

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]Instituto Adolfo Lutz, - Centro de Imunologia, São Paulo (SP), Brasil.

^[2]Grupo Fleury – Diretoria Clínica. São Paulo (SP), Brasil.

Autor para correspondência

Márcia Jorge Castejon

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

Telefone (11) 3068-2886

Instituição: Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz

Endereço: Av. Dr. Arnaldo, 351, 10º andar. 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.

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.

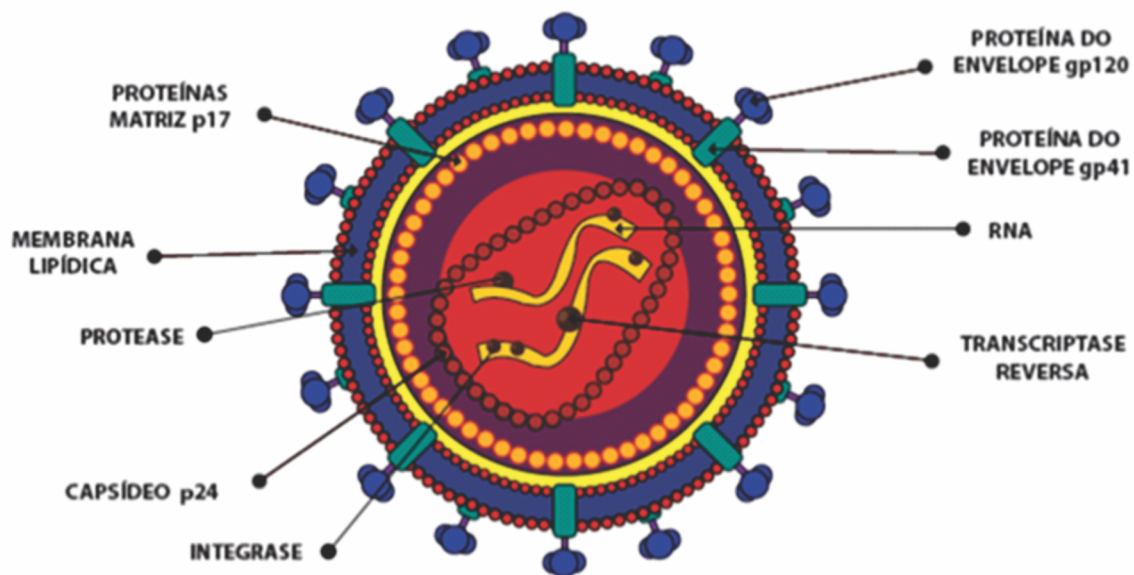
O levantamento bibliográfico foi realizado considerando-se o período de 1986 a 2021, em cinco bases de dados — PubMed, Medline, Web of Science, SciELO e LILACS, com os seguintes descritores — HIV, aids, imunoensaios, soroconversão, anticorpos anti-HIV. Esta breve revisão narrativa propõe-se a apresentar 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://bvsmis.saude.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 imunoenensaio que chegou ao mercado em seguida, o de terceira geração, tem formato “sanduiche” (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 imunocaptação.^{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 reagentes 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. Fanale-Belasio E, Raimondo M, Suligoi 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. Yilmaz 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://bvsmis.saude.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

Publicação

27/09/2022

Publicação

18/10/2022

Acesso aberto



Diagnóstico sorológico da infecção por HIV/aids no Brasil

Castejon MJ, Granato CFH, Oliveira CAF

ORIGINAL ARTICLE

Serological diagnosis of HIV/AIDS infection in Brazil

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

^[1]Adolfo Lutz Institute – Immunology Center – São Paulo – Brazil.

^[2]Fleury Group – Clinical Board – São Paulo – Brazil.

Corresponding author

Márcia Jorge Castejon

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

Telefone (11) 3068-2886

Institution: Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz

Address: Av. Dr. Arnaldo, 351, 10º andar. CEP: 01246-000. São Paulo/SP, Brasil.

Serological diagnosis of HIV/AIDS infection in Brazil

Castejon MJ, Granato CFH, Oliveira CAF

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.

INTRODUCTION

The identification in 1981 of the acquired immunodeficiency syndrome, commonly known as AIDS, became a turning point in human history. The epidemic of infection by the human immunodeficiency virus (HIV) and AIDS represents a global, dynamic and unstable phenomenon whose form of occurrence in different regions of the world depends, among other determinants, on individual and collective human behavior.¹

Globally, there were around 38.4 million (33.9 million to 43.8 million) people living with HIV in 2021, with around 1.5 million (1.1 million to 2.0 million) registered new infections in that same year.²

In Brazil between 2007 and June 2021, 381,793 cases of HIV infection were reported in the Information System for Notifiable Diseases (Sinan). Although a decrease in AIDS cases has been observed in almost the entire country, especially in recent years, it should be noted that part of this reduction may be related to underreporting, due to the focus of health professionals on the COVID-19 pandemic.³

The importance of periodic testing as a prevention strategy in the programmatic response to the HIV/AIDS epidemic has been emphasized at the global level.⁴ Technological advances have facilitated the expansion of HIV testing, with cost-effectiveness and undeniable benefits for both primary care and public health.⁵⁻⁷ Having access to an early diagnosis of infection not only increases the individual's life expectancy due to the ability to begin immediate treatment, but also prevents the transmission of the virus to other people.

Tests for diagnosing the HIV infection have evolved considerably since the Food and Drug Administration (FDA) licensed the first enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the United States on March 2, 1985.^{8,9} Produced by the American company Abbott Laboratories, in Chicago (Illinois), under the name "Abbott HTLV III EIA", this assay was initially licensed for the screening of anti-HTLV-III antibodies (the first name used for the virus that causes AIDS) in blood donors. Its rapid availability made it possible to protect countless individuals against HIV infection transmitted by blood transfusions and blood products.⁹⁻¹¹ Three months later, other companies in the United States also announced their tests and, in 1987,¹² the first Western blot (WB) assay to confirm HIV infection was approved⁹. Since then, the quality of these tests has increasingly improved, with methods that detect infection earlier and produce results faster.^{9,11}

A detailed understanding of the structure of the virus, how the infection is established in the body and the causes of AIDS, is crucial not only to identify and develop new effective drugs and vaccines, but also to define strategies for the laboratory diagnosis of the infection. HIV testing is a

critical step in controlling its spread in the population. Therefore, laboratory diagnostic strategies must be continually revised in line with new findings on replication characteristics and pathogenic mechanisms of infection.¹³

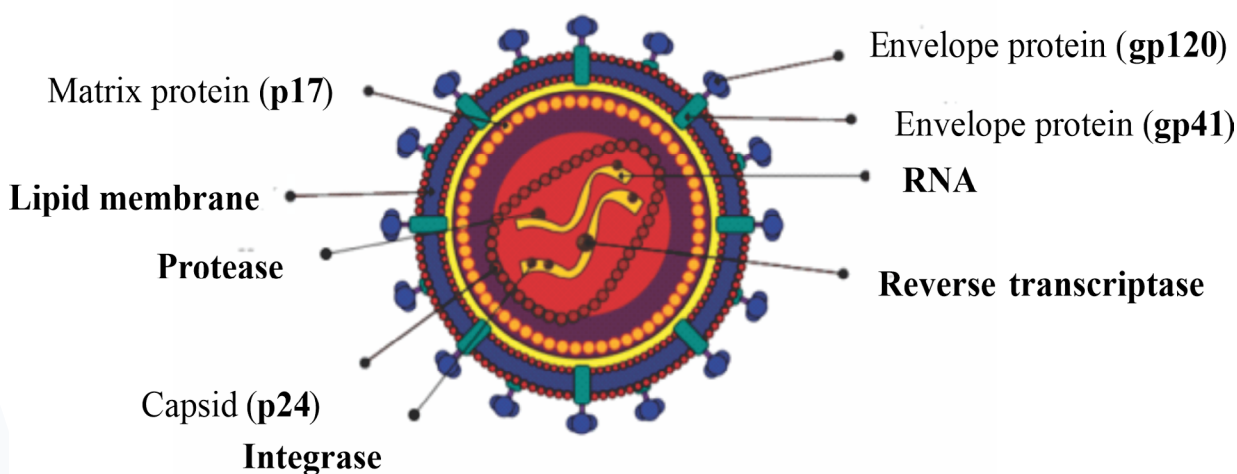
Different methodologies have been used to detect laboratory markers in HIV/AIDS infection, such as the determination of specific antibodies and circulating p24 antigen, viral load, genotyping, drug resistance and assays for recent infections.¹⁴⁻¹⁹ In Brazil, these assays have been performed by specific laboratory networks.

The bibliographic survey was implemented considering the period from 1986 to 2021, using five databases — PubMed, Medline, Web of Science, SciELO and LILACS, with the following descriptors — HIV, AIDS, immunoassays, seroconversion and anti-HIV antibodies. This brief narrative review proposes to present the different test flowcharts for the diagnosis of infection used in the country over the years, from tests based only on anti-HIV antibodies up to those using newer flowcharts in which molecular tests were included. This examination aims to contextualize their usage and the results obtained. This work also alerts to the existence of several viral and host markers present during the course of the infection that can be monitored and used for identification. The kinetics and time of appearance of markers are quite consistent between different individuals and must be taken into account when choosing a diagnostic test.

HISTORY

HIV belongs to the *Retroviridae* family, *Lentivirinae* subfamily. Retroviruses are enveloped viruses that store their genetic material in the form of ribonucleic acid (RNA)^{20,21} (Figure 1). They often induce cytopathic effects in infected cells and share a distinct biological feature: an early stage of primary infection, followed by a relatively asymptomatic period which can last from months to years, followed by a stage of overt disease.²² Like all viruses, HIV can only replicate within cells, where it controls the machinery for its replication.²³ Infection begins with recognition of viral proteins by receptors on the surface of target cells.¹⁹ Once in the infected cell, the virus must convert its RNA into deoxyribonucleic acid (DNA) through the process of reverse transcription, catalyzed by retroviral reverse transcriptase enzyme.²⁴ This enzyme transcribes a single-stranded viral RNA molecule into complementary viral DNA (cDNA), which can then be inserted into the host genome during the integration process. This depends on the retroviral integrase enzyme as well as host cellular cofactors. After successful addition of viral cDNA to the host genome (provirus), viral replication can be initiated.^{21,23,25}

Figure 1. Basic structure of HIV.



Legend: gp: glycoprotein; p: protein; RNA: ribonucleic acid.

Source: adapted from https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diagnostico_hiv_2014.pdf

Until 1986, it was believed that the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) was the only agent causing AIDS, when a second type, HIV-2, was isolated.²⁶ Due to its wide genetic variability, HIV has been classified into these two main types, as well as into several subtypes, circulating recombinant forms (CRF – circulating recombinant forms) and unique recombinant forms (URF – unique recombinant forms). This viral diversity has an impact on diagnosis, monitoring, therapy and vaccine development.²⁷

Once HIV infection has occurred, markers in the individual's bloodstream are detected in chronological order: RNA, p24 antigen and antibodies. In this context, tests for their detection are performed together to produce highly accurate and reliable results, divided into two categories: screening tests (high degree of sensitivity), designed to detect all infected individuals and confirmatory tests (high specificity) used to differentiate falsely reactive samples in screening from those that are actually from infected individuals.²⁸

False-negative results in HIV antibody screening assays can also occur and be attributed to the window period, that is, the period before HIV-specific antibodies are developed. In addition, other causes of failure may occur, such as limitations of the assay itself (sensitivity and specificity); factors related to equipment/inputs (inadequate storage of reagents and lack of calibration or maintenance of equipment) and use of suboptimal algorithms for diagnosis. These failures are also likely to occur in patients who have started early antiretroviral therapy (ART), which can lead to the development of an incomplete antibody response due to virological suppression and subsequent lack of antigen.²⁸⁻³¹

TREATMENT

HIV infection has been considered chronic and potentially controllable since the emergence of antiretroviral therapy and the availability of biological markers to monitor its progression.³²

Universal and free access to ART, which began in Brazil in 1996, had a notable impact on AIDS morbidity and mortality.³³

Currently, the recommendation is to start therapy as soon as possible after diagnosis of infection. This approach minimizes the risk of transmission, preserves the immune system, stops the spread of latent HIV reservoirs and slows the progression of the disease.³⁴⁻³⁷

DIAGNOSIS OF THE HIV INFECTION

Depending on the test objective, different algorithms are used. For blood, tissue and organ donor screening and epidemiological studies for example, a highly sensitive algorithm for detecting anti-HIV antibodies is recommended. When it comes to a clinical diagnosis, a positive result from the highly sensitive screening test must be followed by a confirmation test.

In 1989, the US Centers for Disease Control and Prevention (CDC) published guidelines for the serodiagnosis of HIV-1 infections. Serum samples that were repeatedly reactive in the enzyme immunoassay for anti-HIV antibodies were then subjected to a more specific supplementary test, the WB for HIV-1. In 1992, with the recommendation of screening tests for the simultaneous detection of anti-HIV-1 and anti-HIV-2 antibodies, the WB for HIV-2 was introduced as a confirmatory assay. In November 2002, the rapid HIV-1 test was approved to aid in the diagnosis of infection at the point of care. Faced with reactive results, it was necessary to detail protocols for the confirmation of rapid tests.^{34,38-40}

In this context, the testing algorithm aimed to improve diagnostic accuracy. The continuous improvement of diagnostic tests has been a consequence of great advances in knowledge of the immunological and pathogenic mechanisms of infection and of the virus/host interaction obtained in research on HIV/AIDS. The discoveries of the mechanisms of virus replication, as well as the immune response of the infected individual throughout the course of the disease, have been fundamental in developing tests capable of detecting specific antibodies and HIV antigen as well as nucleic acid.⁹ Thus, technological evolution provided greater sensitivity and specificity to the tests.

About three to four years after the first descriptions of AIDS (1981), its causative agent was cultivated, which led to the development and production of tests that could help health professionals

identify people living with the virus.⁴¹ As a result, four generations of immunoassays followed, defined according to the evolution of the methodologies employed since the first commercially available assay in 1985.^{28,42}

First-generation anti-HIV antibody assays were based on purified “whole virus” (viral lysate) antigens obtained from cell cultures. Detection of antibodies (Immunoglobulin G – IgG class only) bound to HIV antigens used an “indirect” approach.^{11,42} While highly sensitive and useful for protecting the blood supply, these methods can lead to false-positive results, particularly when tested in low-risk individuals.⁴³ Thus, the need for additional tests to confirm HIV infection was soon observed,¹² such as WB and indirect immunofluorescence assay (IFA).⁴³

Developed in the late 1980s, second-generation tests also detect IgG in an indirect format, but use recombinant antigens or synthetic peptides derived from HIV structural proteins to improve specificity.^{42,43} With the discovery of viral type 2, simultaneous detection assays for anti-HIV-1 and anti-HIV-2 antibodies were developed.⁴⁴ Thus, the confirmatory assay for HIV-2 was added to the testing algorithm.⁴³

The third-generation immunoassay that became available for the market has a “sandwich” (or immunometric) format and detects immunoglobulins of the IgG and IgM classes. It uses synthetic peptides and recombinant proteins as antigens both in a solid phase and in a conjugate form.

Used in several countries since the 1990s, fourth-generation immunoassays, also in a “sandwich” format, allow the combined detection of antigen (p24) and antibodies (IgG and IgM). They also include several assays that discriminate p24 antigen and antibody reactivity.^{42,45}

At the turn of the third millennium, the world witnessed a revolution in the diagnosis of HIV infection with rapid tests (RT).¹² These tests are simple immunoassays (immunochromatographic), with results in up to 30 minutes, performed primarily in person in a non-laboratory environment (point-of-care). There are several rapid test formats, the most frequently used are lateral flow immunochromatography devices (or strips), dual-path immunochromatography (DPP) and those using immunoconcentration.^{11,42} Most detect HIV-1 and HIV-2. Fourth-generation RT can differentiate between antigen and antibody reactivity.

Complementary (confirmatory) assays, performed only on samples reactive in screening tests, use different formats and principles (WB, immunoblot (IB), including rapid immunoblot (IBR) and IFA) and are less sensitive than third and fourth generation immunoassays. In cases of positivity in fourth-generation assays due to detection of p24 antigen in the absence of circulating antibodies in the blood (“serological window”), viremia may be detectable by the presence of RNA or p24 antigen.¹¹

Therefore, molecular tests were also included in the algorithms as complementary, as they help to clarify the results of acute HIV infection.⁴⁰

HIV DIAGNOSIS IN BRAZIL

The expansion of the AIDS epidemic led to the need for serological tests to diagnose HIV infection in an increasing number of people. In Brazil, the ELISA enzyme immunoassay was marketed shortly after being announced in the United States and Europe. This test was immediately used by several public and private laboratories in the investigation of suspected cases of HIV infection, as well as to determine the prevalence of the virus in different population groups.^{12,46}

In 1987, the testing of anti-HIV antibodies in blood banks for the screening of donors became nationally mandatory, in order to avoid transmission of the virus to recipients of blood transfusions.^{12,46,47} However, confirmatory tests for diagnostic purposes were not mandatory for patients with positive serology at screening.^{12,47} Between 1987 and 1989, the creation of the Center for Serological Orientation and Support (COAS), later called the Center for Testing and Counseling (CTA), was established to offer individuals the possibility of knowing their HIV serological status based on free, confidential and anonymous tests.^{46,48}

Until 1998, national health authorities had not standardized the way in which, in terms of algorithms or test flowcharts, the diagnosis of HIV infection in the country would be carried out.¹² Thus, guidelines from North America (also endorsed by the World Health Organization – WHO), were followed by most, if not all, Brazilian laboratories.¹² In this model, ELISA was the choice for initial screening, but following an important dichotomy regarding the use of confirmatory tests. In the public network, the Ministry of Health started to produce, through the Laboratory of Bio-Manguinhos Reagents of the Osvaldo Cruz Foundation (Fiocruz), the IFA for HIV-1 which had a low cost when compared to the WB.¹²

There were several cases of false-positive results in the screening for the detection of anti-HIV antibodies which were not subsequently submitted to confirmatory tests. Consequently, in June 1998 the Ministry of Health issued Ordinance SVS/MS No. 488/1998, standardizing the procedures for the laboratory diagnosis of HIV infection in individuals over 2 years of age, through a flowchart of sequential tests. The aim was to maximize the degree of reliability of the results of these tests using serum or plasma samples.^{12,49} Regarding children under 2 years of age, serology cannot be used to establish a diagnosis due to the passive transfer of antibodies from seropositive mothers, which can be detected in the child's blood for up to two years after birth. In 2000, the National STD and AIDS/MS

Coordination published a flowchart regulating the use of viral load (VL) for HIV (quantitative method) in the diagnosis of infection in children in this age group.⁵⁰

For the detection of anti-HIV antibodies, sequenced procedures in hemotherapy centers and in clinical laboratories, both public and private, became obligatory.⁴⁹ Two separate screening tests were used in the first stage (Stage I) of sequential tests. In Stage II, the IFA was used in samples with reactive or discordant results in tests performed concomitantly in Stage I. Finally, in a third stage (Step III), the WB assay was used in a sample with non-reactive or indeterminate results in the IFA or when Step II could not be performed.

After five years, with the improvement of screening tests, Ordinance GM/MS No. 488/1998 was replaced by Ordinance GM/MS No. 59, of January 28, 2003,⁵¹ came into force, which modified the previously proposed flowchart. Initial testing (Step I) stopped performing two parallel screening tests, resulting in a significant reduction in the total cost of diagnosis.¹² In addition to the IFA, Stage II allowed the use of a type IB assay. This revision did not change the flow of Step III, except for the WB assay interpretation criteria, which needed to follow the diagnostic kit manufacturer's instructions.

In the mid-2000s, the emergence of rapid tests caused great progress in the diagnosis of HIV infection.⁴⁷ In Brazil, the use of RT began with the screening of pregnant women who had not been previously tested for the virus, conforming to the recommendations for prophylaxis of mother-to-child transmission. However, the results obtained in these tests were considered, requiring the referral of a blood sample to the laboratory to clarify the diagnosis.⁴⁷

In the search for alternatives that would expand access to knowledge of the HIV infection status of infected individuals, especially in places in the country without a laboratory network, specific measures were adopted. The goals were to interrupt the transmission chain and provide adequate care. The use of rapid tests (RT) was regulated by Ordinance SVS/MS No. 34, of July 28, 2005.⁵² Two different rapid tests (RT1 and RT2) started to be performed sequentially and, in blood samples with reactive or discordant results, a third, the RT3 was used to confirm the diagnosis.

In order to consolidate the algorithms for use in the laboratory and for rapid testing within a single document, Ordinance SVS/MS No.151 of October 14, 2009 was published,⁵³ authorizing the minimum flowchart for the laboratory diagnosis of HIV in individuals aged over 18 months. The diagnosis started to be performed using a flowchart divided into two stages: Stage I (screening) and Stage II (complementary). The rapid tests enabled confirmation of a negative result with only RT1, while the positive in RT1 also passed through RT2. In cases of discordant results between these two tests, it was necessary to collect a new sample by venipuncture and to have it follow the laboratory

flowchart process.¹² It is worth mentioning that within the regulation is the requirement for blood samples to be collected on filter paper using the diagnostic kits that were developed for this purpose.

On December 17, 2013, Ordinance SVS/MS No. 29 was published,²⁸ which regulated the diagnosis of HIV infection in Brazil and approved the use of the “*Manual técnico para diagnóstico da infecção pelo HIV em adultos e crianças*” (Technical manual for the diagnosis of HIV infection in adults and children, in Portuguese).” This document described the six flowcharts, the first two (Flowchart 1 and Flowchart 2) for RT diagnosis, while the others (Flowchart 3, Flowchart 4, Flowchart 5, and Flowchart 6) dealt with laboratory diagnosis. The latest edition of the manual, which has gone through four revisions, was published in 2018. Flowchart 1 employs two rapid tests (RT1 and RT2), which contain different antigens, used sequentially in blood samples, and these can be obtained by the puncture of the digital pulp or by venipuncture (whole blood, serum or plasma). Flowchart 2 uses two rapid tests (RT1-OF and RT2) of different antigens, also used sequentially. RT1- OF is performed with a sample of oral fluid (OF), while RT2 uses a blood sample, which can be obtained by puncture of the digital pulp or by venipuncture. The diagnosis of HIV infection in a laboratory environment is performed by means of initial and complementary tests in serum or plasma samples. This method can also be used for diagnostic confirmation of samples that present discordant results in the RT of flowcharts 1 and 2. Flowcharts 3 and 6 use a fourth-generation immunoassay as an initial test (T1), differing in the complementary step for a sample with a reactive result. The complementary test (T2) in flowchart 3 is a molecular assay for viral load quantification (VL), while the one in flowchart 6 is for the detection of antibodies (WB or IB). In case of discordant results between T1 and T2, the sample is submitted to another complementary test (T3). In flowchart 3, the WB, IB or IBR is used as complementary test and in flowchart 4, the molecular test is used sequentially after a reactive initial test. Flowcharts 4 and 5 use the third-generation immunoassay as an initial test and also have a complementary step. Flowchart 4 is similar to flowchart 3 (the molecular test) as is flowchart 6 to flowchart 5 (antibody detection test).²⁸ It is worth mentioning that IFA was widely used as a complementary test during the first decade of the HIV epidemic, but it was replaced by WB and IB.²⁸ The summary of the flowcharts used in the country since 1998 is described in the [Table 1](#).

Table 1. Flowcharts recommended by the Ministry of Health for the diagnosis of HIV infection in Brazil.

Ordinance	Publication	Stage I	Stage II	Stage III
SVS/MS n° 488	1998	Two sequential tests (immunoassay)	IFA	WB
GM/MS n° 59	2003	Immunoassay	IFA or IB	WB
SVS/MS n° 34	2005	RT1 + RT2 simultaneous tests	RT3	_____
SVS/MS n° 151	2009	Immunoassay	IFA, IB or WB	_____
		RT1	RT2	_____
		RT1 (Flowchart 1)	RT2	_____
		RT1 (OF) (Flowchart 2)	RT2	_____
		Fourth-generation immunoassay (Flowchart 3)	MT	IB or WB
SVS/MS n° 29	2013	Third-generation immunoassay (Flowchart 4)	MT	IB or WB
		Third-generation immunoassay (Flowchart 5)	IB or WB	MT
		Fourth-generation immunoassay (Flowchart 6)	IB or WB	MT

IFA:indirect immunofluorescence assay; WB: Western blot; IB: immunoblot; RT: rapid test; OF: oral fluid; MT: molecular test; SVS: Health Surveillance Secretariat; GM: Cabinet of the Minister; MS: Brazilian Ministry of Health

In this context, the testing algorithm for the serological diagnosis of HIV infection has been used for more than 20 years in Brazil. Given the large number of technological advances in the tests, the Ministry of Health has been working to develop new potential algorithms, both in laboratories and in places that enable delivery of a result during a patient's visit.

In the current era of immediate ART and pre-exposure (PrEP) or post-exposure (PEP) prophylaxis, confidently diagnosing HIV becomes increasingly complex. When used optimally, antiretroviral therapy can effectively control the replication of the virus, prevent the development of AIDS, prolong the life of its carriers, significantly reduce the risk of transmission and have an impact on incidence of the virus at a population level.⁵⁴⁻⁵⁶

Studies have shown that continuous treatment with antiretroviral therapy can modify the typical evolution of the HIV-specific antibody response, as well as alter the expected kinetics of the response in individuals who discontinue therapy.³⁷ The reduction or elimination of viral expansion by the use of ART in acute infection, below the threshold necessary for the evolution of an anti-HIV immune response, can result in a delay or a block in the formation of specific antibodies against the virus. These antibodies are the basis for the serological detection of HIV. It is critical that the results of tests based on the detection of specific antibodies or virological markers are analyzed in conjunction with the patient's clinical conditions and epidemiological data, considering that the quality of the results can be influenced.^{36,57-60}

Scientific research and epidemiological surveillance are needed to determine the most appropriate assays for accurate and affordable testing algorithms.⁵⁴ Some biological parameters, however, lead to inconsistent or conflicting test results and should be investigated.³⁵ Even with limitations, tests for diagnosis of infection continue to play an important role in HIV prevention.⁴²

FINAL CONSIDERATIONS

With the evolution of generations of serological tests, it has been possible to diagnose HIV infection at an increasingly early stage, reducing the immunological window while improving the positive predictive value and thus enabling the availability of various new options for the market. It is important to always keep in mind that the immune response, including the serological one, is very dynamic and, if a person does not meet the defined criteria for seropositivity, it is essential to undergo a serological follow-up after 15 to 30 days. This measure makes it possible to observe whether a more complete “serological conversion” would have occurred, allowing a more conclusive definition of a person’s serological status.

This narrative review shows the different scenarios in which HIV diagnosis has been performed and reinforces the need for frequent evaluations the laboratory assays. This is because the quality of results can be influenced by different biological factors of the host and agent, such as use of ART and viral diversity.

REFERENCES

1. Brito AM, Castilho EA, 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. [access on: Aug 11, 2022]. Available: 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. [access on: Feb 10, 2022]. Available: <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. [access on: Jun 14, 2022]. Available: 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, Suligoì 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. Três décadas de diagnóstico de HIV: a experiência brasileira. In: Ministério da Saúde. *Histórias de luta contra a aids* [internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2015:258-75. [access on: Mar 5, 2022]. Available: <https://www.ucs.br/ips2/wp-content/uploads/2020/09/Tres-Decadas-de-Diagnostico-de-HIV-A-Experiencia-Brasileira.pdf>
13. Fanale-Belasio E, Raimondo M, Suligoi 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-NC: Family Health International. 1991. 170p.
17. World Health Organization. *HIV testing methods*. UNAIDS – Technical update [internet]. Geneva; Nov 1997. [access on: Mar 5, 2022]. Available: 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. [access on: Mar 5, 2022]. Available: 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. Yilmaz 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/cb600131g>
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.* Dec 18, 2013. Section 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 [access on: Feb 10, 2022]. Available: https://bvsmms.saude.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. [access on: Feb 23, 2022]. Available: <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. [access on: Feb 23, 2022]. Available: <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. [access on: Feb 23, 2022]. Available: <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. [access on: Feb 23, 2022]. Available: <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. [access on: Feb 10, 2022] Available: <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. [access on: Feb 24, 2022] Available: 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. [access on: Feb 24, 2022]. Available: 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*. Jun 18, 1998; Section 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*. Jan 30, 2003. Section 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. Brasília: *Diário Oficial da União*. Jul 29, 2005. Section 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*. Oct 16, 2009. Section 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>
-

HISTORIC

Received

06/17/2022

Approved

09/27/2022

Publication

10/18/2022

Open Access



Serological diagnosis of HIV/AIDS infection in Brazil

Castejon MJ, Granato CFH, Oliveira CAF