Jorge Castejon^{ID}, Meire Bocoli Rossi^{ID}, Karen Cristina Rolim
Madureira^{ID}, Francisco Erisnaldo Nunes^{ID}

Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Coordenadoria de Controle de Doenças, Instituto Adolfo Lutz, 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, 351, 10º andar. CEP: 01246-000. São Paulo, São Paulo, Brasil

Como citar

Castejon MJ, Rossi MB, Madureira KCR, Nunes FE. Diagnóstico sorológico indeterminado do HIV. BEPA, Bol. epidemiol. paul. 2024; 21: e40923. doi: <https://doi.org/10.57148/bepa.2024.v.21.40923>

Primeira submissão: 08/10/2024 • Aceito para publicação: 21/10/2024 • Publicação: 06/11/2024

Editora-chefe: Regiane Cardoso de Paula

Resumo

Várias décadas de desenvolvimento levaram a uma ampla variedade de *kits* de reagentes diagnósticos para atender às diferentes necessidades de vigilância, diagnóstico e monitoramento da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). O teste laboratorial é um componente essencial para o diagnóstico do HIV e o ponto de partida para o tratamento dos pacientes. Este relato de experiência se propõe a apresentar aos profissionais que atuam na área da infecção pelo HIV as possíveis causas para um diagnóstico sorológico indeterminado. O diagnóstico de HIV é realizado por meio de fluxogramas de testes que envolvem o uso de ensaios sorológicos para a triagem e confirmatório. É fundamental entender a dinâmica de vários marcadores virais em relação ao estágio da infecção em indivíduos após exposição ao HIV. Os laboratórios devem ter medidas para avaliar o desempenho analítico dos testes sorológicos para HIV e adotar um sistema de qualidade para verificar a eficácia dos serviços prestados.

Palavras-chave: testes sorológicos, anticorpos anti-HIV, diagnóstico clínico, reações falso-positivas, avaliação de desempenho.

Abstract

Several decades of development in the field have led to a wide variety of test kits available for addressing the different needs of surveillance, diagnosis, and monitoring of human immunodeficiency virus (HIV) infection. Laboratory testing is a key component of HIV diagnosis; it is the starting point for diagnosing and treating patients. This experience report aims to present to professionals working in the area of HIV infection the possible causes for an indeterminate serological diagnosis. HIV diagnosis is performed using test flowcharts that involve the use of serological assays for screening and confirmatory testing. It is critical to understand the dynamics of various viral markers against the time course in individuals after exposure to HIV. Laboratories must have measures in place to assess the analytical performance of HIV serological tests and adopt a quality system to verify the effectiveness of the services provided.

Keywords: serologic tests; HIV antibodies; clinical diagnosis; false-positive reactions, performance evaluation.

Introdução

Os testes laboratoriais são essenciais para o diagnóstico da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). Inicialmente, eles eram processados em pequenos laboratórios por metodologias manuais. Nos últimos 50 anos, o laboratório clínico e seus profissionais têm enfrentado os desafios do rápido desenvolvimento tecnológico e avanços científicos para otimizar a triagem dos pacientes, o tempo de resposta e a resolução do *status* da infecção com ensaios mais sensíveis e específicos e totalmente automatizados.^{1,2}

A automação, a padronização e a informatização do ensaio contribuem para a redução da prevalência de erros na fase analítica. No entanto, a qualidade analítica é ainda uma questão importante, particularmente em algumas áreas do laboratório, como a de imunoensaios. Dessa forma, parâmetros da qualidade devem ser implementados para monitorar e assegurar o desempenho das medições.^{3,4}

A evolução do conhecimento médico exige dos profissionais a necessidade de utilização de exames suplementares para a confirmação ou não de uma hipótese diagnóstica da infecção pelo HIV e dos laboratórios de análises clínicas, espera-se que correspondam a essa expectativa executando os testes que estabeleçam com precisão e exatidão o diagnóstico.⁵

Considerando a grande variedade de *kits* de reagentes diagnósticos disponíveis no mercado, a avaliação do desempenho analítico dos testes para HIV, antes de sua disponibilização na rotina, é fundamental para garantir a qualidade dos resultados. A sensibilidade analítica dos *kits*, embora sejam de mesma metodologia, é diferente entre os vários fabricantes. Uma forma de verificar a sensibilidade e especificidade analítica desses insumos é por meio de emprego de painéis de amostras de soro/plasma confiáveis que apresentam diferentes perfis sorológicos.

Nas últimas décadas, indicadores da qualidade foram desenvolvidos e introduzidos para um gerenciamento eficaz dos procedimentos laboratoriais, que possibilitam medir, corrigir e monitorar o desempenho ao longo do tempo para fornecer resultados fidedignos.⁶⁻⁹

Entre esses indicadores, o monitoramento constante da fase analítica pelo uso do controle de qualidade interno e a participação em programas de proficiência (EP) ou avaliação externa da qualidade (AEQ) são medidas que aumentam a segurança e a credibilidade do laboratório. O programa EP/AEQ representa competências inevitáveis e essenciais para os profissionais de laboratório, que devem ser mantidas e aprimoradas ao longo do tempo para garantir a qualidade na Medicina laboratorial.^{4,10}

Atualmente, o diagnóstico da infecção pelo HIV no Brasil é regulamentado pela Portaria SVS/MS n. 29, de 13 de dezembro de 2013,¹¹ que aprova o Manual técnico para diagnóstico da infecção pelo HIV em adultos e crianças.¹² A estratégia convencional é utilizar

inicialmente um imunoenensaio de 3ª geração (detecção de anticorpos) ou de 4ª geração (detecção de antígeno e anticorpos) na etapa de triagem e, na presença de um resultado reagente, um ensaio complementar sorológico ou molecular é seguido para confirmar a reatividade da amostra. A metodologia de quimioluminescência tem sido a mais aplicada pelos laboratórios, principalmente a baseada em reações antígeno-anticorpos, por possuir alto rendimento para uma triagem em larga escala.¹³

O *status* indeterminado de um indivíduo indica que os resultados dos testes para HIV não proporcionam um diagnóstico definitivo, ou seja, não está claro se há ou não a infecção. Muitas vezes, esse diagnóstico pode estar associado ao início de infecção. Nessa situação, a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que, para populações de alto risco ou com histórico de comportamento de risco, esse *status* seja considerado um caso potencial de infecção aguda por HIV.¹⁴

Este relato de experiência teve como objetivo apresentar aos profissionais responsáveis que atuam na área da infecção pelo HIV as possíveis causas para um diagnóstico sorológico indeterminado.

Resultados indeterminados

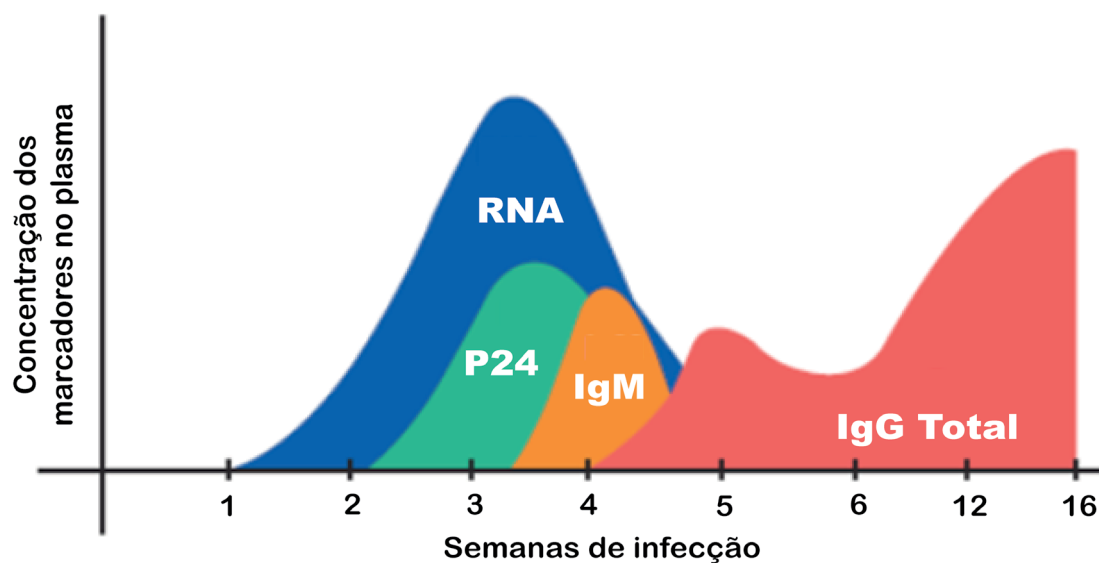
Muitas décadas de desenvolvimento levaram a uma ampla variedade de ensaios laboratoriais disponíveis no mercado para atender às diferentes necessidades de vigilância, diagnóstico e monitoramento da infecção pelo HIV. Assim, os mesmos ensaios que têm como princípio fundamental qualificar ou excluir uma possível doação de sangue são utilizados para o diagnóstico. Embora a qualidade tenha sido cada vez mais aprimorada, a reatividade em testes de triagem ainda requer sua confirmação. Reações cruzadas de anticorpos em virtude de várias doenças autoimunes, ou mesmo na gravidez (aloimunização), vacinação recente contra influenza A-H1N1 e doença linfoproliferativa, entre outras situações, podem produzir resultado falso-reagente ou indeterminado em qualquer ensaio imunológico, independentemente do fluxograma de testes utilizado em consequência da limitação da própria metodologia e do que é capaz de detectar na amostra analisada. A finalidade de combinar dois ou mais testes, formando o fluxograma, é aumentar o valor preditivo positivo (VPP) de um resultado reagente inicial, diferenciando indivíduos infectados dos possíveis falso-reagentes.^{12,15-17}

A introdução de metodologias de quarta geração, projetadas para detectar simultaneamente o antígeno (p24) e anticorpos do HIV, ajudou na identificação da infecção aguda e no início rápido da terapia antirretroviral (TARV). Apesar da alta especificidade, esses testes podem produzir resultados falso-reagentes, principalmente em pesquisas com populações de baixa prevalência. Na etapa complementar do fluxograma, um teste específico e preciso é empregado para confirmar a presença da infecção pelo HIV. No entanto, pode-se deparar com um resultado indeterminado ou não reagente para anticorpos anti-HIV, que, inicialmente não deve ser excluído o processo de soroconversão (infecção

aguda), assim como o uso contínuo de TARV pelo paciente. É importante ressaltar que esse fluxograma não é o mais adequado para os casos de suspeita de infecção aguda. A realização imediata do exame de quantificação da carga viral é primordial para a definição desses casos. Os testes moleculares, considerados com maior sensibilidade sobre os imunoenaios, vão confirmar ou não a presença do vírus.^{12,18-20}

O acompanhamento de longo prazo de indivíduos com resultado de laudo laboratorial indeterminado para HIV – reagente na triagem, principalmente com índice próximo ao valor de corte (*cut off*) e não reagente ou indeterminado no teste confirmatório – não revela evidências de infecção pelo HIV. Indica resultado falso-reagente no ensaio de triagem.²¹ A persistência na realização dos mesmos exames sorológicos em um paciente tem sido observada, mesmo após o possível período de soroconversão. É importante ressaltar a reatividade dos diferentes tipos de ensaio para a detecção da infecção pelo HIV [RNA viral, antígeno (p24) e anticorpos], que progride sequencialmente e permite que, a cada aparecimento de um marcador na circulação, seja atribuído um estágio à infecção, conforme ilustra a Figura 1.¹²

Figura1. Marcadores da infecção pelo HIV na corrente sanguínea de acordo com o período em que surgem após a infecção, seu desaparecimento ou manutenção ao longo do tempo.



Fonte: Ministério da Saúde (2018). Manual técnico para diagnóstico da infecção pelo HIV em adultos e crianças.

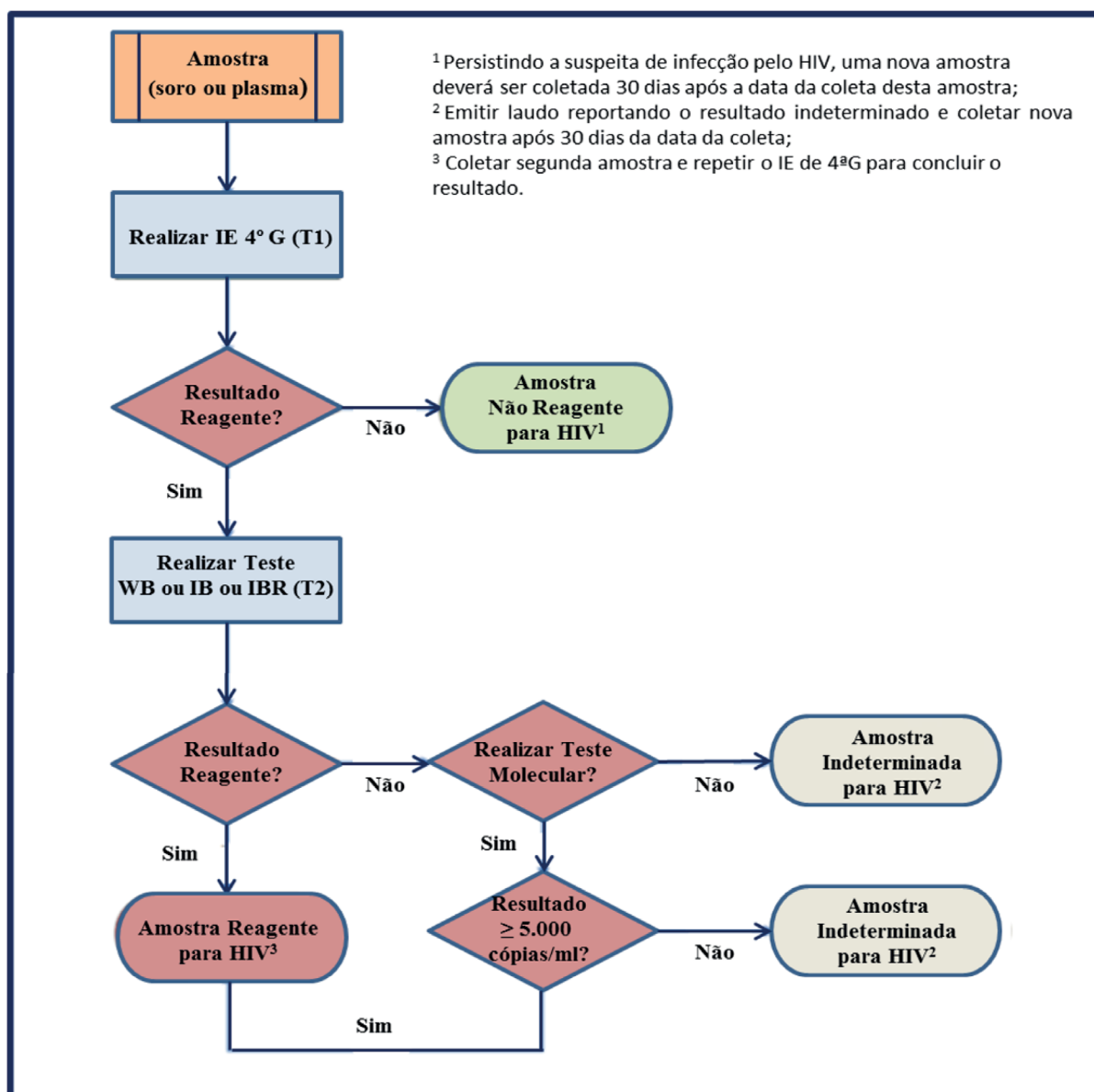
Legenda: RNA: ácido ribonucleico; p24: proteína do vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) seguida do número 24, que indica o seu peso molecular; IgM: imunoglobulina da classe M; IgG: imunoglobulina da classe G.

Os testes de HIV mais amplamente usados detectam anticorpos produzidos como parte da resposta imunológica para combater o vírus. Na maioria dos casos, os indivíduos desenvolvem anticorpos para esse vírus dentro de 28 dias após a infecção. Durante esse tempo, eles estão na chamada “janela imunológica”, quando têm baixos níveis de anticorpos que não podem ser detectados por muitos testes, mas podem transmitir o HIV.²² O tempo entre a exposição (sexual, parenteral ou ocupacional) e a detecção com precisão da infecção por um teste tem implicações importantes para o clínico concluir o diagnóstico

do paciente.²³ Testes como a carga viral (média de 10 dias) e detecção de antígeno (média de 15 dias) podem definir mais precocemente o diagnóstico.

De acordo com a Figura 2, um dos fluxogramas preconizados pelo Manual técnico¹² e muitas vezes utilizado para diagnóstico do HIV, o ensaio quantitativo de RNA do HIV-1 é necessário para diferenciar o resultado falso-reagente no ensaio de triagem (antígeno/anticorpos) e confirmatório (anticorpos) não reagente ou indeterminado.

Figura 2. Fluxograma de testes com ensaio de triagem de quarta geração seguido do teste complementar para detecção de anticorpos.



Fonte: adaptado de Ministério da Saúde (2018). Manual técnico para diagnóstico da infecção pelo HIV em adultos e crianças.

IE: imunoenensaio; 4ªG: quarta geração; T1: teste inicial; WB: Western blot; IB: imunoblot; IBR: imunoblot rápido; T2: teste complementar.

Não menos importante: os profissionais responsáveis pela execução dos exames devem considerar outras possibilidades a respeito do laboratório que podem afetar a qualidade dos resultados liberados e, conseqüentemente, o diagnóstico clínico. Trata-se da qualidade do desempenho analítico do *kit* de reagentes diagnóstico, das condições de uso do equipamento e das manutenções em consonância com o plano estabelecido das condições de estocagem dos insumos e dos controles e calibradores, que podem impactar diretamente em suas análises.

Considerações finais

Este relato de experiência chama a atenção para a utilização adequada das metodologias em diferentes estágios da infecção e para a correta interpretação de um exame laboratorial que vai além do resultado, a necessidade do conhecimento médico para avaliá-lo em conjunto com a epidemiologia e clínica do paciente. É fundamental entender a dinâmica dos vários marcadores biológicos em relação ao curso temporal em indivíduos após uma possível exposição ao HIV. Por outra perspectiva, os laboratórios devem ter medidas para avaliar o desempenho analítico dos testes sorológicos para HIV e adotar um sistema de qualidade para verificar a eficácia de seus serviços prestados. A qualidade do diagnóstico deve ser vista como um processo dinâmico, avançando para níveis que podem exigir interação próxima entre os profissionais da saúde.

Referências

1. Plebani M. Quality in laboratory medicine: 50 years on. *Clin Biochem.* 2017; 50(3):101-04. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2016.10.007>.
2. Wiredja D, Ritchie TA, Tam G, Hogan CA, Pinsky B, Shi RZ. Performance evaluation and optimized reporting workflow for HIV diagnostic screening and confirmatory tests in a low prevalence setting. *J Clin Virol.* 2021;145:105020. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2021.105020>.
3. Plebani M. Errors in laboratory medicine and patient safety: the road ahead. *Clin Chem Lab Med.* 2007;45(6):700-7. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2007.170>.
4. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CAF. Importância da gestão da qualidade na realização dos testes sorológicos de HIV. *BEPA* 2019;16(191):11-19.
5. Guimarães MCS. Exames de laboratório: sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo *Rev Soc Bras Med Trop.* 1985;18(2):117-20. <https://doi.org/10.1590/S0037-86821985000200009>.
6. 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. <https://doi.org/10.1590/S1676-24442011000300002>.

7. Oliveira CA, Mendes ME. Gestão da fase analítica do laboratório: como assegurar a qualidade na prática. 1. ed, v. 1. Rio de Janeiro: ControlLab, 2010.
8. Plebani M, Sciacovelli L, Marinova M, Marcuccitti J, Chiozza ML. Quality indicators in laboratory medicine: a fundamental tool for quality and patient safety. *Clin Biochem.* 2013; 46(13-14):1170-4. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2012.11.028>.
9. Plebani M, Astion ML, Barth JH, Chen W, Galoro CAO, Escuer MI, et al. Harmonization of quality indicators in laboratory medicine. A preliminary consensus. *Clin Chem Lab Med.* 2014; 52(7): 951-8. <https://doi.org/10.1515/cclm-2014-0142>.
10. Plebani M. External quality assurance (EQA): navigating between quality and sustainability. *Clin Chem Lab Med.* 2024. <https://doi.org/10.1515/cclm-2024-0975>.
11. Ministério da Saúde (BR). Portaria SVS/MS n. 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.
12. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis, Aids e Hepatites Virais. Manual técnico para diagnóstico da infecção pelo HIV em adultos e crianças. Brasília, 2018 (4. ed.). [Acesso em 19 ago. 2024]. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/node/57787>.
13. Han J, Wang Y, Wang B, Tong H. Diagnostic efficacy of photostimulated chemiluminescence assay for detecting anti-HIV antibodies: A retrospective study. *Pol J Microbiol.* 2023;72(4):461-6. <https://doi.org/10.33073/pjm-2023-043>.
14. World Health Organization. Delivering HIV test results and messages for re-testing and counseling in adults. Geneva; 2010. [Acesso em 29 ago. 2024]. Disponível em: <https://iris.who.int/handle/10665/44278>.
15. Erickson CP, Mcniff T, Klausner JD. Influenza vaccination and false positive HIV results. *New Engl J Med.* 2006; 354(13):1422-3. <https://doi.org/10.1056/NEJMc053417>.
16. Nota Técnica Conjunta n. 001/2011 CGSH/SAS/DAE/MS e GESAC/GGSTO/DIDBB. Direcionada aos Serviços de Hemoterapia sobre a triagem de doadores de sangue frente à vacinação contra o vírus da influenza sazonal. [Acesso em 27 set. 2024]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/sangue-tecidos-celulas-e-orgaos/notas-tecnicas/revogadas/nota-tecnica-conjunta-no-01-de-2011.pdf/view>.
17. Bukhari S, Dirweesh A, Amodu A, Nadeem M, Wallach SL. A case of false-positive HIV test in a patient with newly diagnosed Hodgkin lymphoma and literature review. *Cureus.* 2020;12(10):e10884. <https://doi.org/10.7759/cureus.10884>.
18. 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>.
19. Alonso R, Roa PL, Suárez M, Bouza E. New automated chemiluminescence immunoassay for simultaneous but separate detection of human immunodeficiency virus antigens and antibodies. *J Clin Microbiol.* 2014;52(5):1467-70. <https://doi.org/10.1128/JCM.03486-13>.

20. Whitney E, Pitrak D, Beavis KG, Moore NM, Shankaran S, Abeleda AP, et al. Utility of the signal-to-cutoff ratio and antigen index from fourth- and fifth-generation HIV-1/HIV-2 antigen/antibody assays for the diagnosis of acute HIV infection: applicability for real-time use for immediate initiation of antiretroviral therapy. *J Clin Microbiol.* 2022;60(12):e0120422. <https://doi.org/10.1128/jcm.01204-22>.
21. Centers for Disease Control and Prevention and Association of Public Health Laboratories. National Center for HIV/AIDS, Viral Hepatitis, and TB Prevention (U.S.). Division of HIV/AIDS Prevention; Association of Public Health Laboratories. 2018 Quick reference guide: Recommended laboratory HIV testing algorithm for serum or plasma specimens. [Acesso em 29 ago. 2024]. Disponível em: https://stacks.cdc.gov/view/cdc/50872/cdc_50872_DS1.pdf.
22. World Health Organization. Consolidated guidelines on HIV testing services. Geneva, 2019. [Acesso em 29 ago. 2024]. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/978-92-4-155058-1>.
23. Delaney KP, Hanson DL, Masciotra S, Ethridge SF, Wesolowski L, Owen SM. Time until emergence of HIV test reactivity following infection with HIV-1: implications for interpreting test results and retesting after exposure. *Clin Infect Dis.* 2017;64(1):53-9. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw666>.

Contribuição dos autores

Márcia Jorge Castejon: elaboração e aprovação final do manuscrito. Meire Bocoli Rossi, Karen Cristina Rolim e Francisco Erisnaldo Nunes: revisão crítica do conteúdo e aprovação final da versão do manuscrito.

Preprint

O manuscrito não foi previamente publicado em servidores preprint.

Aprovação dos autores

Os autores participaram efetivamente do trabalho, aprovam a versão final do manuscrito para publicação e assumem total responsabilidade por todos os seus aspectos, garantindo que as informações sejam precisas e confiáveis.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesse de natureza política, comercial e financeira no manuscrito.

Financiamento

Os autores declaram que não houve fontes de financiamento.