



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA - PPGIm

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**RELAÇÃO ENTRE CONTAGEM TOTAL DE LINFÓCITOS E CONTAGEM DE
CÉLULAS T CD4⁺ EM PACIENTES SOROPOSITIVOS PARA HIV.**

ANA LUIZA DIAS ANGELO

SALVADOR - BAHIA

2005



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA - PPGIm

**RELAÇÃO ENTRE CONTAGEM DE LINFÓCITOS TOTAIS E CONTAGEM DE
CÉLULAS T CD4⁺ EM PACIENTES SOROPOSITIVOS PARA HIV.**

ANA LUIZA DIAS ANGELO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Imunologia do Instituto de Ciências da Saúde - Universidade Federal Bahia, como exigência para obtenção do título de Mestre em Imunologia.

ORIENTADOR: DR. CARLOS ROBERTO BRITES ALVES

SALVADOR-BAHIA

2005

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do Centro de Pesquisas Gonçalo
Moniz / FIOCRUZ – Salvador / Bahia

Angelo, Ana Luiza Dias

A584r **Relação entre contagem total de linfócitos e contagem de células T
CD4+ em pacientes soropositivos para HIV. / Ana Luiza Dias Ângelo.
Salvador: Instituto de Ciências da Saúde / HUPES / UFBA
2005.
83 f.: il. ; 30 cm.**

**Dissertação (Mestrado em Imunologia), Instituto de Ciências da
Saúde / Hospital Universitário Professor Edgard Santos / Universidade
Federal da Bahia, 2005.**

1. Imunologia celular. 2. HIV. 3. AIDS. 4. CD4. 5. TLC. I. Título.

CDU 616. 98: 577. 27

“As aparências para a mente são de quatro tipos. As coisas ou são o que parecem ser; ou não são, nem parecem ser; ou são e não parecem ser; ou não são mas parecem ser. Posicionar-se corretamente frente a todos esses casos é a tarefa do homem sábio.”

Epictetus, Século II d.C.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Carlos Brites pela oportunidade de trabalho, orientação, confiança, e boa vontade nas correções e esclarecimentos deste estudo e por acreditar na minha capacidade técnica e profissional durante todo esse período.

Ao Dr. Eduardo Martins-Netto pelos inúmeros momentos de atenção, dedicação e paciência. E pela contribuição na análise estatística deste trabalho.

Aos biólogos Alex José Leite Torres e André Maurício Costa Ramos pela amizade e ajuda na execução deste trabalho.

A todos do Laboratório de Retrovírus do Hospital Universitário Professor Edgard Santos – HUPES, pela compreensão, apoio e incentivo, graças aos quais foi possível a realização deste trabalho.

A Dr. Márcia Lima, Laboratório DML, pela colaboração e execução dos hemogramas, objeto de estudo deste trabalho.

Ao Corpo Docente e aos Colegas do Curso de Pós-Graduação em Imunologia – ICS – UFBA.

Ao Laboratório de Retrovírus pelo apoio financeiro a esta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal a Nível Superior – CAPES, pela bolsa concedida.

Aos funcionários da biblioteca do CPqGM/FIOCRUZ pela colaboração na obtenção do material científico, em especial à bibliotecária Cristina Carvalho pela elaboração da ficha catalográfica deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	14
1.1. Aspectos gerais	14
1.2. Epidemiologia da infecção pelo HIV	16
1.3. Resposta imune celular anti-HIV-1	19
1.4. Resposta imune humoral anti-HIV-1	21
1.5. Imunopatogênese da infecção pelo HIV	23
1.6. Aspectos clínicos da infecção pelo HIV	25
1.7. Monitoramento do paciente portador do vírus HIV	26
1.8. Contagem de células T CD4 ⁺	27
1.9. Tratamento em adultos infectados pelo vírus HIV	28
2. RACIONAL	33
3. OBJETIVOS	35
4. MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1. Características da população em estudo	36
4.2. Amostras	37
4.3. Procedimentos laboratoriais	37
4.3.1. Sorologia para o Vírus Linfotrópico de célula T Humano (HTLV I/II)	37
4.3.2. Contagem total de linfócitos	38
4.3.3. Contagem de células T CD4 ⁺	38
4.3.4. Carga viral	40
4.4. Análise estatística	40
5. RESULTADOS	43
5.1. Características da população em estudo	43
5.2. Características das amostras	45
5.3 Análise estatística	50
6. DISCUSSÃO	58

7. CONCLUSÃO	66
8. ANEXOS	
Anexo I: Sistema OMS de estadiamento da infecção pelo vírus HIV em adolescentes e adultos.	67
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Sorologia para HTLV I/II	44
Figura 2 - Uso de terapia antiretroviral	44
Figura 3 - Número de observações.	45
Figura 4 - Distribuição da contagem absoluta de células T CD4 ⁺ e contagem total de linfócitos em relação às categorias de importância clínica, no grupo de pacientes co-infectados HIV/HTLV.	46
Figura 5 - Distribuição da contagem absoluta de células T CD4 ⁺ e contagem total de linfócitos em relação às categorias de importância clínica, no grupo de pacientes em terapia HAART.	48
Figura 6- Distribuição da contagem absoluta de células T CD4 ⁺ e contagem total de linfócitos em pacientes virgens de tratamento.	50
Figura 7 – Curvas ROC. Acurácia da contagem total de linfócitos em predizer: (a) contagem absoluta de células T CD4 ⁺ < 200 cel/mm ³ .	54
(b) contagem absoluta de células T CD4 ⁺ < 350 cel/mm ³ .	54
Figura 8 – Curvas ROC. Acurácia da contagem total de linfócitos em predizer: (a) contagem absoluta de células T CD4 ⁺ ≥ 200 cel/mm ³ .	55
(b) contagem absoluta de células T CD4 ⁺ ≥ 350 cel/mm ³ .	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Anticorpos monoclonais conjugados a compostos fluorescentes utilizados para marcação das subpopulações de linfócitos T CD4 ⁺ e CD8 ⁺ através de citometria de fluxo	39
Tabela 2 - Distribuição etária da população em estudo	43
Tabela 3 – Descrição dos dados de contagem absoluta de células T CD4 ⁺ , contagem absoluta de células T CD8 ⁺ e contagem total de linfócitos em pacientes co-infectados e mono-infectados.	45
Tabela 4 – Descrição dos dados de contagem absoluta de células T CD4 ⁺ , contagem absoluta de células T CD8 ⁺ e contagem total de linfócitos em pacientes do grupo em tratamento e do grupo sem uso de terapia antiretroviral.	46
Tabela 5 – Descrição dos dados de contagem absoluta de células T CD4 ⁺ , contagem absoluta de células T CD8 ⁺ e contagem total de linfócitos em pacientes com carga viral plasmática indetectável e pacientes com carga viral detectável.	47
Tabela 6 – Descrição dos dados de contagem absoluta de células T CD4 ⁺ , contagem absoluta de células T CD8 ⁺ e contagem total de linfócitos em relação ao sexo dos pacientes.	47
Tabela 7 – Descrição dos dados de contagem absoluta e percentual de células T CD4 ⁺ .	49
Tabela 8 – Coeficiente de correlação de Spearman entre contagem total de linfócitos (TLC) e contagem de células T CD4 ⁺ , contagem percentual de linfócitos CD4 ⁺ e contagem absoluta de células T CD8 ⁺ .	51
Tabela 9 – Combinação de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (PPV), valor preditivo negativo (NPV) para determinar TLC capaz de prever a contagem absoluta de células T CD4 ⁺ < 200 cel/mm ³ .	52
Tabela 10 – Combinação de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (PPV), valor preditivo negativo (NPV) para determinar TLC capaz de prever a contagem absoluta de células T CD4 ⁺ < 350 cel/mm ³ .	53

Tabela 11 – Acurácia da contagem total de linfócitos (TLC) em predizer a percentagem de células T CD4⁺ < 20% e < 15%.

56

Tabela 12 – Comparação da acurácia da contagem total de linfócitos em predizer contagem absoluta de células T CD4⁺ em pacientes do sexo masculino e do sexo feminino.

57

LISTA DE ABREVIATURAS

ADCC	Citotoxicidade mediada por células e dependente de anticorpos
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ART	Terapia antiretroviral
CCR5	Receptor para β -quimiocinas 5
CD4	Molécula de diferenciação celular 4
CDC	Centro para Prevenção e Controle de Doenças
CTL	Linfócitos T Citotóxicos
CXCR4	Receptor para α -quimiocinas 4
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
FDC	Célula Dendrítica Folicular
FITC	Isotiocianato de fluoresceína
gp120	Glicoproteína do envelope do vírus HIV de 120 KD
gp41	Glicoproteína do envelope do vírus HIV de 41 KD
HAART	Terapia Antiretroviral potente
HIV-1	Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1
HIV-2	Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 2
HLA	Antígenos associados a Leucócitos Humanos
HTLV-I	Vírus Linfotrópico de célula T Humano tipo I
HTLV-II	Vírus Linfotrópico de célula T Humano tipo II
HTLV-III	Vírus Linfotrópico de célula T Humano tipo III
HUPES	Hospital Universitário Prof. Edgard Santos
ICTV	Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus
IL	Interleucina
IFN-γ	Interferon gama
KD	Kilodaltons
LAV	Vírus Associado à Linfadenopatia
MHC	Complexo de histocompatibilidade principal
MIP-1α	Proteína Inflamatória 1 α de Macrófagos

MIP-1β	Proteína Inflamatória 1 β de Macrófagos
NK	Célula assassina natural
NPV	Valor Preditivo Negativo
OI	Infecção Oportunista
OMS	Organização Mundial de Saúde
p6	Proteína do vírus HIV de 06 KD
p7	Proteína do vírus HIV de 07 KD
p17	Proteína associada ao nucleocapsídeo do vírus HIV de 17 KD
p19	Proteína da matriz do vírus HIV de 19 KD
p24	Proteína associada ao nucleocapsídeo do vírus HIV de 24 KD
PE	Ficoeritrina
PerCP	Proteína de clorofila de <i>Peridinium sp</i>
PPV	Valor Preditivo Positivo
RANTES	Fator de regulação após ativação, expresso e secretado por células T
RNA	Ácido Ribonucléico
SE	Sensibilidade
SIV	Vírus da Imunodeficiência Símia
SPE	Especificidade
Th1 e Th2	Linfócitos T CD4 ⁺ auxiliares
TLC	Contagem Total de Linfócitos
UDAI	Unidade Docente e Assistencial em Infectologia
UDIs	Usuários de drogas injetáveis

RESUMO

A contagem de células T CD4⁺ é o principal marcador imunológico usado para definir o momento adequado para início da terapia antiretroviral e profilaxia para infecções oportunistas em pacientes portadores do vírus HIV. Seu alto custo limita o uso desta técnica em muitos locais no mundo. O objetivo deste estudo foi avaliar a utilidade da TLC em substituir a contagem de células T CD4⁺ como marcador imunológico para detectar os pacientes com necessidade de profilaxia contra infecções oportunistas (CD4 < 200 cel/mm³), e aqueles com CD4 < 350 cel/mm³ (limite brasileiro que define AIDS). Nós analisamos a TLC e contagem de células T CD4 de 1174 pacientes infectados pelo HIV provenientes do HUPES durante o período de maio/2003 a setembro/2004. A contagem de células T CD4⁺ foi realizada por citometria de fluxo e a contagem total de linfócitos por contador hematológico automatizado. Foram analisadas um total de 1510 amostras. A contagem de células T CD4⁺ teve valor mínimo de 4 cel/mm³ e valor máximo de 2531 cel/mm³, TLC teve mínimo de 300 cel/mm³ e máximo de 6200 cel/mm³. O melhor valor de TLC, capaz de prever CD4 < 200 cel/mm³, foi ≤ 1700 cel/mm³ (SE=76,3%; SPE=65,2%, NPV=93,1%), mas PPV de somente 31,1%. Resultados semelhantes foram encontrados para contagem de células T CD4⁺ < 350 cel/mm³, entretanto observou-se menor sensibilidade (SE= 59,4%, SPE=96,6%, PPV= 57,3% e NPV= 79,4%). Estes resultados indicam que apesar da forte associação existente entre TLC e contagem de células T CD4⁺, a contagem total de linfócitos não é um bom indicador da contagem de células T CD4⁺ em pacientes portadores do vírus HIV, mas pode ser um útil indicador para dispensar a realização da contagem de células T CD4⁺.

ABSTRACT

CD4 count is the major surrogate marker for defining the best time to start antiretroviral therapy in HIV infected patients, as well as for defining the duration of prophylaxis against opportunistic infection. Its high cost, however, limits the use of this technique in resource-limited settings. Total lymphocyte count (TLC) has been evaluated as a substitute marker for CD4 count. The objective of this study is to evaluate the capability of TLC to be used as a substitute marker for CD4 count in order to detect patients who need prophylaxis against opportunistic infection ($CD4 < 200 \text{ cells/mm}^3$), and those with $CD4 < 350 \text{ cells/mm}^3$ (Brazilian limit to define AIDS). We evaluated TLC and CD4 of 1174 HIV-infected patients, in HUPES, from May/2003 to September/2004. CD4 counts were performed by flow cytometry, and TLC by an automated hematological counter. A total of 1510 subjects were evaluated. The CD4 count range was 4 to 2531 cells/mm^3 , and the TLC range 300 to 6200 cells/mm^3 . The best TLC limit to estimate a $CD4 < 200 \text{ cells/mm}^3$ was $\leq 1700 \text{ cells/mm}^3$ (SE= 76.3%; SPE= 65.2%, NPV= 93.1%), but the PPV was only 31.1%. The same findings were observed for the limit of $< 350 \text{ cells/mm}^3$, but we find a worst sensitivity (SE= 59.4%, SPE= 96.6%, PPV= 57.3% and NPV= 79.4%). Altogether, these results indicates that although a statistical correlation exists between TLC and the $CD4^+$ T cell count, the TLC is not a good predictor of the $CD4^+$ T cell count. TLC would not be a safe marker for a $CD4^+$ T cell count in HIV-infected patients, but could be used as an surrogate to monitoring the need to perform CD4 cell count.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos gerais

A AIDS foi descrita como uma nova entidade clínica em 1981, nos Estados Unidos, a partir da constatação de que havia um elevado número de adultos homossexuais jovens, do sexo masculino e sexualmente ativos, que apresentavam infecções consideradas raras em indivíduos imunocompetentes, tais como, o aparecimento de um tipo raro de câncer (Sarcoma de Kaposi) e infecções oportunistas causadas, por exemplo, por *Pneumocystis carinii* (atualmente, *P. jiroveci*) e *Candida albicans* (GOTTLIEB *et al.*, 1981).

Em pouco tempo tornou-se evidente que estes indivíduos possuíam um severo déficit imunológico, resultando, predominantemente, em uma dramática redução dos linfócitos T e a inversão da razão entre células T auxiliares e as células T supressoras (MASUR *et al.*, 1981; SHEARER, 1998; FAUCI, 2003).

Em 1983, a caracterização da enzima viral, transcriptase reversa, forneceu a evidência que comprovou a hipótese de que a AIDS poderia ser causada por um retrovírus (REY *et al.*, 1984; BARRÉ-SINOUSI, 2003).

Neste mesmo ano, foram publicadas as primeiras informações sobre o vírus causador da AIDS, que foi inicialmente denominado Vírus Associado à Linfadenopatia (LAV), isolado pelo grupo de pesquisadores liderados por Luc Montagnier, do Instituto Pasteur de Paris (MONTAGNIER, 2002). Simultaneamente, o grupo de Robert Gallo, do Centers for Disease Control and Prevention (CDC), dos Estados Unidos, relatou o isolamento de um novo Vírus Linfotrópico de Célula T Humano (HTLV). O segundo grupo de pesquisadores chamou esse agente de HTLV III (GALLO, 2002).

Posteriormente, ficou comprovado que o vírus descrito pelo grupo americano era o mesmo isolado pelo grupo francês, então, em 1986, o International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) recomendou a denominação de Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) (FREED & MARTIN, 2001).

O HIV é classificado na família Retroviridae, gênero *Lentivirus*. Três principais tipos de lentivírus são bem caracterizados em primatas: Vírus da Imunodeficiência Símia (SIV), Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1 (HIV-1), o tipo predominante no mundo, e Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 2 (HIV-2), primariamente encontrado no Leste da África e Índia (FAUCI, 1988; BEER *et al.*, 1999; HUTCHINSON, 2001).

A transmissão do HIV acontece por contato sexual, inoculação com sangue ou hemoderivados contaminados, e por transmissão vertical (BAUM & NESSELHOLF, 1988).

O HIV é um vírus envelopado, que possui uma estrutura complexa, e ligeiramente esférica, com diâmetro aproximado de 1/10.000 mm. Este envelope é composto por uma dupla camada fosfolipídica, derivada da membrana do hospedeiro, que sustenta numerosas espículas. Cada espícula é composta por quatro moléculas de glicoproteína gp120 e igual número da glicoproteína gp41 fixadas na membrana. Abaixo do envelope existe uma camada constituída por uma matriz protéica, composta pela proteína p17, formando o capsídeo viral. Este capsídeo apresenta-se em forma de cone e é composto por uma outra proteína, p24. Tendo em seu interior o material genético do vírus HIV, que é formado por duas moléculas idênticas de RNA de fita simples, com polaridade positiva. As enzimas virais integrase, protease e transcriptase reversa, assim como as proteínas, p6 e p7, também se encontram dentro do capsídeo viral (FRANKEL & YOUNG, 1998; CAO & WALKER, 2000).

Com base em análises filogenéticas, o HIV-1 pode ser dividido em três principais grupos: **M** (major), **N** (new), e **O** (outsider) (CAO & WALKER, 2000). No grupo **M**, grupo predominante, está classificada a maioria dos HIV-1, havendo 11 subtipos (A-K) (HOGAN & HAMMER, 2001). Estudos de prevalência dos grupos **N** e **O** revelam que a seqüência de nucleotídeos do grupo **N** é restrita a República de Camarões. O grupo **O** possui apenas um subtipo e foi também descrito na República de Camarões, sendo posteriormente encontrado no Gabão e Nova Guiné (GOFF, 2004).

Em relação ao HIV-2, existem cinco subtipos (A-E). Atualmente, ainda se discute o significado biológico desses subtipos em termos de transmissão e patogenicidade (SANKALÉ & KANKI, 2004).

GAO e cols. (1999), demonstraram que o chimpanzé *Pan troglodytes troglodytes* é o reservatório primário para o vírus HIV-1. Quanto à origem do HIV-2, parece que o macaco da espécie *Cercocebus atys* é o responsável por sua disseminação. Adicionalmente, o vírus SIV, que infecta uma subespécie de chimpanzés africanos, apresenta uma similaridade genética muito estreita com o HIV, apontando para a hipótese de que ambos tenham evoluído de uma espécie comum. Provavelmente, o estabelecimento da infecção em humanos foi resultado da transmissão interespecie (WOROBEY *et al.*, 2004).

1.2. Epidemiologia da infecção pelo HIV-1

A pandemia causada pelo HIV é, incontestavelmente, a maior crise em saúde pública desde a II Guerra Mundial (FLEMING, 2004).

Em 2004, o número total de pessoas que viviam com o Vírus da Imunodeficiência Humana alcançou seu nível mais alto (BECKER, 2004). A UNAIDS estima que 39,4 milhões (35,9 - 44,3 milhões) de pessoas estejam vivendo com o vírus. Essa cifra inclui os 4,9 milhões (4,3 - 6,4 milhões) de pessoas que contraíram o HIV em 2004. A epidemia mundial de AIDS ceifou cerca de 3,1 milhões (2,8 - 3,5 milhões) de vidas humanas durante o ano de 2003.

O número de pessoas que vivem com o vírus HIV aumentou em todas as regiões do mundo em comparação com os anos anteriores, e os aumentos mais pronunciados foram nas regiões da Ásia Oriental, Europa Oriental e Ásia Central (OPUNI & BERTOZZI, 2004).

O número de pessoas portadoras do vírus na Ásia Oriental cresceu cerca de 50% entre 2002 e 2004, principalmente como consequência da epidemia de rápido crescimento que afeta a China. Em 2004, na Europa Oriental e Ásia Central houve um aumento de 40% no número de portadores em relação a 2002. Grande parte desta evolução se atribui à epidemia que ressurgiu na Ucrânia e ao crescente número de pessoas que vivem com o vírus na Federação da Rússia (FAUCI, 2003).

A África Subsaariana segue sendo a região mais afetada, com 25,4 milhões (23,4 - 28,4 milhões) de pessoas portadoras do vírus HIV no ano de 2004, em comparação com os 24,4 milhões (22,5 - 27,3 milhões) em 2002. Pouco menos do que 2/3 (64%) de todas as pessoas portadoras do vírus HIV vivem na África Subsaariana, assim como mais de 3/4 (76%) de todas as mulheres que são soropositivas. A epidemia na África Subsaariana parece estabilizar-se de forma geral, com uma prevalência de aproximadamente 7,4% em toda a região. Contudo, esta perspectiva resumida esconde aspectos importantes, incluindo o fato de que, uma prevalência do vírus HIV mais ou menos estável significa que as pessoas seguem infectando-se e falecendo como consequência da AIDS aproximadamente nas mesmas proporções (MESSELE *et al.*, 1999; POPE & HAASE, 2003; ONUSIDA/OMS, 2004).

A prevalência do HIV no Caribe é a segunda mais alta do mundo. Em cinco países (Bahamas, Belice, Guiana, Haiti e Trindade & Tobago), esta taxa excede 2%, e a AIDS passou a ser a principal causa de mortalidade entre os adultos de 15 a 44 anos de idade (ONUSIDA/OMS, 2004).

Em 2004, mais de 1,7 milhões (1,3 – 2,2 milhões) de pessoas eram portadoras do vírus HIV na América Latina. Destes, aproximadamente 95.000 (73.000 – 120.000) pessoas faleceram devido a AIDS, e outras 240.000 (170.000 – 430.000) contraíram a infecção neste ano. Entre os jovens de 15 a 24 anos, estima-se que 0,5% (0,4 – 0,9%) das mulheres e 0,8% (0,6 – 1,3%) dos homens possuam HIV (ONUSIDA/OMS, 2004).

Dos países da região, somente Guatemala e Honduras possuem uma prevalência nacional em adultos superior a 1%, mas as prevalências mais baixas de outros países encobrem graves epidemias localizadas, incluindo o Brasil, que abriga mais de 1/3 de todas as pessoas que vivem com HIV na América Latina (ONUSIDA/OMS, 2004).

A epidemia no Brasil propagou-se em todas as regiões do país e mostra certas variações. A princípio afetou, majoritariamente, os homossexuais e logo após os consumidores de drogas intravenosas, mas atualmente a epidemia se mostra mais heterogênea. A transmissão heterossexual é atualmente responsável por uma proporção crescente das infecções pelo HIV (VALDISERRI *et al.*, 2003; MARTINS *et al.*, 2003).

Não se deve subestimar o papel do consumo de drogas intravenosas na epidemia brasileira. Em algumas regiões, os consumidores de drogas intravenosas constituem no mínimo a metade dos casos de AIDS. Em Salvador, houve decréscimo da prevalência de HIV entre os consumidores deste tipo de drogas, de 50% em 1996 para 7% em 2001 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

De um modo geral, os novos dados revelam que a epidemia de AIDS no Brasil está num processo de estabilização. A tendência à estabilização da incidência da doença é observada tanto entre os homens, que, em 2004, registrou 9,4 casos por 100 mil homens, índice menor do que o observado em 1998, que foi de 26,3 por 100 mil; quanto entre as mulheres, tendo sido observada a menor taxa de incidência em 2004: 6,1 casos por 100 mil mulheres (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004).

A tendência de aumento da incidência da doença também foi observada em todas as regiões geográficas, com exceção da região Sudeste, que apresentou, em 2003, taxa de incidência menor do que a observada em 1998. Nas demais regiões, o crescimento ainda é pronunciado, principalmente nas regiões Sul, Centro-Oeste e Norte. Os casos masculinos devido à transmissão pelo uso de drogas injetáveis continuam a decrescer, os casos devido à transmissão homo/bissexual mantiveram-se estabilizados e aqueles casos devido à transmissão heterossexual continuam com tendência crescente. A doença vem atingindo, também, de maneira importante, os indivíduos com menor escolaridade, principalmente as mulheres (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004).

A mortalidade por AIDS foi 2% maior em 2003 do que a registrada em 2002, com 11.276 óbitos. A taxa de mortalidade permaneceu estável em 6,4 óbitos por 100 mil habitantes, mas manteve a tendência crescente entre as mulheres e nas regiões Sul, Norte e Nordeste (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004).

A pandemia da AIDS está afetando um número cada vez maior de mulheres. Em todo o mundo, um pouco menos da metade de todas as pessoas que vivem com o vírus HIV são mulheres. As mulheres constituem quase 60% de todas as pessoas infectadas na África Subsaariana, e 76% dos jovens entre 15 e 24 anos de idade, que possuem HIV, são do sexo feminino. Na maioria das demais regiões do mundo, as mulheres representam uma proporção alta dos portadores do vírus, em comparação com os

dados correspondentes aos cinco anos anteriores (POPE & HAASE, 2003; UNAIDS/WHO, 2004).

A partir de 2001, produziu-se uma importante mudança na resposta a AIDS. O financiamento mundial aumentou e o acesso aos serviços básicos de prevenção e cuidados melhorou substancialmente (UNAIDS/WHO, 2004).

De acordo com pesquisa realizada em 73 países pobres e em desenvolvimento, que representam quase 90% da carga mundial de HIV, o número de estudantes de nível médio que receberam educação sobre AIDS quase triplicou, o número de usuários dos serviços de cuidados e monitoramento do paciente soropositivo dobrou, o número de mulheres com acesso a prevenção da transmissão materno-infantil aumentou em 70% e o número de pessoas que receberam terapia antiretroviral cresceu em 56% (POLICY PROJECT, 2004). Na América do Sul e alguns países do Caribe, a maioria das pessoas que necessitam desse tratamento agora têm acesso ao mesmo (WHO, 2004).

Apesar das melhorias, a cobertura segue sendo desigual e, em alguns aspectos deficientes. Nos países pobres e em desenvolvimento, aproximadamente 440.000 pessoas receberam tratamento antiretroviral em junho de 2004. Isto significa que nove em cada dez pessoas que necessitam deste tratamento – a maioria delas na África Subsaariana – não o receberam. Nos 73 países pobres e em desenvolvimento mais afetados pela AIDS, menos de 10% dos adultos, entre 15 e 49 anos, têm acesso a serviços de cuidados e monitoramento (WHO, 2004).

Se prosseguir este baixo nível de cobertura, nos próximos anos falecerão entre cinco e seis milhões de pessoas como conseqüência da AIDS. (UNAIDS/WHO, 2004).

1.3. Resposta imune celular anti-HIV-1

A resposta imune celular anti-HIV pode ser detectada logo nas primeiras semanas após a infecção (CARMICHAEL *et al.*, 1993). Indivíduos infectados desenvolvem uma forte resposta citotóxica e específica tanto contra proteínas estruturais quanto contra proteínas regulatórias do vírus HIV (PANTALEO & FAUCI,

1996). Estas células T CD8⁺ podem controlar a infecção por pelo menos dois diferentes mecanismos: linfócitos T citotóxicos (CTL) específicos ao vírus podem lisar células infectadas pelo HIV pelo reconhecimento de peptídeos virais na superfície da célula associados a moléculas de MHC classe I; e células T CD8⁺ podem inibir a replicação do HIV-1 pela secreção de beta-quimiocinas (INAMI & GOTCH, 2002).

O controle da replicação viral é exercido inicialmente por CTLs, e observa-se uma sensível redução da viremia e do número de células infectadas nos linfonodos, paralelamente ao aparecimento de células T citotóxicas específicas para o HIV-1 (LETVIN *et al.*, 2002; HAASE, 1999). Achados referentes ao papel das células T citotóxicas em controlar o HIV-1 *in vivo* foram observados em estudos com macacos *rhesus* infectados com o vírus da imunodeficiência símia (SIV). SCHMITZ e cols. (1999) e JIN e cols. (1999) demonstraram que a depleção de células T CD8⁺ elimina o controle da viremia durante a infecção primária, e que a remoção destas células durante a infecção crônica resulta no aumento da carga viral, que cai simultaneamente ao reaparecimento das células T CD8⁺ (GANDHI & WALKER, 2002).

Além da atividade citotóxica específica, as células T CD8⁺ produzem fatores solúveis capazes de inibir a replicação do HIV-1, efeito este não-restrito ao HLA. Dentre os fatores antivirais secretados pelas células T CD8⁺, as beta-quimiocinas MIP-1 α , MIP-1 β e RANTES foram identificados como os principais agentes supressores da replicação viral em pacientes infectados pelo HIV. Estes produtos solúveis ligam-se aos co-receptores do HIV-1 na superfície das células T CD4⁺, bloqueando a entrada do vírus na célula-alvo (LEVY *et al.*, 1996).

Apesar dos efeitos anti-virais exercidos pela células T CD8⁺ em indivíduos infectados pelo HIV, a maioria dos pacientes perde o controle da carga viral plasmática, em algum momento da doença (MCMICHAEL *et al.*, 2000). Diferentes mecanismos podem ser sugeridos para explicar este fato. Como já exposto, a resposta citotóxica em indivíduos infectados manifesta-se precocemente durante a infecção, e coincide com o controle da replicação viral em fase aguda, por isso, essa atividade citotóxica poderia estar selecionando variantes virais que escapam ao reconhecimento dos CTLs. Esta habilidade em alterar seqüências peptídicas, devido a altas taxas de mutação, facilitando o escape do vírus foi bem demonstrada em estudos com retrovírus simples

(WELKIN *et al.*, 2002). Por isso, a resposta citotóxica específica ao HIV exerce forte pressão seletiva para a evolução deste vírus (PANTALEO, 1997).

Entre outros mecanismos propostos para explicar a perda do controle sobre a replicação viral, pode-se citar: a deficiência funcional dos CTLs, resultante da insuficiente atividade das células T CD4⁺; perda específica ou inespecífica de CTLs, em paralelo ao progresso da infecção; diminuição da eficiência das células T citotóxicas pela redução da expressão de moléculas MHC classe I na superfície das células infectadas (HOOGAN & HAMMER, 2001).

Além da resposta das células T citotóxicas, também é observada, na infecção pelo HIV, a atividade de células NK, que produzem fatores solúveis, incluindo agentes antimicrobianos e citocinas imunorregulatórias. Apesar do número de células NK ser relativamente normal, quando comparado ao observado em controles não infectados; e não haver comprometimento da ligação destas células ao seu alvo, verifica-se uma diminuição moderada na sua capacidade citotóxica. Estudos *in vitro* sugerem que a atividade reduzida destas células pode estar relacionada com o desequilíbrio da produção de IL-12 durante a infecção pelo vírus HIV (SHEARER, 1998; DOUGLAS *et al.*, 2001).

1.4. Resposta imune humoral anti-HIV-1

Pacientes infectados pelo HIV-1 desenvolvem altas concentrações de anticorpos contra diferentes proteínas virais, geralmente dentro de três meses após a infecção. O primeiro anticorpo detectado reconhece a proteína do core viral, p24 (GANDHI & WALKER, 2002).

Os anticorpos neutralizantes podem ser detectados no soro de pacientes infectados após o pico inicial de viremia plasmática e desenvolvimento de CTLs vírus-específicos. A maioria dos anticorpos é formada contra componentes do envelope, como as proteínas gp120 e gp41. A contribuição desta resposta imune humoral específica contra o HIV no declínio da viremia plasmática associada à infecção primária ainda é alvo de discussões. Contudo os anticorpos específicos anti-HIV parecem ter um

importante papel na remoção de partículas virais livres na circulação, pela formação de imunocomplexos (CAO & WALKER, 2000; DANIEL *et al.*, 2001).

Alguns anticorpos anti-HIV ligam-se a células infectadas, sensibilizando-as ao ataque citotóxico mediado por anticorpos. Células NK são as principais células envolvidas na citotoxicidade celular mediada por anticorpos (ADCC), entretanto, os monócitos também podem desempenhar este papel. Anticorpos anti-HIV envolvidos na ADCC desenvolvem-se logo após a infecção primária, sendo detectados durante todo o restante do curso da infecção, decrescendo somente nos estágios finais da infecção, relacionados a AIDS (HOGAN & HAMMER, 2001).

Várias características do envelope viral do HIV-1 limitam a habilidade dos anticorpos de neutralizá-lo, incluindo uma super glicosilação da gp120, e a oligomerização do envelope viral que pode impedir a ligação dos anticorpos ao HIV-1 (WELKIN *et al.*, 2002).

Foi relatada que a resposta baseada em anticorpos pode levar a uma intensificação da infecção pelo HIV *in vitro*, entretanto essa questão ainda segue sendo alvo de inúmeras discussões (WEIMER, 1998; BECKER, 2004). CLERICI & SHEARER, 1993, apresentaram um modelo em que a mudança da resposta Th1 para Th2 produz um momento crítico na etiologia da infecção pelo HIV. Este modelo sugere que o desequilíbrio da resposta tipo Th1 e tipo Th2 ao HIV-1 contribui para desregular a resposta imune durante a infecção. A resistência à infecção pelo HIV e/ou progressão para a AIDS depende da dominância da resposta Th1 em relação a uma resposta Th2. Esta hipótese é baseada no fato de que muitos indivíduos soronegativos expostos ao HIV demonstram forte resposta do tipo Th1 aos antígenos virais. Além disto, já está bem caracterizado que a progressão para AIDS está associada à redução na produção de IL-2 e IFN- γ , citocinas tipo Th1, com concomitante aumento de IL-4 e IL-10, citocinas tipicamente Th2 (SHEARER, 1998).

1.5. Imunopatogênese da infecção pelo HIV-1

Linfócitos T CD4⁺ e células da linhagem monocítica são os principais alvos da infecção pelo HIV (LAURENCE, 2004). Contudo, teoricamente, qualquer célula que expresse a molécula CD4 juntamente ao co-receptor apropriado (CXCR4 ou CCR5) pode ser infectada pelo HIV (STEVENSON, 2003). Existem, entretanto, relatos de infecção *in vitro* de linhagens celulares que não expressam CD4 ou co-receptores para o vírus HIV. Isto inclui células dendríticas foliculares (FDC), células da micróglia, megacariócitos, eosinófilos, células T CD8⁺, células B, células NK, células do estroma da medula óssea e timo, astrócitos, células epiteliais renais, células cervicais, células trofoblásticas, células da mucosa intestinal e retal, e células do parênquima de muitos órgãos como; coração, músculos, fígado, pulmão, glândulas salivares, olhos, testículos, próstata e glândula adrenal (COHEN *et al.*, 1999). *In vivo*, as únicas células que, inequivocadamente, apresentam-se infectadas pelo vírus HIV são os linfócitos T CD4⁺ e células da linhagem monócito/macrófago, sugerindo que a relevância clínica da infecção *in vitro* destes outros tipos de células pode ser secundária (HOGAN & HAMMER, 2001; GASCON *et al.*, 2002).

A disfunção de inúmeros componentes do sistema imunológico pode ser observada durante o curso da infecção pelo HIV (SHEARER, 1998). O desequilíbrio das células T CD4⁺ pode ser resultado da infecção direta pelo vírus e conseqüente lise, todavia, isto também pode ser causado indiretamente pela exposição de células não infectadas a várias proteínas virais (PANTALEO & FAUCI, 1996). Devido ao fato das células T CD4⁺ possuírem um papel crítico na organização da resposta imune normal (GANDHI & WALKER, 2002), muitas das deficiências observadas durante a doença podem, secundariamente, ser dependentes do progressivo declínio do número e função das células T CD4⁺ (NOKTA *et al.*, 2001).

Os passos iniciais desta patogênese incluem: ligação e penetração viral nas células-alvo; perda do envoltório viral; ação da transcriptase reversa; penetração do provírus no núcleo das células-alvo; integração ao genoma do hospedeiro. Tais passos podem guiar tanto para a infecção ativa, com proliferação e propagação viral, quanto

para a latência, com expressão limitada de seqüências do provírus na ausência de ativação nuclear (McCUTCHAN, 1990).

Há uma grande quantidade de células infectadas em atividade nos linfonodos e outros tecidos linfóides secundários, mesmo durante a aparente fase de latência (POPE & HAASE, 2003). Os macrófagos e as células T CD4⁺ dos tecidos linfáticos secundários morrem, resultando, então, em um decréscimo secundário dos níveis de IFN- γ , IL-2, IL-12 e outras citocinas, com conseqüente perda de suas funções tróficas sobre a ativação e a maturação de células CD4⁺ (SHEARER, 1998; INAMI & GOTCH, 2002).

Ocorre uma replicação maciça e contínua do vírus apesar da vigorosa resposta imune específica montada pelo hospedeiro (WELKIN *et al.*, 2002). A presença de elevados níveis de vírus durante todo o curso da infecção é resultado do equilíbrio dinâmico entre a produção de HIV nos tecidos linfóides e a contínua eliminação (*clearance*) do vírus pelo sistema imune (CAO & WALKER, 2000). As células linfóides teciduais infectadas representam 98% do total, logo, o reservatório crítico está concentrado no tecido linfóide. Estas células têm uma meia-vida relativamente maior (50-100 dias, em lugar de 2-20 dias), portanto, o tecido fornece um suporte maior e mais duradouro da carga viral (HAASE, 1999; TEDLA *et al.*, 1999). A produção viral no tecido linfóide excede gradualmente a capacidade restauratória da produção de células CD4⁺ (KIRSCHNER *et al.*, 2000; DOUEK *et al.*, 2003). A infecção ativa pelo HIV parece ser caracterizada por uma resposta citotóxica de células T CD8⁺ que resulta na eliminação de células infectadas (GOTCH *et al.*, 1996). Outros mecanismos imunológicos como a apoptose e a citotoxicidade celular dependente de anticorpos, também podem resultar em depleção substancial de células infectadas pelo HIV (COHEN & FAUCI, 2001).

A transcrição reversa dos retrovírus tem uma alta taxa de erro. A tendência ao erro da transcrição reversa combinada à rápida replicação e alta carga viral nas células mononucleares linfóides resulta na emergência de muitas variantes virais. A especificidade da resposta citotóxica por CTL pode ser anulada pela intensa e rápida geração de mutantes, possivelmente contribuindo para a progressão da infecção ativa; no entanto, há a manutenção de resposta supressora mediada por CTLs (HO, 1997; HUTCHINSON, 2001).

Ciclos repetidos de infecção ativa comprometem progressivamente o sistema imune. A depleção em número e função das células CD4⁺ leva diretamente à proliferação de patógenos latentes, como: *Pneumocystis*, *Toxoplasma*, *M. tuberculosis*, *Herpes-virus*, dentre outros (COHEN *et al.*, 1999).

1.6. Aspectos clínicos da infecção pelo HIV-1

Primariamente, a infecção pelo HIV-1 é seguida por uma série de eventos que incluem rápida disseminação do vírus e subsequente indução de resposta imune, que parcialmente controla a replicação viral (STEVENSON, 2003). Neste período, que dura de duas a quatro semanas, até 90% dos indivíduos infectados apresentam quadro clínico agudo conhecido como infecção primária, e que desaparece espontaneamente (VEUGELERS *et al.*, 1997).

A fase aguda da infecção pelo HIV-1 está associada com um pico de replicação viral, que coincide com o declínio do número de células T CD4⁺ e o aumento das células T CD8⁺ no sangue periférico. Neste momento a relação CD4:CD8 torna-se invertida e permanece assim no decorrer da infecção (MCMICHAEL, 2000).

Uma forte resposta anti-HIV pode ser detectada logo após a infecção primária, consistindo em uma substancial regulação, mas um *clearance* incompleto dos vírus circulantes (CARMICHAEL *et al.*, 1993). Esta resposta pode ser caracterizada por produção de anticorpos HIV específicos, citotoxicidade mediada por células HIV específicas e secreção de citocinas (LETVIN *et al.*, 2002; GANDHI & WALKER, 2002).

A resposta imune primária ao HIV é baseada na produção de altos títulos de anticorpos HIV específicos, que são inicialmente observados durante o pico de viremia plasmática. Esta resposta inicial não inclui quantidades mensuráveis de anticorpos neutralizantes. Os anticorpos neutralizantes anti-HIV tipicamente surgem durante a transição entre a fase aguda e a fase crônica da infecção (LETVIN & WALKER, 2003).

A história natural da infecção pelo HIV inclui um longo período (em média 10 anos) de latência clínica entre a infecção primária e o desenvolvimento de sintomas indicativos de imunodeficiência avançada (SCHECHTER *et al.*, 1994; HOGAN &

HAMMER, 2001). Durante este período, a replicação viral entra em declínio, e ocorre, concomitantemente a recuperação parcial do número de células T CD4⁺. Entretanto, há uma persistente replicação viral nos tecidos linfóides, durante todo o curso da infecção pelo HIV, mesmo durante o longo período assintomático (PANTALEO & FAUCI, 1996).

O aparecimento da síndrome da imunodeficiência está associado ao aumento da replicação viral e declínio brusco das células T CD4⁺ (CAO & WALKER, 2000; INAMI & GOTCH, 2002), com o conseqüente surgimento de doenças oportunistas.

Existem vários mecanismos que contribuem para a perda de células T CD4⁺ no indivíduo infectado pelo HIV. Dentre eles pode-se citar: o efeito citopático direto do vírus sobre a célula infectada; a morte celular por apoptose; a destruição de células infectadas mediada pelo sistema imune, com participação das células T citotóxicas; morte de células T CD4⁺ não infectadas, mas que tenham incorporado em sua membrana moléculas de gp120, e autoimunidade (ANDRIEU & LU, 1995; SHEARER, 1998; GOLDBERG & STRICKER, 1999; GRIVEL *et al.*, 2000; DANIEL *et al.*, 2001). Quando o número de células T CD4⁺ cai abaixo de um valor crítico (200 células/mm³), o paciente torna-se suscetível a doenças malignas e infecções oportunistas por ampla variedade de parasitas, bactérias, fungos ou outros vírus. Esse quadro clínico, de imunodeficiência severa, é a apresentação característica de AIDS (SEDAGHAT & SILICIANO, 2004).

1.7. Monitoramento do paciente portador do vírus HIV

A contagem dos linfócitos T CD4⁺, assim como, a carga viral plasmática são testes fundamentais para o monitoramento do paciente HIV. Ambos fornecem dados quanto à chance de progressão da doença, ao grau de imunodeficiência e à velocidade de destruição do sistema imunológico. As condutas terapêuticas são baseadas nesses testes, principalmente nos pacientes assintomáticos (MELLORS *et al.*, 1997).

Usualmente, no seguimento de um indivíduo portador do vírus HIV, os testes de carga viral e contagem de células T CD4⁺ são feitos de forma conjunta. Caso não haja problema financeiro ou outra limitação, o ideal é a realização desses testes a cada

quatro meses. Os testes devem ser realizados antes do início do tratamento e após iniciá-lo a cada quatro meses, se houver sucesso terapêutico, ou seja, supressão viral abaixo dos limites de detecção do teste (MELLORS *et al.*, 1997).

1.8. Contagem de células T CD4⁺

Até 1996, a contagem dos linfócitos T CD4⁺ era o único teste utilizado para acompanhar a infecção causada pelo vírus HIV. Com o advento do teste para avaliação da viremia plasmática, a contagem dos linfócitos CD4⁺ teve seu papel melhor definido (MELLORS *et al.*, 1997).

Os linfócitos T CD4⁺ são os alvos biológicos do vírus HIV, e a depleção destas células são reconhecidamente uma importante mensuração do estágio clínico da infecção pelo HIV. Em pacientes soropositivos para o HIV, a contagem de linfócitos T CD4⁺ é amplamente utilizada como marcador imunológico para monitorar a progressão da doença, decidir profilaxia contra infecções oportunistas específicas, guiar o uso da terapia antiretroviral e como um marcador sorológico da eficácia das drogas (DIAGBOUGA *et al.*, 1999).

Apenas cerca de 2% dos linfócitos T CD4⁺ estão na circulação, o restante encontra-se no sistema reticuloendotelial, ou seja, pequenas variações nos compartimentos podem provocar alterações significativas na sua contagem. O teste apresenta grande variação intra-individual, intra-teste e inter-teste, podendo apresentar variações de até 30% em seus números absolutos. Apresenta variação diurna, sendo por isso recomendado sua realização geralmente no mesmo horário. Fatores tais como fumo, esplenectomia e co-infecção por HTLV aumentam seus valores. Corticóides, outras drogas imunossupressoras e outras doenças infecciosas agudas tendem a diminuir a contagem de células T CD4⁺ (MALONE *et al.*, 1990).

Seus números absolutos podem variar de 500 a 1400 cel/mm³ e percentualmente de 32 a 68%. Principalmente no indivíduo assintomático e virgem de tratamento, sua interpretação baseia-se em uma seqüência de testes por um período definido a fim de que seja determinada sua tendência como uma doença estável, sem perda significativa

de células T CD4⁺; ou evolução para imunodeficiência com perda progressiva e rápida. Uma diminuição significativa na contagem de CD4 é a redução de 30% do seu número absoluto ou uma redução maior que 3% de seu valor percentual (O'BRIEN *et al.*, 1996).

O modo clássico de medição é a imunofenotipagem através da técnica de citometria de fluxo. A imunofenotipagem consiste na identificação de populações celulares utilizando seus marcadores de superfície. A citometria de fluxo é uma técnica onerosa, custando em torno de \$ 30,00, pois necessita de um aparelho complexo e sofisticado (citômetro de fluxo), reativos que incluem anticorpos monoclonais específicos conjugados a fluorocromos e pessoal especializado (SPRINZ & FINKELSZTEJN, 1999; KUMARASAMY *et al.*, 2002).

1.9. Tratamento em adultos infectados pelo vírus HIV

No início da década de 80, muitos pacientes portadores do vírus HIV morriam em no máximo dois anos (ROTHENBERG *et al.*, 1987). Durante este período, a terapia era restrita ao controle das numerosas e incomuns infecções oportunistas, que freqüentemente consistiam na causa de morte dos pacientes com AIDS (POMERANTZ & HORN, 2003).

O tratamento da infecção pelo HIV foi iniciado em 1987. A primeira droga foi a zidovudina, um análogo nucleosídico que inibe a ação da enzima viral transcriptase reversa (EZZELL, 1987). Estes compostos possuem elevada afinidade pela transcriptase reversa do HIV-1 e competem com os substratos naturais desta enzima, sendo incorporados a cadeia de DNA em crescimento, provocando término prematuro desta cadeia. O genoma do HIV é do tipo RNA, entretanto, através da enzima transcriptase reversa, codificada pelo vírus, esse RNA se converte em DNA de duplo filamento, sendo integrado ao genoma da célula infectada. O HIV precisa desta integração ao DNA da célula hospedeira para ser capaz de usar a maquinária genética desta célula e produzir novos vírus (FURMAN & BARRY, 1988; RICHMAN, 2001).

Em 1991, foi reconhecido que a atividade anti-HIV, resultado da monoterapia era breve e limitada (VOLBERDING *et al.*, 1995). E a partir de 1995, os inibidores de

protease foram lançados. A protease é a enzima essencial para a clivagem pós-tradução das poliproteínas virais. Diversas proteínas virais, inclusive as que formam os componentes protéicos do cerne viral, a própria protease, a transcriptase reversa e a integrase, são sintetizadas como poliproteínas que exigem clivagem pela protease viral a fim de produzir as proteínas funcionais. Os inibidores da protease bloqueiam a clivagem dessas poliproteínas causando a produção de partículas virais defeituosas, imaturas e incapazes de infectar novas células (VENAUD *et al.*, 1992; RICHMAN, 2001).

A compreensão da dinâmica replicativa do HIV possibilitou o conhecimento do mecanismo de perda das células T CD4⁺ e dos benefícios e limitações da terapia antiretroviral, incluindo o rápido desenvolvimento de resistência às drogas com a incompleta supressão do vírus. Isto conduziu ao uso da tripla terapia combinada, ou terapia antiretroviral potente (HAART), em lugar da monoterapia, ficando comprovada a eficácia da terapia HAART em reduzir mortalidade e induzir supressão da carga viral (HAMMER *et al.*, 1997; HIRSCH *et al.*, 1999; POMERANTZ & HORN, 2003).

Observou-se que a terapia HAART poderia conduzir a carga viral plasmática a níveis abaixo do limite de detecção do teste. A supressão dos títulos do vírus HIV-1 poderia minimizar a replicação viral e, possivelmente, deter o desenvolvimento de resistência a novos agentes, permitindo reconstituição do sistema imunológico (HO *et al.*, 1995; WEI *et al.*, 1995).

Outra terapia tripla combinada tornou-se possível com a introdução dos análogos não-nucleosídicos inibidores da transcriptase reversa, que combinados a dois análogos nucleosídicos, foram muito eficazes em suprimir a replicação do HIV. Análogos não-nucleosídicos são um grupo de agentes estruturalmente diversos com razoável perfil de toxicidade. São inibidores de transcriptase reversa não competitivos e provocam inibição da função enzimática, através da ligação em locais distintos dos locais de ligação dos análogos nucleosídicos, resultando em alterações conformacionais no sítio ativo da enzima. Em consequência, o mecanismo de resistência para essas drogas não é o mesmo dos análogos nucleosídicos, fazendo com que seja útil o seu emprego em associação com tais drogas (STASZEWSKI *et al.*, 1999; RICHMAN, 2001).

Conseqüentemente, a questão do melhor momento para iniciar a terapia HAART em indivíduos infectados pelo vírus HIV tornou-se de grande relevância. Desde a introdução da terapia HAART em 1996, muitos estudos foram realizados com o objetivo de examinar o efeito desta terapia em estádios precoces da infecção pelo HIV (LEPRI *et al.*, 2001). Os principais argumentos para início da terapia HAART no momento do diagnóstico positivo para HIV são: reduzir o risco de infecções oportunistas e estabelecimento de um quadro sintomático em pacientes com contagem de CD4 entre 200 e 500 cel/mm³, com conseqüente melhora na qualidade de vida (LEDERGERBER *et al.*, 1999; LEDERGERBER *et al.*, 1999a); preservar a resposta celular anti-HIV específica, que parece ser expressiva se a terapia for iniciada com contagem de células CD4⁺ ainda alta (APPAY *et al.*, 2000); e reduzir a progressão da doença e conseqüente aumento da diversidade e virulência do vírus HIV (BONHOEFFER, 1998). Entretanto, os argumentos a favor do adiamento do início da terapia HAART são: difícil tolerância de muitos regimes; não adesão ao tratamento, o que pode levar ao desenvolvimento de resistência, limitando futuras opções de terapia (CONDRA *et al.*, 1995); uma considerável reconstituição do sistema imune parece possível mesmo em pacientes que iniciaram terapia com contagem de células CD4⁺ muito baixa (MILLER *et al.*, 1999) e a toxicidade do regime antiretroviral é conhecida a pequeno e médio prazo, a longo prazo não se sabe o efeito tóxico destes agentes (D'ARMINIO *et al.*, 2000).

Durante a década de 80, enquanto nenhum teste diagnóstico estava disponível, somente o diagnóstico clínico podia ser usado para identificar os indivíduos com AIDS. Usualmente infecções oportunistas como pneumonia por *Pneumocystis jiroveci*, meningite por *Criptococos* e Sarcoma de Kaposi, em pacientes sem história de imunossupressão ou imunodeficiência conhecida, eram os marcadores para diagnóstico da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1981).

Em 1993, o CDC expandiu a definição de AIDS para incluir todos os indivíduos infectado pelo vírus HIV que possuíam contagem absoluta de células T CD4⁺ < 200 cel/mm³ ou percentual de CD4 < 14%, devido ao aumento no risco de desenvolvimento de pneumonia por *Pneumocystis jiroveci* (MUNOZ *et al.*, 1990; CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1993). Estudos anteriores identificaram a importância

do nível de células T CD4⁺ entre 50 e 100 cel/mm³ no aumento do risco de bacteremia por *Mycobacterium avium*, toxoplasmose e infecção por citomegalovírus (MASUR *et al.*, 1989). Com relação à terapia antiretroviral, o consenso recomendava o seu início quando a contagem absoluta de células T CD4⁺ declinasse para valores abaixo de 500 cel/mm³ (MUNOZ *et al.*, 1990; CARPENTER *et al.*, 1998). As mais recentes diretrizes dos consensos americanos para o uso de agentes antiretrovirais e prevenção de infecções em adultos infectados pelo vírus HIV recomendam que a terapia antiretroviral deve ser iniciada quando a contagem absoluta de células T CD4⁺ apresentar um valor entre 200 e 350 cel/mm³ e a profilaxia contra infecções oportunistas deve se iniciar com limiar de células T CD4⁺ < 200 cel/mm³ (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2002; CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2002a). Segundo estudos recentes a profilaxia precoce reduz significativamente outras infecções bacterianas e parasitárias comuns entre pacientes HIV soropositivos, como pneumonia bacteriana, isosporíase e salmonelose (KUMARASAMY *et al.*, 2002).

Segundo o consenso brasileiro para tratamento de adultos infectados pelo vírus HIV (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004a), o início da terapia é recomendado aos pacientes com manifestações clínicas associadas ao HIV, independentemente da contagem de linfócitos T CD4⁺ e da carga viral plasmática. Aos pacientes assintomáticos com contagem de linfócitos T CD4⁺ entre 200 e 350 cel/mm³, o tratamento pode ser considerado. Nessa situação, as avaliações devem ser realizadas em intervalos mais curtos, no mínimo três vezes ao ano, para que o tratamento seja instituído logo que ocorra piora clínica ou imunológica. Quando não é possível o acompanhamento mais freqüente da contagem de linfócitos T CD4⁺, o início do tratamento é recomendado. A quimioprofilaxia para infecções oportunistas, tais como pneumocistose e toxoplasmose, também deve ser indicada sempre que a contagem de linfócitos T CD4⁺ estiver próxima ou abaixo de 200 cel/mm³ ou quando houver qualquer situação sugestiva de imunodeficiência associada ao HIV.

A OMS também recomenda que o tratamento dos pacientes com doença clínica independe da contagem de células T CD4⁺. Entretanto, para os pacientes em estágio III (ver anexo I), ficou determinado que um valor de linfócitos T CD4⁺ abaixo de 350 cel/mm³ caracteriza imunodeficiência, de modo que os pacientes devem receber

tratamento se o quadro clínico indica uma rápida progressão da doença. Com relação aos pacientes com infecção por HIV nos estádio I e II (ver anexo I), a contagem de linfócitos T CD4⁺ menor que 200 cel/mm³ constitui indicação para início da terapia antiretroviral (WHO, 2004).

Os conhecimentos atuais sobre a imunopatogênese da infecção pelo HIV e a existência de reservatórios virais anatômicos e celulares indicam que a erradicação do HIV não pode ser obtida com os esquemas terapêuticos existentes. O principal objetivo da terapia antiretroviral é retardar a progressão da imunodeficiência e/ou restaurar, o quanto possível, a imunidade, aumentando o tempo e a qualidade de vida da pessoa infectada, assim, a supressão máxima e contínua da replicação viral é desejável a fim de reduzir ou reverter o dano imunológico (RICHMAN, 2001; POMERANTZ & HORN, 2003).

2. RACIONAL

Desde 1981, quando o primeiro caso de AIDS foi reportado, mais de 15 milhões de pessoas foram diagnosticadas como infectadas pelo Vírus da Imunodeficiência Humana. E 90% dos indivíduos infectados pelo vírus vivem em países relativamente pobres (ONUSIDA/OMS, 2004).

O HIV ataca os linfócitos T CD4⁺, células do sistema imunológico que são responsáveis por uma coordenada e efetiva defesa do organismo contra microorganismos. O declínio no número de células T CD4⁺ está fortemente associado com o aparecimento da AIDS.

Dentre muitos marcadores candidatos a monitorar a infecção pelo HIV, a contagem de linfócitos T CD4⁺ é o mais bem estabelecido. Este marcador é rotineiramente usado para estadiar a doença e determinar quando iniciar ou alterar a conduta terapêutica. Baixos níveis deste marcador são utilizados como indicadores para profilaxia contra infecções oportunistas.

O processo padrão para obtenção da contagem de células T CD4⁺ é complexo, requerendo citometria de fluxo, que tem custo elevado para muitos locais no mundo, onde a infecção pelo HIV é amplamente disseminada. Essa técnica exige o uso de anticorpos monoclonais conjugados a marcadores fluorescentes, um aparelho de leitura computadorizado, sofisticados equipamentos de laboratório, infraestrutura e pessoal especializado. Infelizmente, por esse motivo, dados sobre a contagem de linfócitos CD4⁺ são freqüentemente indisponíveis para tomada de muitas decisões clínicas no sentido de prevenir o risco de infecções oportunistas entre paciente infectados pelo HIV.

Recentes iniciativas da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2003), no sentido de possibilitar o acesso à terapia antiretroviral em países pobres, têm resultado em aumento do número de pacientes HIV soropositivos que receberam tratamento, portanto, tornou-se importante identificar métodos alternativos que possam guiar a decisão de tratamento.

A mensuração da função imune é possível e facilmente obtida através da contagem total de linfócitos (TLC), que é realizada durante a contagem celular em um exame de sangue completo. Muitos trabalhos têm demonstrado uma boa correlação entre contagem de células T CD4⁺ e TLC em pacientes infectados pelo vírus HIV.

Em muitos locais, o monitoramento do tratamento para o HIV excede o custo com as drogas antiretrovirais, sendo considerado impraticável para amplo uso nos países em desenvolvimento. O uso da TLC como indicador para a contagem de linfócitos CD4⁺, poderia resultar em uma substancial redução nos custos associados ao manejo do paciente infectado pelo HIV.

Neste sentido, investigamos a capacidade da contagem total de linfócitos em prever a quantidade de células T CD4⁺ circulantes em pacientes soropositivos para HIV virgens de tratamento e durante o curso da terapia antiretroviral.

3. OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar a utilidade da contagem total de linfócitos (TLC) como marcador imunológico para início da terapia antiretroviral potente (HAART) e/ou profilaxia para infecções oportunistas.

Objetivos específicos

- Verificar se existe relação entre contagem total de linfócitos (TLC) e contagem de linfócitos T CD4⁺, em pacientes HIV soropositivos.
- Determinar o melhor valor de contagem total de linfócitos (TLC) capaz de prever intervalos de contagem absoluta de células T CD4⁺ < 200 cel/mm³ ou < 350 cel/mm³.
- Determinar o melhor valor de contagem total de linfócitos (TLC) para prever intervalos de contagem percentual de células T CD4⁺ < 15% ou < 20%.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Características da população em estudo

Este estudo foi realizado no Hospital Universitário Professor Edgar Santos (HUPES), onde 1174 pacientes adultos (maiores de 18 anos de idade), de ambos os sexos, portadores do HIV acompanhados no Ambulatório da Unidade Docente e Assistencial em Infectologia (UDAI), foram avaliados.

Para participar do estudo os pacientes deveriam ser indivíduos soropositivos para HIV, acompanhados na UDAI e maiores de 18 anos. Foram excluídos da análise deste estudo os pacientes:

- ✓ Portadores de outras infecções virais; incluindo vírus B e C da hepatite, citomegalovírus e vírus Epstein Barr,
- ✓ Com gravidez em curso.

Todos os pacientes que decidiram colaborar com o presente estudo assinaram um Termo de Consentimento Informado, autorizando a sua participação na pesquisa. O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia (vide carta de aprovação do CEP em anexo II), em conformidade com a resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Os pacientes foram regularmente avaliados com relação à contagem de células T CD4⁺, contagem total de linfócitos e carga viral. Foram analisados sexo, idade, carga viral, terapia antiretroviral e sorologia para HTLV I/II, e como estes poderiam afetar a performance da TLC como marcador para a contagem absoluta de linfócitos T CD4⁺.

Após o aceite do Termo de Consentimento Informado, os pacientes envolvidos na pesquisa foram classificados em dois grupos, de acordo com o uso de terapia antiretroviral:

- ✓ Pacientes HIV soropositivos em uso de terapia antiretroviral.
- ✓ Pacientes HIV soropositivos sem uso atual, ou prévio, de terapia antiretroviral.

4.2. Amostras

Para determinar a contagem de células T CD4⁺ e a carga viral foram coletados, de cada paciente, 5 mL de sangue para realização de cada exame. E para a contagem total de linfócitos foram coletados 3,5 mL de sangue. As coletas foram realizadas durante o período de maio/2003 a setembro/2004.

As amostras de sangue foram obtidas através de punção de sangue periférico, por coleta a vácuo, em tubos contendo anticoagulante EDTA.

Todas as amostras foram coletadas entre 8 e 10 horas da manhã, para evitar a variação matinal na contagem de células T CD4⁺ (MALONE *et al.*, 1990), sendo analisadas no mesmo dia.

Para quantificação da carga viral plasmática, o sangue foi centrifugado durante 10 minutos a 3.000 rpm para obtenção do plasma. A contagem total de linfócitos e de células T CD4⁺ foi realizada com sangue total.

4.3. Procedimentos laboratoriais

4.3.1. Sorologia para o Vírus Linfotrófico de Células T Humano (HTLV I/II)

Os portadores do vírus HTLV I/II foram caracterizados pela positividade do soro à avaliação laboratorial determinada através do teste de ELISA (ensaio imunoenzimático) automatizada segundo a metodologia do kit Vironostika HTLV I/II (BioMérieux, Boxtel, Holanda).

O Vironostika HTLV I/II é um teste de ELISA, baseado no princípio de *sandwich*. O objetivo do ensaio é a quantificação ou verificação da presença de anticorpos contra antígenos do vírus HTLV I/II. Neste método, as placas plásticas são sensibilizadas com o antígenos de HTLV-I e HTLV-II purificados e com o antígeno p21E (HTLV-I) recombinante que, após bloqueio, reagem com os anticorpos da amostra. O conjugado antiimunoglobulina humana reage com o anticoro capturado pelo antígeno e a reação é revelada através do uso de uma solução cromógena. A reação é

interrompida, e a intensidade de cor é estimada fotometricamente. O grau de degradação do substrato, geralmente indicado pela intensidade de cor da solução, é proporcional à concentração de anticorpo.

4.3.2. Contagem total de linfócitos

A contagem total de linfócitos foi determinada por contador hematológico automatizado (ADVIA 60, Bayer, Leverkusen, Alemanha).

Para fazer essa contagem, é preciso identificar e classificar as células. A identificação e a classificação são feitas com base no tamanho/volume celular e granulosidade, ou complexidade interna. As variações no tamanho e complexidade interna permitem a classificação dos leucócitos em linfócitos, monócitos e granulócitos.

Dentro do aparelho, as células são transportadas em um fluxo de líquido isotônico e um feixe de laser incide sobre cada célula. Ao incidir sobre a célula uma parte da luz é bloqueada frontalmente e outra fração é dispersa lateralmente. A fração bloqueada frontalmente é proporcional ao tamanho da célula e a fração dispersa lateralmente é proporcional a granulosidade ou à complexidade interna citoplasmática. As células interrompem a passagem do feixe de laser gerando pulsos de tensão. Estes pulsos, devidamente dimensionados e computados eletronicamente, correspondem ao número de células no sangue.

4.3.3. Contagem de células T CD4⁺

A contagem de linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ foi realizada através da técnica de imunofenotipagem, utilizando citômetro de fluxo com três detectores de fluorescência (FACScalibur, Becton Dickinson Immunocytometry Systems, Franklin Lakes, USA), em concordância com o consenso para determinação do número de células T CD4⁺ em pacientes infectados pelo HIV (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1992).

A definição das populações e subpopulações celulares é realizada com base na detecção e intensidade de expressão de antígenos de superfície (imunofenótipo). Nesse procedimento, são utilizados anticorpos monoclonais específicos ligados a compostos químicos fluorescentes. Para a imuno-marcação das populações de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ foram usados três tipos de anticorpos monoclonais (tabela 1).

Tabela 1 – Anticorpos monoclonais conjugados a compostos fluorescentes utilizados para marcação das subpopulações de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ através de citometria de fluxo.

Anticorpo monoclonal	Fluorocromo
Anti-CD₃	PerCP *
Anti-CD₄	FITC *
Anti-CD₈	PE *

* **PerCP** (proteína de clorofila *Peridinium sp.*), **FITC** (isotiocianato de fluoresceína) e **PE** (ficoeritrina).

O aparelho possui detectores que percebem os sinais de dispersão de luz e fluorescência. Cada fluorocromo emite luz num determinado comprimento de onda quando excitado pelo feixe do laser, que são detectados por tubos fotomultiplicadores, que convertem a luz em sinais eletrônicos. O citômetro de fluxo utilizado dispõe de um programa que faz automaticamente as compensações eletrônicas, corrigindo as sobreposições das fluorescências.

Os sinais eletrônicos são posteriormente usados para analisar as células de acordo com os marcadores de superfície, indicando as que reagiram positivamente para cada uma das fluorescências.

É possível contar o número absoluto de linfócitos porque, em cada tubo de amostra, existe um número conhecido de partículas de referência conjugadas com substâncias fluorescentes. Essas partículas atuam como um padrão para a quantificação das células. Como o aparelho lê a fluorescência tanto das partículas de referência quanto das células, conhecendo a quantidade de partículas, ele pode calcular o número de células. As células e as partículas de referência são separadas com base na fluorescência e depois contadas.

A contagem absoluta e percentual de células T CD4⁺ e CD8⁺ foi automaticamente calculada pelo software próprio do aparelho.

4.3.4. Carga viral

Para determinação da carga viral foi utilizada tecnologia NASBA (NucliSens HIV-1 QT, Organon, Durham, USA). O NASBA é um teste de amplificação isotérmica de ácido nucléico para determinação quantitativa de RNA do HIV-1 em plasma ou soro humanos. Este teste utiliza RNAs sintéticos, que servem de calibradores. A amplificação da amostra é feita simultaneamente à amplificação destes calibradores. A hibridização é feita em tubos com sondas marcadas com rutênio e a sua leitura baseada em eletro-quimioluminescência.

4.4. Análise estatística

O banco de dados consta de 09 variáveis: sexo, idade, uso de terapia antiretroviral, sorologia para HTLV, contagem absoluta de células T CD4⁺, contagem absoluta de linfócitos T CD8⁺, contagem percentual de células T CD4⁺, contagem total de linfócito e carga viral.

Para a contagem de células T CD4⁺ foram determinados os seguintes intervalos: < 200 cel/mm³, 200 - 500 cel/mm³ e ≥ 500 cel/mm³; < 350 cel/mm³ e ≥ 350 cel/mm³. Os valores < 200 e < 350 cel/mm³ foram escolhidos devido ao consenso de que a terapia HAART deve ser iniciada antes que a contagem absoluta de células T CD4⁺ alcance um valor abaixo de 350 cel/mm³ e a profilaxia para doenças oportunistas deve ser iniciada antes que a quantidade de células T CD4⁺ esteja abaixo de 200 cel/mm³. Para a contagem percentual os valores propostos foram < 15% e < 20% (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2002; CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2002a; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004a; WHO, 2004).

E para TLC os valores determinados foram: ≤ 1000 cel/mm³, ≤ 1200 cel/mm³, ≤ 1500 cel/mm³, ≤ 1700 cel/mm³, ≤ 2000 cel/mm³, ≤ 2200 cel/mm³ e ≤ 2500 cel/mm³.

Foi calculado o coeficiente de correlação de Spearman entre TLC e contagem absoluta de linfócitos T CD4⁺, percentagem de CD4⁺ e contagem absoluta de linfócitos T CD8⁺; além do cálculo da correlação entre CD4⁺ e CD8⁺.

Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo, sendo adotado o intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$), foram calculados para cada intervalo de TLC capaz de prever a contagem absoluta de linfócitos T CD4⁺ < 200 cel/mm³ e < 350 cel/mm³, além da contagem percentual de células T CD4⁺ $< 20\%$ e $< 15\%$.

Sensibilidade é definida como a proporção dos indivíduos com a doença, que têm um teste positivo para a doença. Especificidade é a proporção dos indivíduos sem a doença, que têm um teste negativo (FLETCHER *et al.*, 1996). Esses parâmetros são definidos pelas seguintes equações:

$$\text{Sensibilidade} = \frac{\text{número de indivíduos portadores da doença e positivos ao teste}}{\text{número de indivíduos portadores da doença}}$$

$$\text{Especificidade} = \frac{\text{número de indivíduos sem doença e negativos ao teste}}{\text{número de indivíduos sem doença}}$$

Adaptado FLETCHER *et al.*, 1996

Outra maneira de expressar a relação entre sensibilidade e especificidade para um determinado teste é construir a chamada curva ROC (receiver operator characteristic). Esta curva é construída plotando-se a taxa de verdadeiro-positivos (sensibilidade) contra a taxa de falso-positivos (1-especificidade) ao longo de uma faixa de pontos de corte. A acurácia global de um teste pode ser descrita como a área sob a curva ROC. Curvas ROC são meios especialmente úteis para comparar testes alternativos para o mesmo diagnóstico (FLETCHER *et al.*, 1996).

A probabilidade de doença, dados os resultados de um teste, é chamado de valor preditivo do teste. O valor preditivo positivo de um teste é a probabilidade de doença em um paciente com resultado positivo. O valor preditivo negativo é a probabilidade de não ter a doença quando o resultado é negativo (FLETCHER *et al.*, 1996). Os valores preditivos são calculados com base nas equações a seguir:

Valor preditivo positivo = $\frac{\text{número de indivíduos portadores da doença e positivos ao teste}}{\text{número de indivíduos positivos ao teste}}$

Valor preditivo negativo = $\frac{\text{número de indivíduos sem doença e negativos ao teste}}{\text{número de indivíduos negativos ao teste}}$

Adaptado FLETCHER *et al.*, 1996

Para anular os possíveis fatores de confusão (sorologia para HTLV, uso de terapia antiretroviral, carga viral, sexo e idade) na análise central do estudo, foi realizada análise multivariada.

As análises estatísticas foram realizadas pelo software SPSS 11.0 versão para Windows.

5. RESULTADOS

5.1. Características da população em estudo

A população em estudo consiste em 1174 pacientes adultos, de ambos os sexos, soropositivos para HIV acompanhados no Ambulatório da Unidade Docente e Assistencial em Infectologia (UDAI) localizada no Hospital Universitário Professor Edgar Santos (HUPES). Dentre os 1174 pacientes, 721 (61%) eram indivíduos do sexo masculino e 453 (39%) do sexo feminino. A idade dos pacientes variou de 18 a 82 anos, com média de 39 anos (tabela 2).

Tabela 2 – Distribuição etária da população em estudo.

Faixa etária	Freqüência	Porcentagem
18 a 19 anos	4	0,3
20 a 24 anos	50	4,3
25 a 29 anos	137	11,7
30 a 34 anos	212	18,1
35 a 39 anos	252	21,5
40 a 49 anos	353	30,1
50 a 59 anos	138	11,8
> 60 anos	28	2,4
Total	1174	100,0

Observou-se maior prevalência do vírus HIV entre os homens, e o grupo etário mais atingido, em ambos os sexos, foi o de 30 a 49 anos de idade. Esses dados concordam com o perfil epidemiológico do vírus HIV na população brasileira (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004).

Com relação à positividade ao ELISA para HTLV I/II, 1125 pacientes foram negativos ao exame sorológico e 49 foram detectados como portadores do vírus HTLV

(figura 1); 1104 eram pacientes em uso de terapia antiretroviral, e 70 eram virgens de tratamento (figura 2).

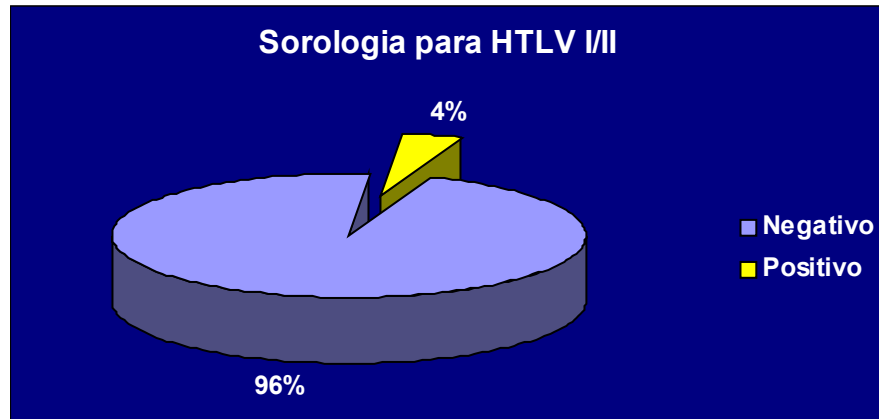


Figura 1 – Sorologia para HTLV I/II.

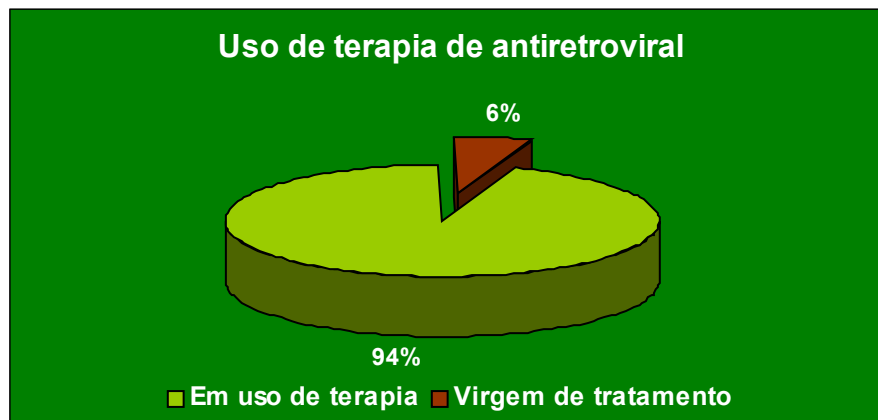


Figura 2 – Uso de terapia antiretroviral.

Os pacientes HIV soropositivos devem ser acompanhados pelo seu médico, em média, a cada quatro meses. A cada visita ao ambulatório de infectologia, os pacientes receberam a solicitação para execução dos exames de contagem de CD4 e carga viral. Durante o período de maio/2003 a setembro/2004, 74,9% dos pacientes tiveram somente uma observação, 25% foram observados mais de duas vezes e destes, somente 1 indivíduo teve quatro visitas (figura 3).

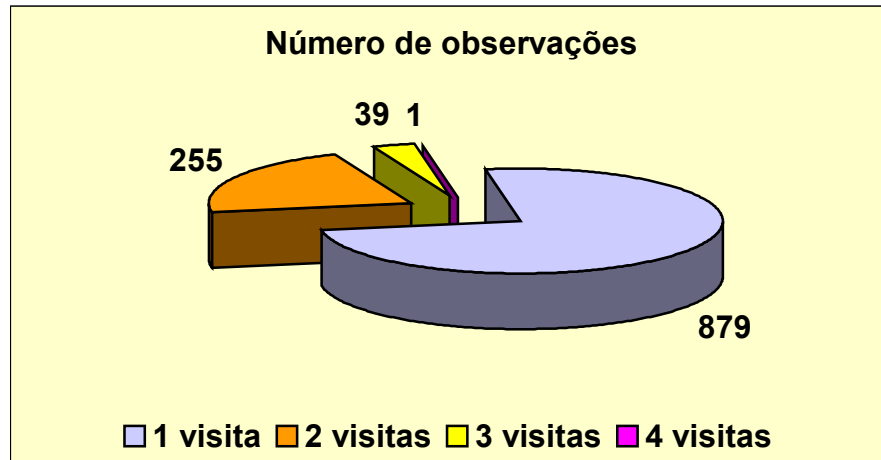


Figura 3 – Número de observações.

5.2. Características das amostras

Neste estudo, 1510 amostras de sangue, provenientes de 1174 pacientes foram analisadas para determinação da contagem absoluta de células T CD4⁺, contagem absoluta de células T CD8⁺ e contagem total de linfócitos. Não houve diferença estatisticamente significativa desses dados entre os pacientes co-infectados pelos vírus HIV/HTLV, e os pacientes infectados somente pelo vírus HIV (tabela 3 e figura 4).

Tabela 3 – Descrição dos dados de contagem absoluta de células T CD4⁺, contagem absoluta de células T CD8⁺ e contagem total de linfócitos em pacientes co-infectados e mono-infectados.

Características	Pacientes co-infectados	Pacientes mono-infectados	P**
	(N= 49)	(N= 1125)	
Contagem de células T CD4 ⁺	350,5*	395*	0,12
Contagem de células T CD8 ⁺	886,5*	861*	0,24
Contagem total de linfócitos	1800*	1800*	0,60

* Valores de mediana.

** Significância calculada pelo teste de Mann-Whitney.

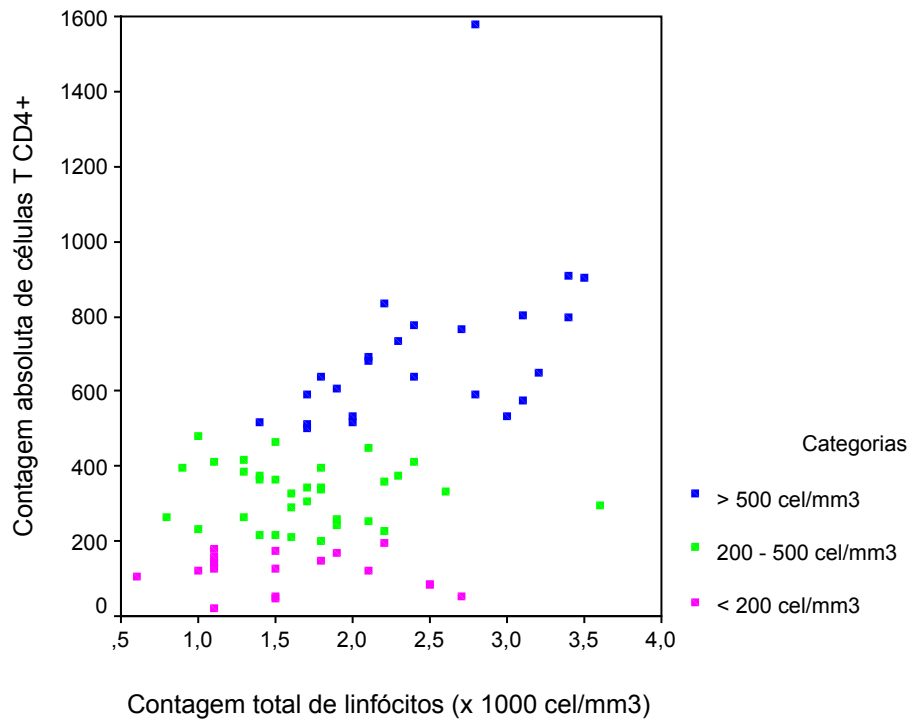


Figura 4 – Distribuição da contagem absoluta de células T CD4⁺ e contagem total de linfócitos em relação às categorias de importância clínica, no grupo de pacientes co-infectados HIV/HTLV.

Comparando-se os dados de contagem absoluta de células T CD4⁺ entre o grupo de pacientes em tratamento e o grupo de pacientes virgens de terapia antiretroviral foi observada diferença significativa entre os grupos. O mesmo não foi demonstrado para os dados de contagem absoluta de células T CD8⁺ e contagem total de linfócitos. Os resultados estão sumarizados na tabela 4.

Tabela 4 – Descrição dos dados de contagem absoluta de células T CD4⁺, contagem absoluta de células T CD8⁺ e contagem total de linfócitos em pacientes do grupo em tratamento e do grupo sem uso de terapia antiretroviral.

Características	Pacientes em tratamento (N= 1104)	Pacientes sem uso de terapia (N= 70)	P**
Contagem de células T CD4 ⁺	391*	448,5*	0,01
Contagem de células T CD8 ⁺	861*	874,5*	0,57
Contagem total de linfócitos	1800*	1800*	0,44

* Valores de mediana.

** Significância calculada pelo teste de Mann-Whitney.

A determinação da carga viral plasmática foi realizada em 1179 amostras. Destas, 516 (43,8%) apresentaram carga viral abaixo do nível de detecção do teste (< 80 cópias de HIV/mL), 323 (27,4%) possuíam carga viral plasmática entre 80 e 10.000 cópias de HIV/mL e 340 (28,8%) mostraram grande quantidade de cópias do vírus, variando de 10.000 a 3.100.000 cópias de HIV/mL. Não foi estatisticamente significativa a diferença observada entre os pacientes com carga viral plasmática indetectável (N= 516) e os que apresentaram carga viral acima de 50 cópias/mL (N= 663), para os valores de contagem absoluta de células T CD4⁺, contagem absoluta de células T CD8⁺ e contagem total de linfócitos (tabela 5)

Analisando os dados de contagem absoluta de células T CD4⁺ e CD8⁺, e TLC em relação ao sexo dos pacientes houve diferença significativa nos três parâmetros (tabela 6).

Tabela 5 – Descrição dos dados de contagem absoluta de células T CD4⁺, contagem absoluta de células T CD8⁺ e contagem total de linfócitos em pacientes com carga viral plasmática indetectável e pacientes com carga viral detectável.

Características	Pacientes com carga viral	Pacientes com carga viral	P**
	indetectável (N= 516)	detectável (N= 663)	
Contagem de células T CD4 ⁺	407,5*	383*	0,15
Contagem de células T CD8 ⁺	901*	856*	0,47
Contagem total de linfócitos	1800*	1800*	0,10

* Valores de mediana.

** Significância calculada pelo teste de Mann-Whitney.

Tabela 6 – Descrição dos dados de contagem absoluta de células T CD4⁺, contagem absoluta de células T CD8⁺ e contagem total de linfócitos em relação ao sexo dos pacientes.

Características	Pacientes do sexo	Pacientes do sexo feminino	P**
	masculino (N= 721)	(N= 453)	
Contagem de células T CD4 ⁺	379*	422*	0,02
Contagem de células T CD8 ⁺	905*	784*	0,00
Contagem total de linfócitos	1800*	1700*	0,00

* Valores de mediana.

** Significância calculada pelo teste de Mann-Whitney.

No grupo de pacientes em terapia (N= 1104), foram analisadas 1412 amostras. Os dados relativos à contagem absoluta de células T CD4⁺ foram subdivididos em três categorias, conforme estabelecido pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 1993): < 200 cel/mm³, 200 – 500 cel/mm³ e ≥ 500 cel/mm³. A figura 5 mostra a distribuição da contagem absoluta de células T CD4⁺ e contagem total de linfócitos.

Como exposto anteriormente, a contagem absoluta de linfócitos CD4⁺ menor que 200 cel/mm³, ou percentual menor que 20%, tem sido associado ao aumento no risco de infecções oportunistas (MASUR *et al.*, 1989). Sendo assim, do total de amostras analisadas, 16,9% apresentavam contagem absoluta de linfócitos CD4⁺ < 200 cel/mm³, 50,3% possuíam CD4 entre 200 e 500 cel/mm³ e 32,8% tinham contagem igual ou superior a 500 cel/mm³. Com relação à contagem percentual de células T CD4⁺, 26,6% tinham contagem percentual < 20% e 14,9% apresentaram percentual de células T CD4⁺ < 15% (tabela 7).

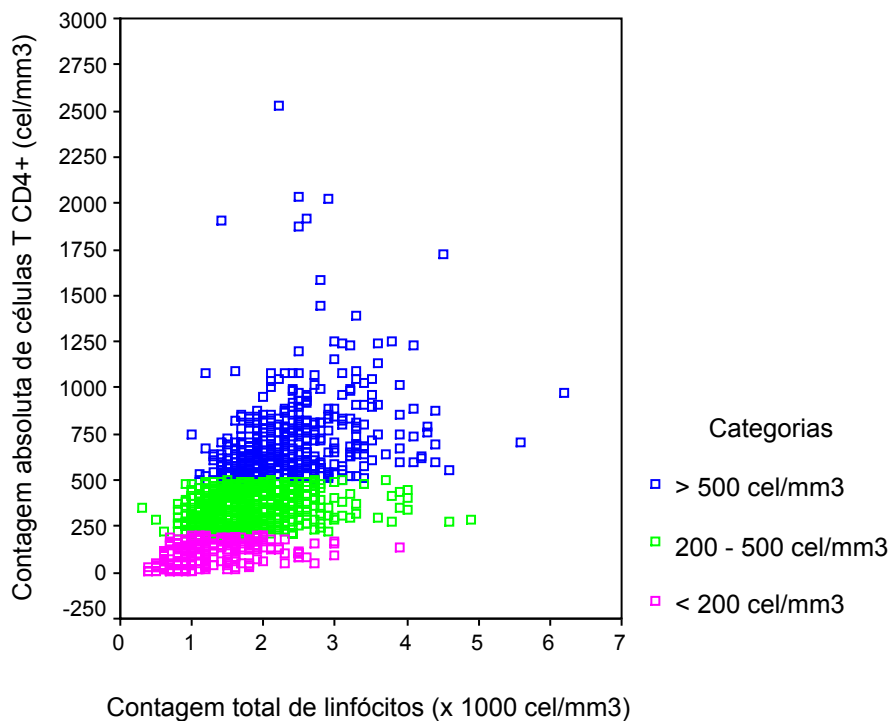


Figura 5 – Distribuição da contagem absoluta de células T CD4⁺ e contagem total de linfócitos em relação às categorias de importância clínica, no grupo de pacientes em terapia HAART.

Tabela 7 – Descrição dos dados de contagem absoluta e percentual de células T CD4⁺.

Contagem absoluta de células T CD4⁺	Frequência	Percentagem
< 200 cel/mm ³	239	16,9
200 – 500 cel/mm ³	710	50,3
≥ 500 cel/mm ³	463	32,8
Contagem percentual de células T CD4⁺		
< 15%	210	14,9
< 20%	375	26,6

Entre os pacientes que apresentaram contagem absoluta de linfócitos T CD4⁺ < 200 cel/mm³, 58,9% tinham percentual de CD4⁺ < 15% e 82,2% possuíam percentual de CD4⁺ < 20%. Das observações de contagem percentual de células T CD4⁺ < 15% e < 20%, 67,6% e 52,8% apresentavam CD4⁺ < 200 cel/mm³, respectivamente.

No grupo de pacientes sem uso, atual ou prévio, de agentes antiretrovirais (N= 70) foram analisadas 98 amostras. Os dados relativos à contagem absoluta de células T CD4⁺ foram subdivididos em dois grupos: < 350 cel/mm³ e ≥ 350 cel/mm³, de acordo com o padrão brasileiro que define o início da terapia antiretroviral (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004). A distribuição da contagem células T CD4⁺ e contagem total de linfócitos, neste grupo de pacientes, é mostrada na figura 6.

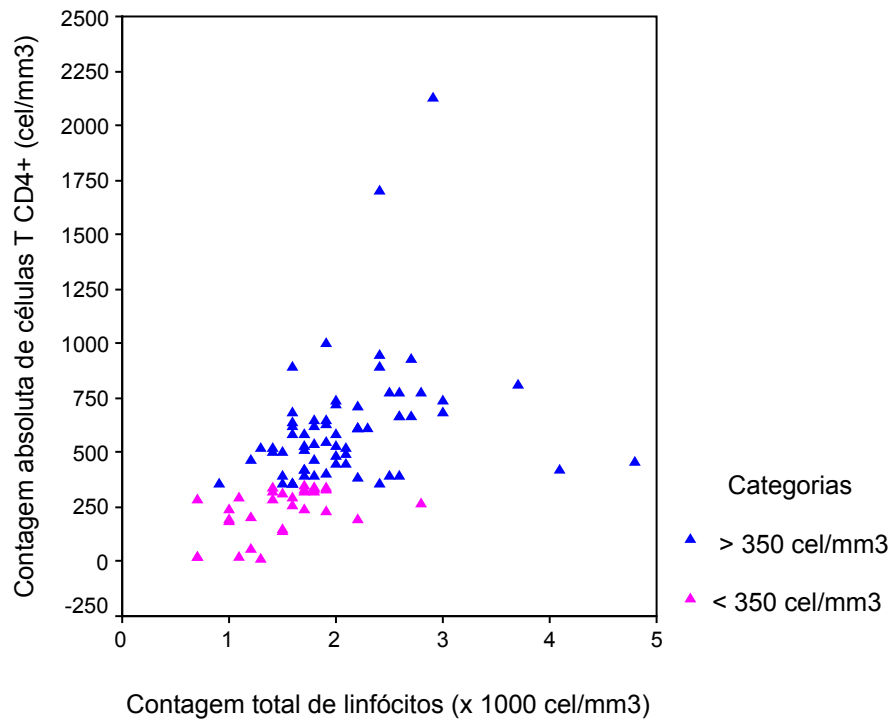


Figura 6 – Distribuição da contagem absoluta de células T CD4⁺ e contagem total de linfócitos em pacientes virgens de tratamento.

Das 98 amostras analisadas, 32 (32,7%) mostraram contagem de células T CD4⁺ $< 350 \text{ cel/mm}^3$ e 66 (67,3%) apresentaram $CD4^+ \geq 350 \text{ cel/mm}^3$.

5.3. Análise estatística

Foi utilizado o teste não paramétrico de correlação de Spearman para determinar o grau de correlação entre TLC e contagem absoluta de células T CD4⁺, contagem percentual de linfócitos CD4⁺ e contagem de linfócitos T CD8⁺ (tabela 8).

Tabela 8 – Correlação entre contagem total de linfócitos (TLC) e contagem de células T CD4⁺, contagem percentual de linfócitos CD4⁺ e contagem absoluta de células T CD8⁺.

TLC (/mm ³)	N	Contagem absoluta de células T CD4 ⁺ (/mm ³)	Porcentagem de células T CD4 ⁺ (/mm ³)	Contagem absoluta de células T CD8 ⁺ (/mm ³)
Grupo de pacientes em uso de terapia antiretroviral				
Todo grupo	1412	0,580*	- 0,017	0,768*
< 200	239	0,417*	- 0,141*	0,796*
200-500	710	0,240*	- 0,606*	0,796*
≥ 500	463	0,379*	- 0,512*	0,756*
Grupo de pacientes sem uso de terapia antiretroviral				
Todo grupo	98	0,610*	- 0,042	0,671*
< 350	32	0,530*	- 0,065	0,811*
≥ 350	66	0,432*	- 0,447*	0,646*

Coefficiente de correlação de Spearman.

* Correlação significativa (p< 0,001)

Foi demonstrada uma boa correlação entre TLC e contagem absoluta de células T CD4⁺ para todo o grupo (r= 0,580), entretanto, essa correlação diminui consideravelmente quando as amostras são divididas em categorias, de acordo com a contagem de células T CD4⁺, apesar de manter uma associação estatisticamente significativa.

Não existe correlação entre TLC e porcentagem de células T CD4⁺, para todo o grupo (r= - 0,017). Por outro lado, se as observações são subdivididas em categorias emerge um forte índice negativo de correlação. Contrariamente, uma forte correlação, para todo o grupo foi demonstrada entre TLC e contagem de células T CD8⁺ em ambos os grupos analisados (r= 0,768 e r= 0,671).

Uma fraca correlação foi demonstrada entre a contagem absoluta de células T CD4⁺ e CD8⁺ (r= 0,280).

Foi investigada, para o grupo de pacientes em tratamento com agentes antiretrovirais, a utilidade da contagem total de linfócitos em prever o início de profilaxia contra infecções oportunistas (contagem de CD4 < 200 cel/mm³). O valor de TLC inferior ou igual a 1700 cel/mm³ demonstrou sensibilidade de 76,3% e especificidade de 65,2% para contagem de CD4⁺ < 200 cel/mm³. E TLC menor ou igual

a 1000 cel/mm³ apresentou valor preditivo positivo de 77,8% e valor preditivo negativo de 87,1% para prever o mesmo valor de contagem de CD4 (tabela 9).

Tabela 9 – Combinação de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (PPV), valor preditivo negativo (NPV) para determinar TLC capaz de prever a contagem absoluta de células T CD4⁺ < 200 cel/mm³.

TLC (cel/mm³)	N	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	PPV (%)	NPV (%)
≤ 1000	90	29,0	98,3	77,8	87,1
≤ 1200	196	46,5	92,8	57,1	89,4
≤ 1500	422	62,2	76,8	35,5	90,8
≤ 1700	591	76,3	65,2	31,1	93,1
≤ 2000	863	88,8	44,6	24,8	95,1
≤ 2200	1004	92,9	33,4	22,3	95,8
≤ 2500	1159	95,0	20,6	19,8	95,3

Em relação ao grupo de pacientes sem uso de terapia antiretroviral foi analisada a capacidade da contagem total de linfócitos em prever o início da terapia HAART (contagem de CD4 < 350 cel/mm³). Similarmente ao encontrado no grupo de pacientes em terapia, a contagem total de linfócitos menor ou igual a 1700 cel/mm³ demonstrou sensibilidade de 59,4%, e especificidade de 75,8%, capaz de prever a contagem absoluta de células T CD4⁺ < 350 cel/mm³. O valor de TLC inferior ou igual a 1500 cel/mm³ apresentou valor preditivo positivo de 73,7% e valor preditivo negativo de 77,2% para determinar o mesmo valor de CD4 (tabela 10).

Tabela 10 – Combinação de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (PPV), valor preditivo negativo (NPV) para determinar TLC capaz de prever a contagem absoluta de células T CD4⁺ < 350 cel/mm³.

TLC (cel/mm³)	N	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	PPV (%)	NPV (%)
≤ 1000	4	9,4	98,5	75,0	69,1
≤ 1200	9	25,0	98,5	88,9	73,0
≤ 1500	19	43,8	92,4	73,7	77,2
≤ 1700	35	59,4	75,8	57,3	79,4
≤ 2000	62	93,8	51,5	48,4	94,4
≤ 2200	71	93,8	37,9	42,3	92,6
≤ 2500	82	96,9	22,7	37,8	93,8

A relação entre sensibilidade e especificidade foi expressa através da construção das curvas ROC ilustradas nas figuras 7 e 8. A curva ROC mostra a severidade do contrabalanço entre sensibilidade e a especificidade.

A figura 7 ilustra o baixo poder discriminatório da contagem total de linfócitos em prever o início de profilaxia contra infecções oportunistas (contagem de CD4 < 200 cel/mm³) ou indicação de terapia antiretroviral (contagem de CD4 < 350 cel/mm³). Testes de menor poder discriminatório tem curvas mais próximas à linha de referência. Esta linha mostra a relação entre as taxas de resultados verdadeiro-positivos e falso-positivos que seria obtida ao acaso (FLETCHER *et al.*, 1996).

As curvas (figura 7) revelam que a diminuição do limite de corte resulta em grande diminuição da sensibilidade e aumento da especificidade. Enquanto que, o aumento do limite de corte da contagem total de linfócitos ocasiona aumento da sensibilidade com diminuição da especificidade.

Com relação à figura 8, à medida que a sensibilidade aumenta, com a diminuição do limite de corte até o valor de TLC maior ou igual a 1700 cel/mm³, há pouca perda na especificidade. A contagem total de linfócitos demonstrou melhor poder discriminatório quando considerada como um instrumento para excluir a necessidade de profilaxia contra infecções oportunistas, ou o uso de agentes antiretrovirais.

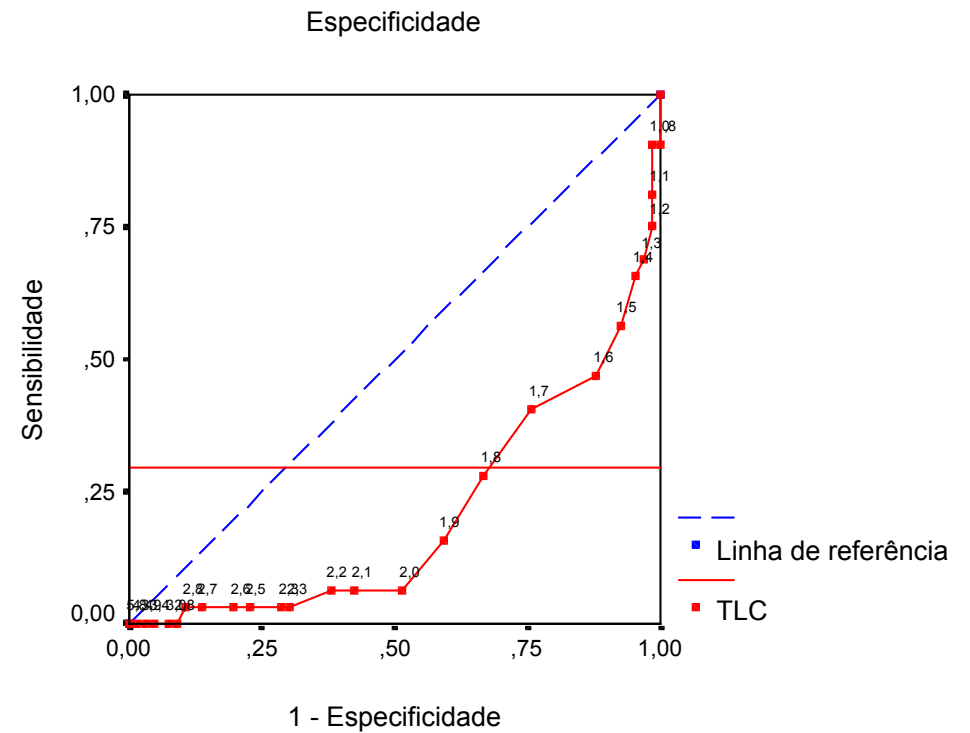
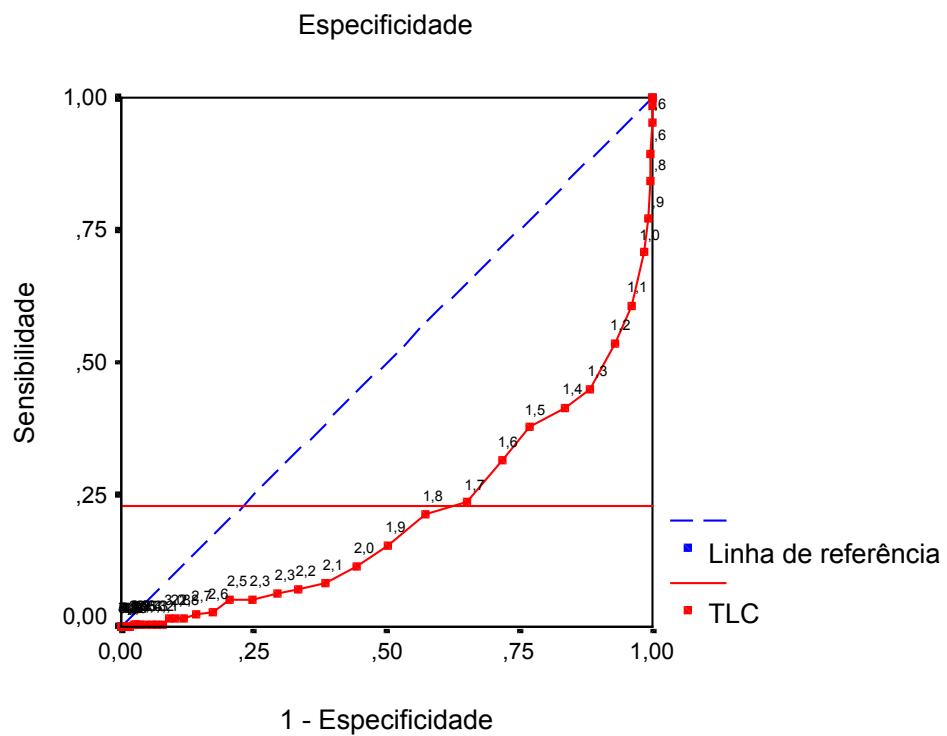


Figura 7 – Curvas ROC. Acurácia da contagem total de linfócitos em prever: (a) contagem absoluta de células T CD4⁺ < 200 cel/mm³ e (b) contagem absoluta de células T CD4⁺ < 350 cel/mm³.

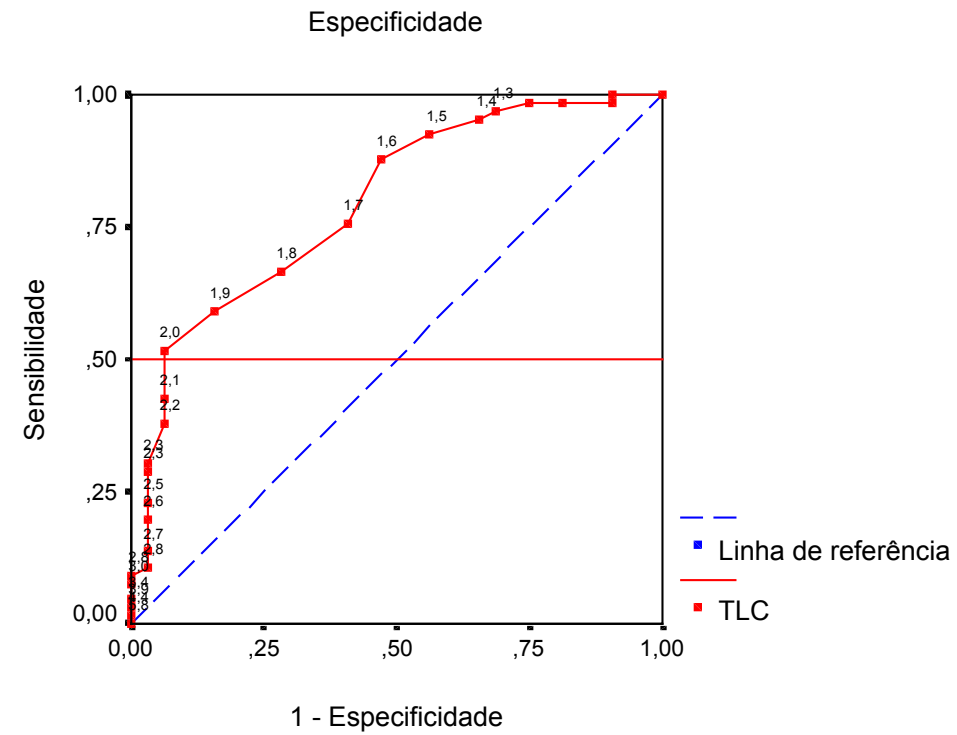
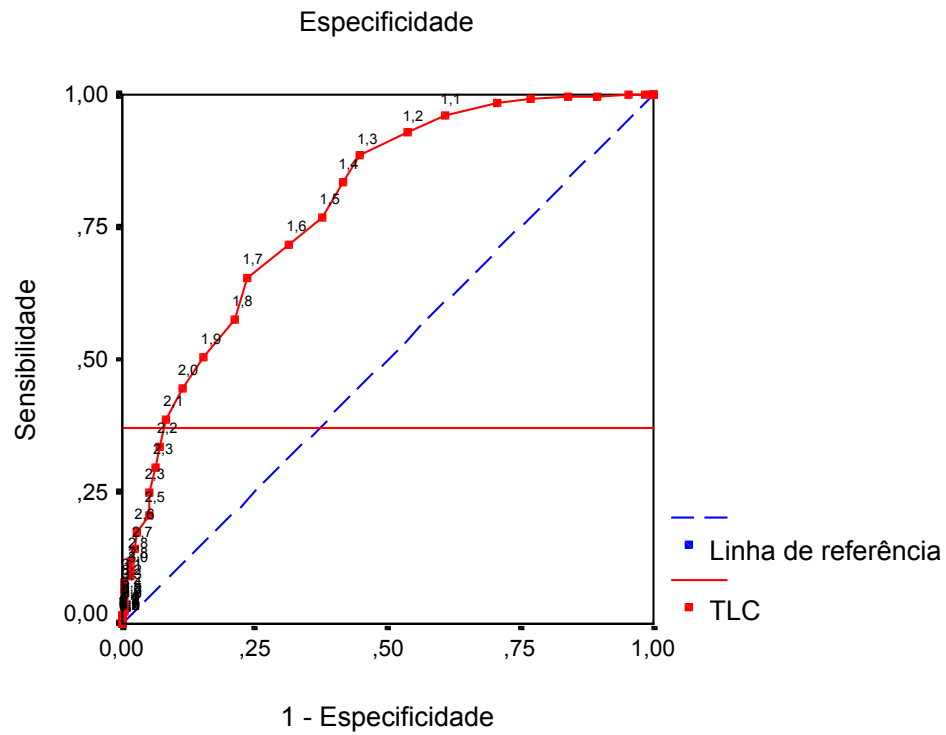


Figura 8 – Curvas ROC. Acurácia da contagem total de linfócitos em prever: **(a)** contagem absoluta de células T CD4⁺ ≥ 200 cel/mm³ e **(b)** contagem absoluta de células T CD4⁺ ≥ 350 cel/mm³.

Analisando o grupo de pacientes em tratamento, em relação à contagem percentual de linfócitos T CD4⁺, o valor da TLC ≤ 1700 cel/mm³ teve sensibilidade de apenas 45,8% e especificidade de 60,1% para detectar o percentual de células CD4⁺ < 20%, enquanto, demonstrou sensibilidade de 49,8% e especificidade de 60,0% para prever percentagem < 15% (tabela 11).

Tabela 11 – Acurácia da contagem total de linfócitos (TLC) em prever a percentagem de células T CD4⁺ < 20% e < 15%.

TLC (cel/mm ³)	CD4% < 20%		CD4% < 15%	
	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
≤ 1000	12,8	96,1	18,5	95,9
≤ 1200	21,0	89,1	28,8	88,6
≤ 1500	32,3	71,9	36,6	72,1
≤ 1700	45,8	60,1	49,8	60,0
≤ 2000	62,0	39,0	66,1	39,6
≤ 2200	70,0	28,4	72,7	29,1
≤ 2500	79,0	16,7	80,2	17,5

Com a perspectiva de esclarecer se as variáveis; sexo, idade, carga viral, terapia antiretroviral e sorologia para HTLV I/II, poderiam afetar a performance da TLC como marcador para a contagem absoluta de linfócitos T CD4⁺, foi realizada análise multivariada dos dados para determinar o grau de interferência destes fatores no desempenho do teste de contagem total de linfócitos. Somente a variável; sexo demonstrou capacidade ($p= 0,02$) para influenciar a performance da TLC em prever contagem absoluta linfócitos T CD4⁺. Entretanto, analisando os dados em subgrupos segundo o sexo dos pacientes, as curvas ROC não apresentaram diferença significativa na relação entre sensibilidade e especificidade (tabela 12).

Tabela 12 – Comparação da acurácia da contagem total de linfócitos em prever contagem absoluta de células T CD4⁺ em pacientes do sexo masculino e do sexo feminino.

	CD4 < 200 cel/mm³	CD4 ≥ 200 cel/mm³	CD4 < 350 cel/mm³	CD4 ≥ 350 cel/mm³
Grupo de pacientes em uso de terapia antiretroviral				
Todo grupo	0,21*	0,79*	-	-
Sexo masculino	0,24*	0,76*	-	-
Sexo feminino	0,12*	0,88*	-	-
Grupo de pacientes sem uso de terapia antiretroviral				
Todo grupo	-	-	0,20*	0,80*
Sexo masculino	-	-	0,15*	0,85*
Sexo feminino	-	-	0,25*	0,75*

* Área sob a curva ROC.

6. DISCUSSÃO

Apesar de todo o armamento terapêutico disponível a AIDS ainda permanece invariavelmente fatal. Por outro lado, numerosos estudos mostram que é possível retardar a progressão da imunodeficiência induzida pelo HIV e prevenir o desenvolvimento de muitas, das mais comuns, infecções oportunistas, sendo assim, reduziu-se a morbidade, melhorou-se a qualidade de vida, aumentando a expectativa de vida. Isto somente tornou-se possível devido ao uso da terapia antiretroviral e profilaxia para infecções oportunistas (SCHECHTER *et al.*, 1994).

Muitos estudos clínicos e experimentais têm sustentado a hipótese de que o enfraquecimento de uma resposta imune adequada seja o principal fator responsável pelo desenvolvimento da AIDS. Marcadores imunológicos que independentemente possam prever e estar associados à progressão da infecção pelo HIV possuem grande utilidade na clínica e no manejo terapêutico, indicando o momento para início da profilaxia contra doenças oportunistas (PASCALE *et al.*, 1997).

O objetivo deste estudo foi investigar se a contagem total de linfócitos poderia substituir a contagem de células T CD4⁺ como marcador do status imunológico em paciente infectado pelo vírus HIV; além de determinar um valor de TLC capaz de prever o início da terapia antiretroviral (CD4 < 350 cel/mm³) ou o início da profilaxia contra infecções oportunistas (CD4 < 200 cel/mm³). Apesar da correlação existente entre contagem total de linfócitos e contagem de células T CD4⁺ (r= 0,58), a TLC não foi um bom indicador da contagem de células T CD4⁺ < 200 e < 350 cel/mm³. Embora nós tenhamos observado que a TLC pode ser útil no monitoramento clínico dos pacientes HIV com contagem de CD4 acima de 200 cel/mm³; no sentido de excluir a necessidade da contagem por citometria de fluxo.

Muitos estudos demonstram que a contagem total de linfócitos pode ser usada para prever a contagem de células T CD4⁺ em pacientes infectados pelo HIV (FOURNIER & SOSENKO, 1992; BECK *et al.*, 1996). GANGE e cols. (2003), realizando um estudo retrospectivo, onde 1455 homens foram analisados, demonstraram que o

declínio acelerado da TLC (> 33% por dia) geralmente precede AIDS. BEDELL e cols. (2003), caracterizaram que o valor de TLC ≤ 1400 cel/mm³ prediz o risco de morte entre pacientes portadores do vírus HIV.

SCHECHTER e cols. (1994) realizando um estudo aqui no Brasil, no Rio de Janeiro, analisaram 106 pacientes virgens de tratamento. Seus resultados mostraram que a combinação entre observação das manifestações clínicas e o uso de parâmetros laboratoriais pode prever a contagem de CD4 < 200 cel/mm³ com alta sensibilidade (95,7%) e especificidade (83,3%).

Os dados analisados no presente estudo, mostraram que há uma correlação significativa entre TLC e contagem de CD4 ($r= 0,58$, $p < 0,001$), entretanto, correlações mais altas foram relatadas na Índia ($r= 0,74$) por KUMARASAMY e cols. (2002); na Inglaterra ($r= 0,76$) por BECCK e cols. (1996); na América do Norte, ($r= 0,77$) por BLATT e cols. (1993) e FOURNIER & SOSENKO (1992); e na África do Sul ($r= 0,70$) por VAN DER RYST e cols. (1998). Em 2003, JACOBSON e cols. encontraram um coeficiente de correlação de 0,68; assim como, BADRI & WOOD, 2003 ($r= 0,61$) e PASCALE e cols. ($r= 0,68$) em 1997. Somente AKINOLA e cols. (2004), apresentaram um coeficiente de correlação muito fraco ($r= 0,43$).

Neste trabalho observou-se que fatores como: a co-infecção pelo vírus HTLV, o grupo étnico dos indivíduos e algumas alterações hematológicas poderiam estar influenciando a associação entre a contagem total de linfócitos e contagem de CD4. Na coorte de pacientes envolvidos neste estudo, foram incluídos 49 indivíduos co-infectados pelos vírus HIV/HTLV. A infecção pelo HTLV estimula a proliferação de células T. Isso é produzido pelo gene *tax*, que põe em ação genes que codificam um fator de crescimento das células T, a IL-2, e o seu receptor, estabelecendo um sistema autócrino de proliferação (MORTREUX *et al.*, 2003). Portanto, o vírus HTLV poderia estar contribuindo para o aumento do número de linfócitos T CD4⁺ em pacientes co-infectados, resultando em um desvio da associação entre TLC e CD4, contudo, nossos dados não comprovam esse fato. A contagem média de células T CD4⁺ não mostrou uma diferença estatisticamente significativa entre o grupo de pacientes mono-infectados (350 cel/mm³) e o grupo de pacientes co-infectados (395 cel/mm³), por outro lado a correlação entre TLC e CD4 nos indivíduos mono-infectados ($r= 0,586$) e co-infectados ($r=$

572) foi semelhante. Existe muito debate em torno do efeito da coinfeção HIV/HTLV sobre a progressão da doença. Alguns estudos têm demonstrado possíveis conseqüências clínicas adversas da coinfeção, mas estes relatos são extremamente limitados. (ESKILD *et al.*, 1996; ZHANG *et al.*, 1998; BRITES *et al.*, 1998; BRITES *et al.*, 2001), portanto não houve uma influência da co-infecção do HIV com o HTLV na amostra estudada.

O número de linfócitos T circulantes pode divergir entre os diferentes grupos étnicos. CHOONG e cols. observaram diferenças entre as raças com relação ao número de células T CD4⁺ e CD8⁺, células NK, e na relação CD4:CD8. Outro estudo mostrou que pacientes negros e hispânicos têm significativamente um menor tempo de sobrevivência comparado aos pacientes brancos com AIDS. Pacientes hispânicos, virgens de tratamento, apresentaram menor contagem de CD4 em relação aos indivíduos negros ou brancos (SWINDELLS *et al.*, 2002). Contrário a isto, JACOBSON e cols. (2003), analisando simultaneamente dados sobre contagem de células T CD4⁺ e contagem total de linfócitos de 2356 pacientes, em uso de terapia antiretroviral e também pacientes virgens de tratamento, observaram uma tendência de melhor combinação de sensibilidade e especificidade entre os negros em comparação aos indivíduos brancos. No caso da nossa população, há uma intensa mistura dos diversos grupos étnicos, principalmente negros, brancos e índios. Por esse motivo, a miscigenação racial da população poderia estar mascarando o efeito do fator raça nas variações da quantidade de células T CD4⁺ em pacientes infectados pelo HIV.

Os indivíduos portadores do vírus HIV, na fase aguda apresentam, em geral, linfocitose com presença de linfócitos atípicos decorrentes do processo infeccioso. Com a evolução da doença, verifica-se uma queda na contagem total de linfócitos como resultado da progressiva depleção de linfócitos T CD4⁺, linfócitos T CD8⁺ e linfócitos B (REDDY *et al.*, 1991; SCHLUMPBERGER *et al.*, 1994; COHEN *et al.*, 1999; ADEWUYI *et al.*, 1999; COHEN & FAUCI, 2001). Neste estudo nós observamos que os pacientes infectados pelo HIV apesar de apresentarem valores normais ou uma alta contagem total de linfócitos mostravam pequenas quantidades de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺. Algum mecanismo de equilíbrio imunológico poderia estar funcionando na tentativa de balancear as perdas de células T CD4⁺, principalmente, pela ação direta do vírus; e as

perdas dos linfócitos T CD8⁺ basicamente pelo envolvimento destas células na resposta citotóxica contra o vírus HIV. Entretanto, estas são apenas suposições visto que nossos dados não nos permitem concluir isto. Talvez esta seja a principal razão pela qual não tenhamos encontrado uma forte correlação entre TLC e CD4.

Em relação ao grupo de pacientes em uso de terapia antiretroviral foram analisadas 1412 amostras com a finalidade de avaliar a capacidade da contagem total de linfócitos em determinar o início da profilaxia para infecções oportunistas caso houvesse uma queda significativa do TLC. Nós demonstramos que o intervalo de TLC menor ou igual a 1700 cel/mm³ apresentou máxima combinação de sensibilidade (76,3%) e especificidade (65,2%) e 93,1% de valor preditivo negativo, mas apenas 31,1% de valor preditivo positivo. Isso está em concordância com os resultados de PASCALE e cols. (1997), de que contagem total de linfócitos menor ou igual a 1750 cel/mm³ tem uma correlação elevada com uma contagem de CD4 < 200 cel/mm³. Contudo, nossos dados são um pouco inferiores aos achados por BLATT e cols. (1993), VAN DER RYST e cols. (1998), JACOBSON e cols. (2003) (em protocolos com pacientes virgens de tratamento), já KUMARASAMY e cols. (2002), POST e cols. (1996), e BADRI & WOOD (2003) obtiveram resultados de sensibilidade e especificidade semelhante aos autores anteriores, porém com um ponto de corte inferior (1400 cel/mm³).

BLATT e cols. (1993) em um estudo retrospectivo realizado nos Estados Unidos com 828 pacientes virgens de tratamento, representando 2866 observações, demonstraram que o valor de TLC \leq 1500 cel/mm³ teve 82% de sensibilidade e 86% de especificidade, sendo assim um útil indicador da significativa imunossupressão mensurada pelo número de células T CD4⁺ < 200 cel/mm³. Os resultados de VAN DER RYST e cols. (1998), ao analisar 3237 amostras de pacientes sem uso de terapia antiretroviral, na África do Sul, mostram semelhante tendência, mas a sensibilidade (78,1%) e a especificidade (79,6%) resultante da capacidade da TLC em prever a mesma contagem de células T CD4⁺ foi significativamente menor. Assim como JACOBSON e cols. (2003), nos Estados Unidos, que utilizando o mesmo limite de corte para TLC apresentaram 79% de sensibilidade e 75% de especificidade.

KUMARASAMY e cols. (2002); POST e cols. (1996) e BADRI & WOOD (2003) apesar de mostrarem diferentes limites de corte para contagem total de linfócitos revelam a mesma tendência dos trabalhos anteriores em relação aos valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo. KUMARASAMY e cols. usaram o intervalo de $TLC \leq 1400 \text{ cel/mm}^3$, que mostrou 86%, sensibilidade e especificidade de 88%, enquanto BADRI & WOOD usando o intervalo de $TLC \leq 1250 \text{ cel/mm}^3$ combinaram 83,4% de sensibilidade e 87,3% de especificidade para prever a contagem de $CD4 < 200 \text{ cel/mm}^3$. POST e cols. (1996) apesar de usarem o mesmo limite de corte para TLC a sensibilidade encontrada foi significativamente menor (SE= 68% e SPE= 89%).

Ao selecionar um teste, é necessário considerar sua sensibilidade e especificidade. Dispor de um teste que seja altamente sensível e altamente específico é o desejável. Infelizmente, existe um contrabalanço entre sensibilidade e especificidade de um teste diagnóstico. Um teste sensível é o teste de escolha quando a penalidade por deixar de diagnosticar uma doença é grande. De acordo com os padrões de utilidade clínica, não há interesse em testes com sensibilidade e especificidade muito abaixo de 50% (FLETCHER *et al.*, 1996). Contudo, usando-se o limite de corte para $TLC \leq 1700 \text{ cel/mm}^3$, 69% dos pacientes receberiam tratamento contra infecções oportunistas desnecessariamente. Uma pequena quantidade de indivíduos em tratamento para ARV que tivessem os leucócitos abaixo de 1700 não seriam identificados como tendo uma contagem de células T $CD4^+ < 200 \text{ cel/mm}^3$, ou seja, não seriam colocados sob regime de drogas profiláticas. Portanto, assim como AKINOLA e cols. (2004), e em discordância com os outros trabalhos sobre o assunto, nós concluímos que a contagem total de linfócitos não é um indicador seguro da contagem de células T $CD4^+$ em indivíduos infectados pelo HIV. Por outro lado, o valor de 1700 seria um excelente indicador para que CD4 fosse novamente realizado.

No grupo de pacientes virgens de tratamento, 98 amostras foram utilizadas para investigar a capacidade da TLC em indicar o início da terapia HAART. Entretanto, não foi possível encontrar uma mesma equivalência entre sensibilidade e especificidade. O aumento da sensibilidade levou a uma diminuição acentuada da especificidade, aumentando muito o número de falso-negativos, ou seja, pacientes que receberiam

terapia antiretroviral desnecessariamente. É possível que, a sensibilidade e especificidade do teste não representem os valores verdadeiros devido ao tamanho da amostra.

No presente estudo, o valor de TLC menor ou igual a 1700 cel/mm^3 apresentou sensibilidade de 59,4%, especificidade de 75,8%, valor preditivo negativo de 57,3% e valor preditivo positivo de 79,4% para predizer contagem de $\text{CD4} < 350 \text{ cel/mm}^3$. Apesar do intervalo de $\text{TLC} \leq 1700 \text{ cel/mm}^3$ ter sido utilizado como limite de corte para contagem total de linfócitos em outros trabalhos (JACOBSON *et al.*, 2003 e KUMARASAMY *et al.*, 2002) nossos dados apresentaram sensibilidade significativamente menor para predizer contagem de $\text{CD4} < 350 \text{ cel/mm}^3$. KUMARASAMY e cols. (2002) demonstraram que a $\text{TLC} \leq 1700 \text{ cel/mm}^3$ teve 70% de sensibilidade e 86% de especificidade, enquanto JACOBSON e cols. (2003) encontraram sensibilidade de 74% e especificidade de 73% para predizer contagem de $\text{CD4} < 350 \text{ cel/mm}^3$.

LEE & WONG, em 2003, em sua revisão sobre o assunto concluíram que o valor para contagem total de linfócitos de 1200 cel/mm^3 (valor recomendado pelo OMS) poderia ser usado como um marcador independente para iniciar tratamento antiretroviral, contudo este valor está altamente relacionado a uma contagem de $\text{CD4} < 100 \text{ cel/mm}^3$. O critério recomendado pela OMS da $\text{TLC} \leq 1200 \text{ cel/mm}^3$ para início de terapia pode ser muito baixo, o que poderia resultar em um inaceitável número de mortes que poderiam ser evitadas. Contrariamente, se um valor de $\text{TLC} \leq 1500 \text{ cel/mm}^3$ fosse utilizado como limite de corte, isto indicaria um nível moderado de imunodeficiência, e deveria por isso ser associado ao estadiamento clínico como critério para início de tratamento.

Existe a tendência do uso de testes em série em situações clínicas em que não é necessária a avaliação rápida dos pacientes, pois estes são acompanhados ao longo do tempo, ou quando alguns dos testes são caros, sendo estes, então, usados somente depois que os mais simples e seguros tenham sugerido a presença da doença (FLETCHER *et al.*, 1996).

A contagem de células T CD4^+ é determinada por citometria de fluxo. O custo com os testes, assim como a necessidade de pessoal treinado em citometria, pode ser

um fator impeditivo para o uso deste marcador em nações em desenvolvimento. Um número cada vez maior de pessoas apresentam-se infectadas pelo vírus HIV nos países em desenvolvimento, por isso um método menos oneroso para o monitoramento destes pacientes seria de extrema importância (WHO, 2003).

O monitoramento da progressão da infecção pelo HIV em um único paciente na Índia, com quatro quantificações das células T CD4⁺ por ano, custaria um pouco menos do que 120 dólares. Alternativamente, o monitoramento com TLC, quatro vezes ao ano, custaria somente 11,2 dólares (KUMARASAMY *et al.*, 2002). Portanto, o custo com a contagem total de linfócitos é praticamente dez vezes menor que o custo com a contagem de células T CD4⁺. Além disso, o aparato tecnológico e a infraestrutura necessária para determinar a TLC são mais acessíveis, enquanto a estrutura requerida para contagem de CD4 não está disponível em locais com recursos limitados. Na população de pacientes em tratamento, 821 dos 1412 indivíduos apresentavam TLC acima de 1700, e como vimos tal limite está associado a um baixo número (7%) de indivíduos com CD4 abaixo de 200 cel/mm³, portanto não necessitariam de profilaxia. Nestes pacientes, especialmente, o uso da TLC para o seguimento do indivíduo poderia proporcionar uma economia direta, de pelo menos um terço dos recursos destinados ao monitoramento do paciente portador do vírus HIV, além da economia indireta, relacionada ao transporte do paciente residente em outras cidades aos centros de referência, para realização do teste de contagem de CD4.

Esses dados são particularmente relevantes para os locais onde a infraestrutura laboratorial para realização da contagem de células T CD4⁺ não está, freqüentemente, disponível; e onde a iniciativa internacional através da OMS tem facilitado o acesso a ART, o que tem aumentado o número de pacientes que requerem monitoramento.

Nós observamos que as mulheres infectadas pelo vírus HIV apresentaram contagem absoluta de linfócitos T CD4⁺ mais alta, quando comparadas aos homens soropositivos, em concordância com a literatura (GORTER *et al.*, 1992; PRINS *et al.*, 1999; GIORDANO *et al.*, 2003). Também foi observado que, apesar de haver influência da variável sexo na associação entre TLC e contagem de CD4, isto não alterou os parâmetros de avaliação do teste.

BLATT e cols., investigaram se TLC prediz uma baixa contagem absoluta de células T CD4⁺ e a percentagem de células T CD4⁺ em pessoas infectadas com o Vírus da Imunodeficiência Humana. Eles observaram que os valores de TLC entre 1000 e 2000 cel/mm³, podem ser úteis indicadores de imunossupressão, em lugar da contagem de células T CD4⁺ < 200 cel/mm³. Estes são dados úteis entre pessoas infectadas pelo HIV que apresentam sintomas compatíveis com infecções oportunistas, mas que não têm acesso à análise da contagem de células T CD4⁺.

Os resultados do presente estudo demonstraram que uma correlação negativa foi encontrada entre TLC e contagem percentual de células T CD4 neste grupo de pacientes. De fato, emerge uma forte correlação negativa quando as observações foram subdivididas. Isto está em concordância com os resultados de BECK e cols. (1996) e VAN DER RYST e cols. (1998), que também relataram somente uma fraca correlação entre TLC e percentagem de CD4. Além disso, foi observado que TLC demonstrou baixa sensibilidade e especificidade em prever percentagem de CD4 < 20% e 15%. Em conjunto, estes resultados claramente demonstram que, nesta população ao menos, TLC não pode ser usada para prever percentagem de CD4. Contudo, uma forte correlação entre TLC e contagem de células T CD8 foi demonstrada. A TLC deveria, por isso, ser investigada como possível substituto para prever o status imunológico das células T CD8⁺.

7. CONCLUSÕES

A TLC não foi um bom marcador de CD4 apesar de terem uma boa correlação em pacientes infectados pelo vírus HIV. Esta mensuração não deve, por isso, ser utilizada no monitoramento clínico único destes pacientes.

Em condições de recursos mais escassos, a contagem total de linfócitos é um teste que pode ser utilizado como triagem para a necessidade de contagem de células T CD4⁺ em pacientes portadores do vírus HIV já em tratamento com ARV.

Na população estudada, o limite de TLC ≤ 1700 cel/mm³ foi o que mostrou a maior combinação de sensibilidade e especificidade para detecção de indivíduos com CD4 abaixo de 200 cel/mm³ e poderia ser utilizado como limite de corte para a necessidade de verificação da real situação de imunodeficiência do indivíduo e possibilidade de instalação de profilaxia das doenças oportunistas.

8. ANEXOS

Anexo 1: Sistema OMS de estadiamento da infecção pelo vírus HIV em adolescentes e adultos

Estado Clínico I

1. Assintomático
2. Linfadenopatia generalizada

Estado Clínico II

1. Perda de peso < 10% do peso corporal
2. Manifestações mucocutâneas menores (dermatite seborréica, onicomicosis, úlceras bucais recorrentes)
3. Herpes zoster durante os últimos cinco anos
4. Infecções recorrentes das vias respiratórias superiores (sinusite bacteriana)

Estado Clínico III

1. Perda de peso > 10% do peso corporal
2. Diarréia crônica inexplicada > 1 mês
3. Febre prolongada inexplicada (intermitente ou constante) > 1 mês
4. Candidíase oral
5. Leucoplasia pilosa bucal
6. Tuberculose pulmonar
7. Infecções bacterianas graves (pneumonia, piomiosite)

Estado Clínico IV

1. Síndrome pelo HIV*
2. Pneumonia por *Pneumocystis jiroveci*
3. Toxoplasmose cerebral
4. Criptosporidiose diarréica > 1 mês
5. Criptococose, extrapulmonar
6. Doença por citomegalovírus em órgãos distintos do fígado, baço e gânglios linfáticos (retinites)
7. Infecção pelo vírus herpes simples, mucocutânea (> 1 mês) ou visceral
8. Leucoencefalopatia multifocal progressiva
9. Qualquer micose endêmica disseminada
10. Candidíase esofágica, traqueal ou brônquica
11. Micobacteriose atípica, disseminada ou pulmonar
12. Septicemia por salmonela não tifóide
13. Tuberculose extrapulmonar
14. Linfoma
15. Sarcoma de Kaposi
16. Encefalopatia pelo vírus

* Síndrome pelo HIV: perda de peso > 10% do peso corporal, diarréia crônica inexplicada (> 1 mês) ou debilidade crônica e febre prolongada inexplicada (> 1 mês).

9. BIBLIOGRAFIA

ADEWUYI J, C.A., LATIF AS, SMITH H, ABAYOMI AE, MOYO AA. (1999) Haematologic features of the Human Immunodeficiency Virus (HIV) infection in adult Zimbabweans. *Central African J. of Med.* 45, 26-30.

AKINOLA NO, O.O., ADEDIRAN IA, ONAYEMI O, MURAINAH A, IRINOYE O, ELUJOBA AA, DUROSINMI MA. (2004) The search for a predictor of CD4 cell count continues: Total lymphocyte count is not a substitute for CD4 cell count in the management of HIV-infected individuals in a resource-limited setting. *Clin. Infect. Dis.* 39, 579-81.

ANDRIEU JM, L.W. (1995) Viro-immunopathogenesis of HIV disease: implications for therapy. *Immunology Today* 16, 5-7.

APPAY V, N.D., DONAHOE SM ET AL. (2000) HIV-specific CD8+ cells produce antiviral cytokines but are impaired in cytolytic function. *J. Exp. Med.* 192, 63-75.

BADRI M & WOOD R. (2003) Usefulness of total lymphocyte count in monitoring highly active antiretroviral therapy in resource-limited settings. *AIDS* 17, 541-45.

BARRÉ-SINOUSSE F. (2003) The early years of HIV research: integrating clinical and basic research. *Nat. Med.* 9, 844-46.

BAUM A, N.S. (1988) Psychological research and prevention, etiology, and treatment of AIDS. *Am. Psychologist* 43, 900-6.

BECK EJ, K.E., GOMPELS MM, PINCHING AJ. (1996) Correlation between total and CD4 lymphocyte counts in HIV infection: not making the good an enemy of the not so perfect. *Int. J. STD AIDS* 7, 422-8.

BECKER Y. (2004) The changes in the T helper (Th1) and T helper (Th2) cytokine balance during HIV-1 infection are indicative of an allergic response to viral proteins that may be reversed by Th2 cytokine inhibitors and immune response modifiers - a review and hypothesis. *Virus Genes* 28, 5-18.

BEDELL R, H.K., HOGG RS, WOOD E, PRESS N, YIP B, O'SHAUGHNESSY MV, MONTANER JSG. (2003) Total lymphocyte count as a possible surrogate of CD4 cell count to prioritize eligibility for antiretroviral therapy among HIV-infected individuals in resource-limited settings. *Antiviral Therapy* 8, 379-84.

BEER BE, B.E., SHARP PM, HIRSCH VM. (1999) Diversity and evolution of primate Lentiviruses. In. <http://hiv-web.lanl.gov/compendium>

BLATT SP, L.C., BUTZIN CA, HENDRIX CW, LUCEY DR. (1993) Total lymphocyte count as a predictor of absolute CD4+ count and CD4+ percentage in HIV-infected persons. *JAMA* 269, 622-26.

BONHOEFFER S. (1998) Models of viral kinetics and drug resistance in HIV-1 infection. *AIDS Patient Care STD* 12, 769-74.

BRITES C, PEDROSO C, NETTO E, HARRINGTON W JR, GALVAO-CASTRO B, COUTO-FERNANDEZ JC, PEDRAL-SAMPAIO D, MORGADO M, TEIXEIRA R, BADARO R. (1998) Co-Infection by HTLV-I/II is Associated With Increased Viral Load in PBMC of HIV-1 Infected Patients in Bahia, Brazil. *Braz J Infect Dis* 2(2):70-77.

BRITES C, A.R., GUSMÃO R, PEDROSO C, NETTO EM, PEDRAL-SAMPAIO D, BADARO R. (2001) Co-infection with HTLV-1 is associated with a shorter survival time for HIV-1-infected patients in Bahia, Brazil. *AIDS* 15, 2053-5.

CAO H, W.B. (2000) Immunopathogenesis of HIV-1 infection. *Clin. in Dermatology* 18, 401-10.

CARMICHAEL A, J.X., SISSONS P, BORYSIEWICZ L. (1993) Quantitative analysis of Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1) - specific cytotoxic T lymphocyte (CTL) response at different stages of HIV-1 infection: differential CTL responses to HIV-1 and Epstein-Barr Virus in late disease. *J. Exp. Med.* 177, 249-56.

CARPENTER CCJ, F.M., HAMMER SM ET AL. (1998) Antiretroviral therapy for HIV infection in 1998. *JAMA* 277, 1962-9.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. (1981) Pneumocystis pneumonia - Los Angeles. In: *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*, Vol. 30. Center for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, p. 250-252.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. (1992) Guidelines for the performance of CD4+ T-cell determinations in persons with human immunodeficiency virus infection. In: *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*, Vol. 41(RR-8). Center for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, p. 1-17.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. (1993) Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. In: *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*, Vol. 41 (RR17). Center for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, p. 1-19.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. (2002) Guidelines for using antiretroviral agents among HIV-infected adults and adolescents. In: *Morbidity and*

Mortality Weekly Report (MMWR), Vol. 51 (RR07). Center for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, p. 1-63.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. (2002a) Guidelines for preventing opportunistic infection among HIV-infected persons. In: Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR), Vol. 51 (RR08). Center for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, p. 1-51.

COHEN O, W.D., FAUCI AS. (1999) The immunopathogenesis of HIV infection. In: PAUL, WE (Ed) Fundamental Immunology. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, p. 1455-1500.

COHEN OJ, F.A. (2001) Pathogenesis and medical aspects of HIV-1 infection. In: HOWLEY, DMKAPM (Ed) Virology, Vol. 2. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, p. 2043-94.

CONDRA JH, S.W., BLAHV OM ET AL. (1995) In vivo emergence of HIV-1 variants resistant to multiple protease inhibitors. Nature 374, 569-71.

DANIEL V, S.C., WEIMER R, ZIMMERMANN R, HUTH-KÜHNE A, OPELZ G. (2001) Association of immune complexes and plasma viral load with CD4+ cell depletion, CD8+ R+ and CD16+ cell counts in HIV+ hemophilia patients. Implications for the immunopathogenesis of HIV-induced CD4+ lymphocyte depletion. Immunol. Letters 76, 69-78.

D'ARMINIO AM, C.A., REZZA G ET AL. (2000) Insights into the reasons for discontinuation of the first highly active antiretroviral therapy (HAART) regimen in a cohort of antiretroviral naive patients. AIDS 14, 499-507.

DIABOUGA S, D.G., SANOU PT, DAHOUROU H, LEDRU E. (1999) Evaluation of quantitative determination of CD4 and CD8 molecules as an alternative to CD4+ and

CD8+ T lymphocyte counts in Africans. *Tropical Medicine and International Health* 4, 79-84.

DOUEK DC, P.L., KOUP RA. (2003) T cell dynamics in HIV-1 infection. *Annu. Rev. Immunol.* 21, 265-304.

DOUGLAS SD, D.S., TUSTIN NB, HOUSER J, MUENZ L, STARR SE, WILSON C. (2001) Natural Killer cell enumeration and function in HIV-infected and high-risk uninfected adolescents. *AIDS Research and Human Retroviruses* 17, 543-52.

ESKILD A, SAMDAL HH, HEGER B. (1996) Co-infection with HIV-1/HTLV-II and the risk of progression to AIDS and death. The Oslo HIV Cohort Study Group. *APMIS* 104(9):666-72.

EZZELL C. (1987) AIDS drug gets green light. *Nature* 329, 751.

FAUCI AS. (1988) The human immunodeficiency virus: infectivity and mechanisms of pathogenesis. *Science* 239, 617-22.

FAUCI AS. (2003) HIV and AIDS: 20 years of science. *Nat. Med.* 9, 839-43.

FLEMING PL. (2004) The epidemiology of HIV and AIDS. In: WORMSER, GP (Ed) *AIDS and Other Manifestations of HIV Infection.*, Vol. 1. Elsevier Academic Press, San Diego, p. 3-29.

FOURNIER AM & SOSENKO JM. (1992) The relationship of total lymphocyte count to CD4 lymphocyte counts in patients infected with Human Immunodeficiency Virus. *Am. J. Med. Sci.* 304, 79-82.

FRANKEL AD, Y.J. (1998) HIV-1: fifteen proteins and an RNA. *Annu. Rev. Biochem.* 67, 1-25.

FREED EO & MARTIN MA. (2001) HIVs and their replication. In: HOWLEY, DMKAPM (Ed) Virology, Vol. 2. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, p. 1971-2040.

FURMAN PA & BARRY DW. (1988) Spectrum of antiviral activity and mechanism of action of zidovudine. *Am. J. Med. Sci.* 85, 176-181.

GALLO RC. (2002) The early years of HIV/AIDS. *Science* 298, 1728-30.

GANDHI RT, W.B. (2002) Immunologic control of HIV-1. *Annu. Rev. Med.* 53, 149-72.

GANGE SJ, L.B., PHAIR J, RIDDLER SA, DETELS R, MARGOLICK JB. (2003) Rapid declines in total lymphocyte count and hemoglobin in HIV infection begin at CD4 lymphocyte counts that justify antiretroviral therapy. *AIDS* 17, 119-31.

GAO F, B.E., ROBERTSON DL, CHEN Y, RODENBURG CM, MICHAEL SF, CUMMINS LB, ARTHUR LO, PEETERS M, SHAW GM, SHARP PM, HAHN BH. (1999) Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes troglodytes*. *Nature* 397, 436-41.

GASCON RL, N.A., ZHANG R, KAHN JO, HECHT FM, HERNDIER BG, MCGRATH MS. (2002) Increased HLA-DR expression on peripheral blood monocytes in subsets of subjects with primary HIV infection is associated with elevated CD4 T cell apoptosis and CD4 T cell depletion. *JAIDS* 30, 146-53.

GEBO KA, G.J., KERULY JC, MOORE RD. (2004) Absolute CD4 vs CD4 percentage for predicting the risk of opportunistic illness in HIV infection. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 36, 1028-33.

GIORDANO TP, W.J., HASAN MQ, WHITE AC, GRAVISS EA. (2003) Do sex and race/ethnicity influence CD4 cell response in patients who achieve virologic suppression during antiretroviral therapy? *Clin. Infect. Dis.* 37, 433-7.

GOFF SP. (2004) Introduction to Retroviruses. In: WORMSER, GP (Ed) AIDS and Other Manifestations of HIV Infection., Vol. 1. Elsevier Academic Press, San Diego, p. 57-93.

GOLDBERG B & STRICKER RB. (1999) Apoptosis and HIV infection: T cells fiddle while the immune system burns. *Immunol. Letters* 70, 5-8.

GOTCH F, G.A., MCMICHAEL A. (1996) Cytotoxic T cells - protection from disease progression - protection from infection. *Immunol. Letters* 51, 125-28.

GOTTLIEB MD, S.R., SCHANKER HM, WEISMAN JD, FAN PT, WOLF RA, SAXON A. (1981) *Pneumocystis carinii* pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men. *New Engl. J. Med* 305, 1425-31.

GRIVEL JC, M.N., MARGOLIS L. (2000) Human immunodeficiency virus type 1 induces apoptosis in CD4+ but not in CD8+ T cells in ex vivo-infected human lymphoid tissue. *J. Virol.* 74, 8077-84.

HAASE AT. (1999) Population Biology of HIV-1 Infection: viral and CD4+ T cell demographics and dynamics in lymphatic tissues. *Annu. Rev. Immunol.* 17, 625-56.

HAMMER SM, S.K., HUGHES MD, GRIMES JM, DEMETER LM, CURRIER JS, ERON JJ JR, FEINBERG JE, BALFOUR HH JR, DEYTON LR, CHODAKEWITZ JA, FISCHL MA. (1997) A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less. AIDS Clinical Trials Group 320 Study Team. *New Engl. J. Med* 337, 725-33.

HIRSCH M, S.R., STASZEWSKI S, MELLORS J, SCERPELLA E, HIRSCHEL B, LANGE J, SQUIRES K, RAWLINS S, MEIBOHM A, LEAVITT R. (1999) A randomized, controlled trial of indinavir, zidovudine, and lamivudine in adults with advanced human immunodeficiency virus type 1 infection and prior antiretroviral therapy. *J. Infect. Dis.* 180, 659-65.

HO DD. (1997) Dynamics of HIV-1 replication in vivo. *J. Clin. Invest.* 99, 2565-67.

HO DD, N.A., PERELSON AS, CHEN W, LEONARD JM, MARKOWITZ M. (1995) Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 373, 123-25.

HOGAN CM, H.S. (2001) Host determinants in HIV infection and disease. Part 1: Cellular and humoral immune responses. *Ann. Inter. Med.* 134, 761-76.

HOOG RS, Y.B., CHAN KJ, WOOD E, CRAIB KJP, O' SHAUGHNESSY MV, MONTANER JSG. (2001) Rates of disease progression by baseline CD4 cell count and viral load after initiating triple-drug therapy. *JAMA* 286, 2568-77.

HUTCHINSON JF. (2001) The biology and evolution of HIV. *Annu. Rev. Anthropol.* 30, 85-108.

INAMI N & GOTCH F. (2002) Prospects for immune reconstitution in HIV-1 infection. *Clin. Exp. Immunol.* 127, 402-11.

JACOBSON MA, L.L., KHAYAM-BASHI H, DEEKS SG, HECTHT FM, KAHN J. (2003) Absolute or total lymphocyte count as a marker for the CD4 T lymphocyte criterion for initiating antiretroviral therapy. *AIDS* 17, 917-19.

JIN X, B.D., TUTTLETON SE ET AL. (1999) Dramatic rise in plasma viremia after CD8+ T cell depletion in simian immunodeficiency virus-infected macaques. *J. Exp. Med.* 189, 991-98.

KAUFMANN GR, Z.J., CUNNINGHAM P, KELLEHER AD, GREY P, SMITH D, CARR A, COOPER DA. (2000) Rapid restoration of CD4 T cell subsets in subjects receiving antiretroviral therapy during primary HIV-1 infection. *Acta Tropica* 14, 2643-51.

KELLY P, Z.I., AMADI B, MUNKANTA M, BANDA J, RODRIGUES L, MABEY D, FELDMAN R, FARTHING MJG. (2002) Morbidity and nutritional impairment in relation to CD4 count in a Zambia population with high prevalence. *Acta Tropica* 83, 151-8.

KIRSCHNER D, W.G., CLOYD M. (2000) Model of HIV-1 disease progression based on virus-induced lymph node homing and homing-induced apoptosis of CD4+ lymphocytes. *JAIDS* 24, 352-62.

KUMARASAMY N, M.A., FLANIGAN TP, HEMALATHA R, MAYER KH, CARPENTER CCJ, THYAGARAJAN SP, SOLOMON S. (2002) Total lymphocyte count (TLC) is a useful tool for the timing of opportunistic infection prophylaxis in India and other resource-constrained countries. *JAIDS* 31, 378-83.

LAURENCE J. (2004) Viral cofactors in the immune pathogenesis and clinical manifestations of HIV infection. In: WORMSER, GP (Ed) *AIDS and Other Manifestations of HIV Infection.*, Vol. 1. Elsevier Academic Press, San Diego, p. 117-29.

LEDERGERBER B, E.M., OPRAVIL M ET AL. (1999) Clinical progression and virological failure on highly active antiretroviral therapy in HIV-1 patients: a prospective cohort study. *Lancet* 353, 863-68.

LEDERGERBER B, E.M., ERARD V ET AL. (1999a) AIDS-related opportunistic illnesses occurring after initiation of potent antiretroviral therapy. *JAMA* 282, 2220-26.

LEE SS & WONG KH. (2003) The use of total lymphocyte count (TLC) as an independent criterion for initiating HAART in resource-poor countries. *Journal of Infection*.

LEPRI AC, P.A., D'ARMINIO AM, CASTELLI F, ANTINORI A, LUCA A, PEZZOTTI P, ALBERICI F, CARGNEL A, GRIMA P, PISCOPO R, PRESTILEO T, SCALISE G,

VIGEVANI M, MORONI M. (2001) When to start highly active antiretroviral therapy in chronically HIV-infected patients:evidence from the ICONA study. *AIDS* 15, 983-90.

LETVIN NL & WALKER BD. (2003) Immunopathogenesis and immunotherapy in AIDS virus infections. *Nat. Med.* 9, 861-66.

LETVIN NL, B.D., MONTEFIORI DC. (2002) Prospects for vaccine protection against HIV-1infection and AIDS. *Annu. Rev. Immunol.* 20, 73-99.

LEVY JA, M.C., BARKER E. (1996) Controlling HIV pathogenesis: the role of noncytotoxic anti-HIV response of CD8+ T cells. *Immunology Today* 17, 217-23.

MALONE JL, S.T., GRAY GC, WAGNER KF, BURGE JR, BURKE DS. (1990) Sources of variability in repeated T-helper lymphocyte counts from HIV-1 type 1-infected patients: total lymphocyte count fluctuations and diurnal cycle are important. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 3, 144-51.

MARTINS JRP, E.A. (2003) Dramatic improvement in survival among adult Brazilian AIDS patients. *AIDS* 17, 1675-82.

MASUR H, M.M., GREENE JB, ONORATO I, STOUWE RA, HOLZMAN RS, WORMSER G, BRETTMAN L, LANGE M, MURRAY HW, CUNNINGHAM-RUNDLES S. (1981) An outbreak of community-acquired *Pneumocystis carinii* pneumonia: initial manifestation of cellular immune dysfunction. *New Engl. J. Med.* 305, 1431-8.

MASUR H, O.F.Y.R.E.A. (1989) CD4 counts as predictors of opportunistic pneumonia in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Ann. Inter. Med.* 111, 223-31.

MC CUTCHAN JA. (1990) Virology, immunology, and clinical course of HIV infection. *J. of Consulting and Clin. Psychology* 58, 5-12.

MCMICHAEL AJ, C.M., APPAY V, HANKE T, OGG G, ROWLAND-JONES S. (2000) The dynamics of cellular immune response to HIV infection: implications for vaccination. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 355, 1007-11.

MELLORS J, M.A., GIORGI J ET AL. (1997) Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann. Inter. Med.* 126, 946-54.

MESSELE T, A.M., FONTANET AL, PETROS B, HAMANN D, KOOT M, ROOS MTL, SCHELLEKENS PTA, MIEDEMA F, RINKE DE WIT TF. (1999) Reduced naive and increased activated CD4 and CD8 cells in healthy adult Ethiopians compared with Dutch counterparts. *Clin. Exp. Immunol.* 115, 443-50.

MILLER V, S.S., SABIN CA ET AL. (1999) CD4 lymphocyte count as a predictor of the duration of highly active antiretroviral therapy-induced suppression of human immunodeficiency virus load. *J. Infect. Dis.* 180, 530-33.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. (2001) A contribuição dos estudos multicêntricos frente a epidemia de HIV/AIDS entre UDIs no Brasil: 10 anos de pesquisa e redução de danos. In. Ministério da Saúde, Brasília.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. (2004) Boletim Epidemiológico DST/AIDS. In. Ministério da Saúde, Brasília.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. (2004a) Recomendações para terapia antiretroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV. In: 2. Ministério da Saúde, Brasília.

MONTAGNIER L. (2002) A history of HIV discovery. *Science* 298, 1727-28.

MUNOZ PJ, D.R.E.A. (1990) The risk of *Pneumocystis carinii* pneumonia among men infected with human immunodeficiency virus type 1. *New Engl. J. Med* 322, 161-5.

NOKTA MA, X.-D.L., NICHOLS J, POU A, ASMUTH D AND POLLARD RB. (2001) Homeostasis of naive and memory T cell subpopulations in peripheral blood and lymphoid tissue in the context of Human Immunodeficiency Virus infection. *The Journal of Infectious Diseases* 183, 1336-42.

O'BRIEN W, H.P., MARTIN D ET AL. (1996) Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4+ lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. *New Engl. J. Med* 334, 426-31.

ONUSIDA/OMS. (2004) Situación de la epidemia de SIDA. In., <http://www.who.int>.

OPUNI M, B.S. (2004) The global impact of HIV and AIDS. In: WORMSER, GP (Ed) *AIDS and Other Manifestations of HIV Infection.*, Vol. 2. Elsevier Academic Press, San Diego, p. 1013-28.

PANTALEO G. (1997) Immunology of HIV infection. *Res. Immunol.* 148, 417-9.

PANTALEO G & FAUCI AS. (1996) Immunopathogenesis of HIV infection. *Annu. Rev. Microbiol.* 50, 825-54.

PASCALE JM, I.M., CONTRERAS P, GOMEZ B, LOZANO L, AUSTIN E, MARTIN MC, GREGORY RL, MCLAUGHLIN GL, AMADOR A. (1997) Immunological markers of disease progression in patients infected with the Human Immunodeficiency Virus. *Clin. and Diagnostic Laboratory Immunol.* 4, 474-77.

POLICY PROJECT, U., UNAIDS, UNICEF. (2004) Coverage of selected services for HIV/AIDS prevention, care and support in low and middle-income countries in 2003. In. <http://www.who.int>

POPE M & HAASE AT. (2003) Transmission, acute HIV-1 infection and the quest for strategies to prevent infection. *Nat. Med.* 9, 847-52.

PRINS M, R.J., BRETTELE RP, AGUARDO IH, BROES B, BOUFASSA F, GOLDBERG DJ, ZANGERLE R, COUTINHO RA, VAN DEN HOEK A. (1999) Do gender differences in CD4 cell counts matter? AIDS 13, 2361-4.

REDDY MM, G.R., GORMAN JM, GRIECO MH, CHESS L, LEDERMANN S. (1991) Human immunodeficiency virus type-1 infection of homosexual men is accompanied by decrease in circulating B cells. J. Acquir. Immune Defic. Syndr. 4, 428-34.

REY MA, S.B., DORMONT D, BARRE-SINOUSI F, MONTAGNIER L, CHERMANN JC. (1984) Characterization of the RNA dependent DNA polymerase of a new human T-lymphotropic retrovirus (lymphadenopathy associated virus). Biochem. Biophys. Res. Comm. 121, 126-33.

RICHMAN DD. (2001) HIV chemotherapy. Nature 410, 995-1001.

ROTHENBERG R, W.M., STONEBURNER R, MILBERG J, PARKER R, TRUMAN B. (1987) Survival with the acquired immunodeficiency syndrome. Experience with 5833 cases in New York City. New Engl. J. Med 317, 1297-1302.

SANKALÉ JL, K.P. (2004) Virologic and biologic features of Human Immunodeficiency Virus Type 2 (HIV-2). In: WORMSER, GP (Ed) AIDS and Other Manifestations of HIV Infection., Vol. 1. Elsevier Academic Press, San Diego, p. 131-45.

SCHECHTER M, Z.R., MACHADO LL, PINTO ME, LIMA LAA, PEREZ MA. (1994) Predicting CD4 counts in HIV-infected brazilian individuals:a model based on the World Health Organization Staging System. JAIDS 7, 163-68.

SCHLUMBERGER JM, W.-T.G., YAO JFF, HARA J. (1994) CD8+ Lymphocyte counts and the risk of death in advanced HIV infection. J. Fam. Pract. 38, 33-8.

SCHMITZ JE, K.M., SANTRA S ET AL. (1999) Control of viremia in simian immunodeficiency virus infection by CD8+ lymphocytes. *Science* 283, 857-60.

SEDAGHAT AR & SILICIANO RF. (2004) Immunodeficiency in HIV-1 infection. In: WORMSER, GP (Ed) *AIDS and Other Manifestations of HIV Infection.*, Vol. 1. Elsevier Academic Press, San Diego, p. 265-83.

SHEARER GM. (1998) HIV-induced immunophogenesis. *Immunity* 9, 587-93.

SPRINZ E & FINKELSZTEJN A. (1999) Principais marcadores laboratorias. In: ARTMED (Ed) *Rotinas em HIV e AIDS.*, São Paulo, p. 40-50.

STASZEWSKI S, M.-R.J., TASHIMA KT, RACHLIS A, SKIEST D, STANFORD J, STRYKER R, JOHNSON P, LABRIOLA DF, FARINA D, MANION DJ, RUIZ NM. (1999) Efavirenz plus zidovudine and lamivudine, efavirenz plus indinavir, and indinavir plus zidovudine and lamivudine in the treatment of HIV-1 infection in adults. Study 006 Team. *New Engl. J. Med* 341, 1865-73.

STEVENSON M. (2003) HIV-1 pathogenesis. *Nat. Med.* 9, 853-60.

TEDLA N, D.J., TRUSKETT P, TAUB D, WAKEFIELD D, LLOYD A. (1999) Phenotypic and functional characterization of lymphocytes derived from normal and HIV-1 infected human lymph nodes. *Clin. Exp. Immunol.* 117, 92-99.

UNAIDS/WHO. (2004) Global Report 2004. In. <http://www.who.int>

VALDISERRI RO, O., MCCRAY E. (2003) Accomplishments in HIV prevention science: implications for stemming the epidemic. *Nat. Med.* 9, 881-86.

VAN DER RYST E, K.M., JOUBERT G, STEYN M, PIETERS H, VAN DER WESTHUIZEN M, VAN STADEN M, VENTER C. (1998) Correlation among total

lymphocyte count, absolute CD4+ count, and CD4+ percentage in a group of HIV-1 infected South African patients. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. and Human Retrovirology* 19, 238-44.

VENAUD S, Y.N., FEHRENTZ JL, GUETTARI N, NISATO D, HIRSCH I, CHERMANN JC. (1992) Inhibition of HIV by an anti-HIV protease synthetic peptide blocks an early step of viral replication. *Res. Virol.* 143, 311-19.

VEUGELERS PJ, K.J., STRATHDEE SA, PAGE-SHAFER KA, SCHECHTER MT, COUNTINHO RA, KEET IPM, GRIENSVEN GJP. (1997) Incidence and prognostic significance of symptomatic primary human immunodeficiency virus type 1 infection in homosexual men. *The Journal of Infectious Diseases* 176, 112-7.

VOLBERDING PA, L.S., GRIMES JM, STEIN DS, ROONEY J, MENG TC, FISCHL MA, COLLIER AC, PHAIR JP, HIRSCH MS, HARDY D, BALFOUR HH, REICHMAN RC. (1995) A comparison of immediate with deferred zidovudine therapy for asymptomatic HIV-infected adults with CD4 cell counts of 500 or more per cubic millimeter. *AIDS Clinical Trials Group. New Engl. J. Med* 333, 401-7.

WEI X, G.S., TAYLOR ME, JOHNSON VA, EMINI EA, DEUTSCH P, LIFSON JD, BONHOEFFER S, NOWAK MA, HAHN BH ET AL. (1995) Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 373, 117-22.

WEIMER R, Z.S., DANIEL V, ZIMMERMANN R, SCHIMP K, OPELZ G. (1998) HIV-induced IL-6/IL-10 dysregulation of CD4 cells is associated with defective B cell help and autoantibody formation against CD4 cells. *Clin. Exp. Immunol.* 111, 20-29.

WELKIN E, D.C.J.A.R. (2002) Viral persistence: HIV's strategies of immune. *Annu. Rev. Med.* 53, 499-518.

WHO. (2003) A joint response to HIV/AIDS. In., <http://www.who.int>

WHO. (2004) Scaling up antiretroviral therapy in resource-limited settings: treatment guidelines for a public health approach. In., <http://www.who.int>

WOROBAY M, S.M., KEELE BF, NDJANGO JBN, JOY JB, LABAMALL BL, DHED BD, RAMBAUT A, SHARP PM, SHAW GM, HAHN BH. (2004) Contaminated polio vaccine theory refuted. *Nature* 428, 820.

ZHANG H, FLYNN C, NELSON KE, CHEN W, KAWALSKI R, VLAHOV D. (1998) HIV/HTLV-II coinfection and CD4+ cell count controlling for plasma HIV viral load in injection drug users in Baltimore. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 18(4):397-8