

**ARTIGO ORIGINAL*****Uso da reação em cadeia da polimerase (PCR) para o diagnóstico neonatal de infecção perinatal pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV)***

Use of polymerase chain reaction for neonatal diagnosis of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) perinatal infection

Marisa M. Mussi-Pinhata¹, Maria Célia C. Ferez¹, Dimas T. Covas², Geraldo Duarte³,
Márcia L. Isaac⁴, Heitor R. C. Marana⁵, Taísa A. Bísaro⁶, Simone Kashima⁷.

Resumo

Com o objetivo de realizar diagnóstico precoce e confiável de infecção perinatal pelo HIV-1 no período neonatal, antes do aparecimento de sinais e sintomas de doença, avaliou-se a utilidade da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) para o HIV-1 em 37 recém-nascidos (idade mediana de 5.5 dias) de mães infectadas. Das trinta crianças acompanhadas (mediana de 25 meses), 9 (30%) eram infectadas segundo critérios clínicos e sorológicos, e 21 (70%) eram não infectadas. Entre os infectados, 5/9 (56%) tiveram teste PCR neonatal (mediana de 5,5 dias) positivo e em 4/9 (44%) o teste foi negativo. Em nenhuma das 21 crianças não infectadas o teste foi positivo. Não se observou associação entre a positividade do teste PCR neonatal e o prognóstico. Apesar de não identificar todos os casos no período neonatal, este teste é útil para o diagnóstico de infecção perinatal e talvez esteja identificando as crianças infectadas pelo HIV-1 durante a gestação.

J. pediatr. (Rio J.). 1994; 70(6):338-343: vírus da imunodeficiência humana, infecção perinatal, recém-nascido, diagnóstico precoce de infecção pelo HIV-1, reação em cadeia da polimerase.

A transmissão perinatal do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) de mães infectadas para os seus filhos é a principal via de infecção para a maioria das crianças. Nem todas as crianças nascidas de mulheres soro-

Abstract

The polymerase chain reaction (PCR) was evaluated for its ability to diagnose perinatal HIV-1 infection before the development of signs or symptoms of the disease in thirty-seven infants (median age of 5.5 days) born to HIV-1 infected women. Of 30 children with complete follow up (median of 25 months), 9 (30%) had serological and clinical features of HIV-1 infection and 21 (70%) were uninfected. Among the infected infants, 5/9 (56%) had positive neonatal PCR tests and 4/9 (44%) had negative PCR tests. None of the 21 uninfected children had positive PCR tests. The prognosis of HIV-1 disease in infected infants with a positive neonatal PCR positive test was similar to that of infected infants with a negative PCR test. In spite of not identifying all the infected infants, the PCR test is a useful tool for early diagnosis of HIV-1 perinatal infection, detecting infected newborns during gestation.

J. pediatr. (Rio J.). 1994; 70(6):338-343: human immunodeficiency virus, perinatal infection, newborn infant, early diagnosis of HIV-1 infection, polymerase chain reaction.

positivas são infectadas. O risco de infecção perinatal situa-se entre 13 a 39%.^{1,2,3}

O início da doença em crianças infectadas é variável, mas, em muitas delas, ocorre nos primeiros dezoito meses de vida e geralmente a morbi-mortalidade é significativa.^{1,4,5}

A realização de diagnóstico precoce e confiável de infecção pelo HIV-1 em lactentes é benéfica, pois, permite intervenção com recursos terapêuticos atualmente disponíveis e que modificam a história natural da doença. Assim é que a vigilância de infecções bacterianas e o seu tratamento precoce, o uso de anti-virais, o uso de preparações de imunoglobulinas por via endovenosa e a profilaxia de infecções oportunistas podem melhorar substancialmente

1. Prof. Assistente Doutor do Departamento de Puericultura e Pediatria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP (FMRP-USP).
2. Diretor da Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto.
3. Prof. Livre-Docente do Depto. de Ginec. e Obstetrícia da FMRP-USP.
4. Pediatra Assistente do Hospital das Clínicas da FMRP e pós-graduanda do Departamento de Puericultura e Pediatria da FMRP-USP.
5. Pós-graduando do Depto. de Ginecologia e Obstetrícia da FMRP-USP.
6. Biologista da Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto.
7. Pós-graduanda do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da FMRP-USP.

Fonte Financiadora: Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto.

a sobrevivência destas crianças.^{5,6} Além destes aspectos, distinguir entre crianças infectadas e não infectadas pelo HIV-1 simplifica o acompanhamento clínico, minimizando eventuais intervenções diagnósticas e terapêuticas em não infectados e, ainda, reduz a ansiedade familiar do desconhecimento do diagnóstico.

Os testes sorológicos que detectam anticorpos IgG anti-HIV-1, usualmente utilizados, não têm valor diagnóstico até dezoito meses de idade, visto que estes anticorpos podem ter sido adquiridos pela via placentária.¹ Apesar de não sofrerem diretamente a interferência de anticorpos passivos, os testes de detecção de anticorpos IgA anti-HIV-1, os de síntese de anticorpos “in vitro” e os de detecção do antígeno “p24” não possuem boa sensibilidade nos primeiros 3 meses de vida.^{7,8} A cultura do HIV-1 “in vitro” é um teste altamente específico, pois permite a identificação viral, mas é de difícil e dispendiosa execução.

Com objetivos de sobrepor estas dificuldades em nosso meio, avaliamos técnica que permite identificar a presença de seqüências nucleotídicas do pró-vírus HIV-1 em células mononucleares quanto à sua validade diagnóstica no período neonatal, antes do aparecimento de sinais e sintomas da infecção.

Casuística e Métodos

Incluíram-se no estudo 37 recém-nascidos cujas mães eram confirmadamente soropositivas para HIV-1 (“Elisa” anti-HIV-1 positivo em duas amostras distintas e “Western-blot” positivo para anticorpos anti-HIV-1) no momento do parto, nascidas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, de 29 de dezembro de 1990 a 06 de outubro de 1992, cujas mães residiam em Ribeirão Preto e concordaram em participar desta investigação. A maioria (89%) das mães era assintomática e não apresentava sinais de infecção pelo HIV-1. Considerando-se as mães e seus parceiros, o uso de drogas endovenosas ilícitas foi o fator de risco para a infecção pelo HIV-1 em 45% dos casos.

Todos os neonatos foram submetidos à avaliação clínica completa no berçário, e uma amostra de 2 ml de sangue venoso foi obtida de veia periférica até os 30 dias de idade para realização do teste de reação de amplificação gênica em cadeia catalisada pela polimerase para HIV-1 (“PCR”). As mães eram aconselhadas sobre as repercussões da sorologia positiva para HIV-1 para ela e seu filho e sobre a importância do acompanhamento ambulatorial da criança, além de receberem apoio de equipe multidisciplinar que incluía médicos, enfermeiras de saúde pública e assistentes sociais.

Avaliações ambulatoriais de rotina foram programadas mensalmente no primeiro semestre e aos 9, 12, 15, 18 e 24 meses de idade. Além destas, consultas eventuais eram realizadas sempre que necessário. Nestas avaliações, registraram-se os dados de desenvolvimento e morbidade. Testes sorológicos para a detecção de anticorpos séricos anti-

HIV-1 (“Elisa”) foram programados para serem realizados ao nascimento, 3, 6, 9, 12, 18 e aos 24 meses de idade. Consideraram-se infectadas as crianças que apresentassem critérios clínicos e sorológicos de infecção pelo HIV-1⁹ e consideraram-se não infectadas as crianças que não apresentassem critérios clínicos de infecção pelo HIV-1, no período de observação, e que revertissem a sua reatividade sorológica de positivo para negativo, com pelo menos 1 teste sorológico negativo.

Procedimentos Laboratoriais

Reação de amplificação gênica em cadeia, catalisada pela polimerase (PCR)

O método descrito originalmente por Kary Mullis foi adaptado segundo as orientações de Ou e colaboradores.¹⁰ Por meio de centrifugação, células sanguíneas foram separadas de 2 a 5 ml de sangue total anticoagulado em EDTA. As hemácias e os leucócitos foram lisados com soluções específicas. O DNA foi extraído com uma solução de fenol-clorofórmio e precipitado com acetato de sódio 3M e etanol absoluto e estocado a -70°C até a análise. Aproximadamente 0,5 mg de DNA foi submetido à reação de amplificação gênica em cadeia, catalisada pela polimerase, com dois pares de “primers”: SK 38/39, específico para a região “gag” (p24) e SK 68/69, específico para a região “env” (gp41) do genoma do vírus HIV-1. A reação de amplificação foi processada em 35 ciclos com o auxílio de um termociclador.

O produto de amplificação foi submetido à eletroforese em gel de agarose a 2%, contendo brometo de etídio 1,5%, a 100 volts por 2 hs, transferido para uma membrana de nylon (“Southern Blotting”) e hibridizado com sondas de oligonucleotídeos marcadas com γ -[³²P]-ATP, específicas para os segmentos amplificados do “gag” (SK19) e “env” (SK 70) virais. A reação foi revelada por autoradiografia após exposição de aproximadamente 18 horas a -70°C.

Todos os técnicos envolvidos com os procedimentos laboratoriais desconheciam o estado clínico ou sorológico das crianças. Todos os experimentos foram realizados em duplicata, em duas diferentes ocasiões. Somente amostras com produtos de reação de PCR positivos na duplicata foram consideradas positivas. Duplicatas discordantes foram retestadas. Amostras discordantes na reatividade quanto às duas regiões “env” e “gag” virais foram retestadas em duplicata. Amostras-controle positivo e negativo foram incluídas em cada experimento. Todo o procedimento foi realizado em 5 dias.

Resultados

As crianças incluídas no estudo possuíam peso de nascimento entre 1410 e 3760g (mediana de 2910g) e idade gestacional de 28 a 38 semanas (mediana de 39 semanas).

Nenhuma criança apresentou sinais ou sintomas de infecção pelo HIV-1 no período neonatal. Todos os recém-nascidos eram soropositivos para HIV-1 no teste imunoenzimático.

Seguimento Clínico, estado de infecção pelo HIV-1 e tipo de aleitamento:

Vinte e nove das 37 crianças incluídas no estudo foram acompanhadas por 10 a 38 meses (mediana de 25 meses) e foram classificadas quanto ao estado de infecção pelo HIV-1 segundo os critérios diagnósticos do "Centers for Disease Control" (CDC) americano⁹. Destas, 8 eram infectadas e 21 eram não infectadas. Uma criança foi a óbito aos 3 meses de idade, devido à insuficiência respiratória causada por pneumonia por *Pneumocystis carinii* e foi considerada infectada. Portanto, das 30 crianças acompanhadas, 9 (30%) eram infectadas e 21 (70%) não eram infectadas pelo HIV-1.

Em sete das 37 crianças não foi possível definir o estado de infecção pelo HIV-1, pois 4 destas crianças perderam o seguimento ambulatorial e não foram localizadas posteriormente, e 3 crianças foram a óbito devido a causas não confirmadamente atribuíveis à infecção pelo HIV-1 (1 óbito neonatal por enterocolite necrosante, 1 óbito aos 2 meses por bronquiolite, 1 óbito aos 3 meses de causa não esclarecida).

Quanto ao tipo de aleitamento, 25 das 30 crianças (83%) com acompanhamento clínico receberam aleitamento artificial exclusivo, 3/30 (10%) receberam aleitamento materno exclusivo por período inferior a 5 dias, e 2/30 (7%) receberam aleitamento materno por 15 a 30 dias de idade. Quatro das cinco crianças amamentadas pela mãe por 2, 2, 4 e 30 dias foram acompanhadas, respectivamente, por 27, 21, 27 e 25 meses. Estas 4 crianças não apresentaram quadro clínico compatível com infecção pelo HIV, e os testes Elisa foram negativos na primeira criança aos 9, 12 e 20 meses; na segunda, aos 9 e 18 meses; na terceira, aos 18 e 27 meses; e na quarta criança, aos 18 e 24 meses (crianças de números 21, 14, 20 e 15 da Tabela 1). Somente 1 das 9 crianças infectadas pelo HIV-1 havia sido amamentada pela mãe durante 16 dias (criança de número 27 da Tabela 1), as demais receberam aleitamento artificial.

Dentre as 21 crianças não infectadas, ocorreram vários episódios agudos de infecções comuns, tais como diarreia aguda infecciosa, virose respiratória, otite média aguda, entre outras, principalmente, no primeiro ano de vida. Entretanto, nenhuma das crianças consideradas não infectadas apresentaram achados clínicos múltiplos, persistentes ou não explicáveis, consistentes com a definição do "CDC" americano de infecção pelo HIV-1.⁹

Os achados clínicos mais freqüentes nas crianças infectadas foram hepatoesplenomegalia persistente e anemia (66%), seguidos por baixo ganho ponderal, linfadenopatia persistente, pneumonia/pneumonite e retardo do desenvolvimento neuro-motor (55%), diarreia recorrente e monilíase oral/cutânea persistentes (44%).

Testes PCR para HIV-1 em crianças infectadas e não

infectadas:

A Tabela 1 apresenta os resultados dos testes de reação em cadeia catalisada pela polimerase para HIV-1 realizados no período neonatal (1-30 dias de idade, mediana de 5,5 dias) e de anticorpos séricos anti-HIV detectados por teste "Elisa" nas diferentes idades durante o acompanhamento clínico nas 30 crianças cujo estado de infecção pelo HIV-1 foi definido. Observa-se que a maioria das crianças não infectadas, que foram testadas aos 3 (11/12) e 6 meses de idade (5/6), apresentavam sorologia positiva, enquanto que, aos 9 meses, somente 2/10 testadas eram soropositivas, e todas as testadas aos 12 meses, 18 ou 24 meses eram soronegativas.

A Tabela 2 sintetiza os resultados dos testes PCR em crianças infectadas e não infectadas. Somente 5 das 9 crianças infectadas puderam ser identificadas no período neonatal por este teste. Em todas as crianças não infectadas (21/21), o teste foi negativo. Em 1 criança não infectada o teste resultou inicialmente positivo para a região do p24 (gag) viral e negativo para o segmento genômico gp41(env) viral. Devido à discordância observada, os testes foram repetidos e resultaram negativos para ambas as regiões virais, tendo esta amostra sido considerada negativa para o HIV-1. Em todos os testes considerados positivos, ambos os segmentos do "env" e "gag" virais foram positivos. Portanto, o teste PCR apresentou 56% de sensibilidade, 100% de especificidade, 100% de valor preditivo positivo e 84% de valor preditivo negativo para o diagnóstico neonatal de infecção perinatal pelo HIV-1 na população estudada.

A Tabela 3 mostra as características clínicas e os respectivos resultados dos testes PCR das 9 crianças infectadas. Todas as crianças iniciaram os sintomas associados à infecção pelo HIV-1 precocemente (1- 6 meses de idade). As manifestações clínicas iniciais mais freqüentes foram esplenomegalia, adenomegalia e monilíase oral persistentes. Em cinco crianças, o teste PCR foi positivo, sendo 3 na primeira semana de vida e 2 aos 30 dias de idade. Nestas crianças, a detecção de seqüências pró-virais ocorreu 1 a 5 meses antes do aparecimento de sintomas. Em duas crianças com teste PCR positivo (crianças 5 e 6), o início da manifestação da doença foi precoce (1 e 2 meses) e o óbito ocorreu até 18 meses de idade. Entretanto, apesar de ter havido manifestações precoces nas 3 outras crianças (1,4 e 9) com teste PCR positivo, não ocorreu rápida evolução da doença. Por outro lado, a criança 7, cujo teste PCR no período neonatal foi negativo, apresentou rápida evolução da doença e óbito aos 10 meses de idade, devido à tuberculose pulmonar e meníngea. As crianças 2,3 e 8, cujos testes foram negativos, apresentaram evolução lenta da doença e comparável à da criança 4, cujo teste PCR neonatal foi positivo.

Discussão

Realizar o diagnóstico de infecção pelo HIV-1 no período neonatal com segurança é difícil por várias razões, principalmente, pela transferência passiva de anticorpos

Tabela 1 - Testes "PCR" para HIV-1 no período neonatal e testes sorológicos (ELISA) realizados em 30 crianças de mães soropositivas. ao nascer e nas idades de 3, 6, 9 e 12 meses (+ 1 mês) e 18 e 24 meses (+ 3meses)

	PCR (idade no teste)	ANTICORPOS ANTI-HIV (ELISA)						
		nasc	3m	6m	9m	12m	18m	24m
N	1	NEG (5 dias)	+			-		-
	2	NEG (28dias)	+		+	-	-	-
	3	NEG (6 dias)	+				-	-
Ã	4	NEG (6 dias)	+				-	-
	5	NEG (6 dias)	+	+				-
O	6	NEG (17dias)	+	+		+	-	-
	7	NEG (4 dias)	+		+		-	-
I	8	NEG (9 dias)	+	+		-		-
	9	NEG (6 dias)	+				-	-
N	10	NEG (1 dia)	+			-	-	
	11	NEG (5 dias)	+	+	+	-	-	
E	12	NEG (3 dias)	+	+				-
	13	NEG (7 dias)	+	-		-	-	-
A	14	NEG (5 dias)	+	+		-	-	
	15	NEG (16 dias)	+	+		+	-	-
A	16	NEG (1 dia)	+		-	-	-	
	17	NEG (3 dias)	+	+	+		-	-
S	18	NEG (13 dias)	+	+		-	-	-
	19	NEG (6 dias)	+	+		-	-	-
	20	NEG (3 dias)	+				-	-
	21	NEG (10 dias)	+	+	+	-	-	-
I	22	POS (30dias)	+	+		+	+	
	23	NEG (1dia)	+	+			+	+
E	24	NEG (8dias)	+	+	+	+		+
	25	POS (1 dia)	+	+	+	+		+
C	26	POS (3dias)	+	+				
	27	POS (30dias)	+	+		+	+	
D	28	NEG (3dias)	+	+		+		
	29	NEG (3 dias)	+		+		+	+
A	30	POS (2 dias)	+		+		+	+

+ Positivo - Negativo

maternos. Entretanto, os benefícios clínicos que resultam da intervenção precoce e a ansiedade dos pais ou responsáveis para conhecer se a criança está ou não infectada fazem com que o diagnóstico precoce e acurado seja muito importante.

Neste estudo, o teste PCR (com amplificação de duas regiões do segmento genômico do HIV-1, "env" (gp41) e "gag"(p24)) foi utilizado em 37 recém-nascidos de mães confirmadamente infectadas, com a finalidade de avaliar a sua utilidade para o diagnóstico neonatal.

Concordando com os resultados obtidos em outros estudos^{11,12,13}, a sensibilidade do teste PCR neonatal não atingiu valores elevados, pois o teste identificou somente 5 das 9 crianças infectadas (56%), resultando em falso-negativo em 4 crianças, que posteriormente desenvolveram síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). A falha da detecção do genoma pró-viral nestas 4 crianças

pode estar relacionada à variação genética viral para as seqüências utilizadas ou, mais provavelmente, ao momento da transmissão materno-fetal do vírus HIV-1.

Existem evidências sugerindo que mães possam transmitir o HIV-1 para os seus filhos pela via transplacentária e pela exposição a sangue e secreções maternas infectadas no momento do parto.^{14,15} Em ambas as situações, as crianças infectadas são assintomáticas. A detecção de seqüências genômicas do HIV-1 em leucócitos obtidos nos primeiros dias após o nascimento sugere que a transmissão tenha ocorrido na vida intra-uterina, enquanto que em crianças em quem não se detecta o pró-vírus no período neonatal e posteriormente desenvolvem a doença, provavelmente, a infecção ocorra no final da gestação, no parto ou no período pós-natal, pela amamentação natural.¹⁶ Apesar do teste PCR ser uma técnica com elevada sensibilidade para detecção de seqüências genômicas do HIV-1

Tabela 2 - Resultados de testes "PCR" para HIV-1 segundo o estado de infecção de 30 crianças de mães soropositivas.

	INFECTADO	NÃO INFECTADO	TOTAL
PCR POSITIVO	5	0	5
PCR NEGATIVO	4	21	25
TOTAL	9	21	30

Sensibilidade = 56%

Especificidade = 100%

V. Preditivo Pos. = 100%

V. Preditivo Neg. = 84%

(10 cópias pró-virais em 1.000.000 células¹⁷), a baixa multiplicação viral e o baixo número de cópias pró-virais nas crianças que se infectaram no parto ou proximamente deste, podem não permitir a sua detecção nos primeiros dias de vida, limitando, em parte, o seu uso no período neonatal.

Por outro lado, o teste PCR no período neonatal, se realizado com controle laboratorial adequado, pode ser uma técnica muito útil e de elevada especificidade para diferenciar crianças já infectadas intra-útero das ainda não infectadas ou infectadas recentemente que poderiam, supostamente, beneficiarem-se de eventuais medidas de intervenção que possam ser disponíveis no futuro, tais como a imunoprofilaxia para o bloqueio da transmissão perinatal.¹⁸

Neste estudo, 3/5 crianças infectadas tiveram o teste PCR neonatal positivo com 1, 2 e 3 dias de idade, o que sugere que mais provavelmente tenham sido infectadas intra-útero. Nas 2 demais crianças infectadas com teste PCR positivo que foram testadas aos 30 dias de idade, inclusive tendo uma destas (criança 6 - Tabela 3) recebido aleitamento materno por 16 dias, deve-se considerar que elas possam ter sido infectadas tanto intra-útero quanto no parto, proximamente deste ou pelo aleitamento materno na criança com aleitamento natural, e ter havido multiplicação viral suficiente para a detecção pelo PCR, apesar de que tem sido observado que quando não se detecta ao nascer a presença de viremia ou de antígenos virais na criança infectada, mais frequentemente, estas tornam-se positivas em torno de 8

Tabela 3 - Teste PCR neonatal, sintomas iniciais associados à infecção pelo HIV-1, idade do diagnóstico de AIDS e evolução clínica de 9 crianças infectadas.

Sintomas iniciais	Idade de início	Idade do Diag. AIDS	Evolução (idade atual)	Idade no Teste	Teste PCR
1 esplenomeg., otite média	4 meses	18 meses	inf. bact. de repetição, hepatoespl. (31 meses)	30 dias	Positivo
2 adenomeg., diarreia aguda	4 meses	18 meses	inf. bact. de repetição, adenomegal (28 meses)	1 dia	Negativo
3 pneumonia, diarreia aguda	3 meses	7 meses	inf. bact. de repetição (27 meses)	8 dias	Negativo
4 monilíase oral, esplenomegal.	4 meses	6 meses	inf. bact. de repetição, adenomegal. hepatoespl. (25 meses)	1 dia	Positivo
5 monilíase oral, diarreia aguda	1 mês	3 meses	Pn Intersticial (óbito 3 m.)	3 dias	Positivo
6 meningite viral	2 meses	9 meses	Pn Intersticial, sepse, hepatoespl. (óbito 18 m.)	30 dias	Positivo
7 adenomegal., monilíase oral.	2 meses	5 meses	Inf. bact. de repetição Pn Intersticial, Tuberc. meníngea (óbito 10 m)	3 dias	Negativo
8 hepatoesplen. adenomegal.	6 meses	8 meses	hepatoespl., adenomegalia, ret. desenv. neuro motor (15 meses)	3 dias	Negativo
9 diarreia prolongada monilíase oral	2 meses	10 meses	ret. desenv. neuro motor, hepatoespl. (14 meses)	2 dias	Positivo

semanas de vida pós-natal.¹⁶

Deve-se ressaltar ser esta uma técnica laboratorial que deve ser realizada por laboratório com instalações adequadas e por pessoal experiente, pois, caso a cautela necessária não seja observada em todos os passos técnicos, poderão ocorrer resultados falso-positivos devido à contaminação das amostras de crianças não infectadas com mínimas quantidades de DNA viral que sejam carregadas por pipetas, estejam nas soluções utilizadas no teste ou mesmo sejam aerosolizadas.¹³ Muito importante também é a utilização de no mínimo duas seqüências nucleotídicas, testadas em duplicata e em duas diferentes ocasiões, pois a avaliação da concordância destes resultados pode permitir a detecção de falso-positivos. Neste estudo, provavelmente, ocorreu contaminação de uma amostra testada para “gag”, entretanto, como a reatividade para “env” era negativa e discordante, a repetição dos testes confirmou o resultado negativo para ambas as regiões.

A detecção de seqüências pró-virais nos primeiros dias de vida e a possibilidade de infecção intra-uterina precoce nestas crianças poderiam, teoricamente, estar relacionadas à manifestação mais precoce da doença e a pior prognóstico, pois a infecção pelo HIV-1 na vida fetal poderia determinar ainda maior interferência na maturação do sistema imunológico e, conseqüentemente, pior desempenho deste na vida pós-natal. Neste estudo não se observou associação entre a positividade do teste PCR nos primeiros dias de vida e o prognóstico. Tanto as crianças com teste PCR positivo nos primeiros dias (crianças 4,5 e 9 - Tabela 3), quanto aquelas com teste PCR negativo (crianças 2,3,7 e 8 - Tabela 3), apresentaram sintomas sugestivos de infecção pelo HIV-1 precocemente (1-6 meses) e diagnóstico de AIDS também em idade precoce (3-18 meses). Observou-se ainda que a manifestação predominante em ambos os grupos foram infecções bacterianas de repetição. Entretanto, deve-se observar que, além do número de crianças infectadas analisadas ser pequeno, possivelmente as condições ambientais, nutricionais, de saneamento e de exposição a agentes patogênicos diversos possam ter favorecido a manifestação precoce da doença, o que tornaria a história natural desta doença diferente da relatada em estudos de países desenvolvidos.¹

Em conclusão, neste estudo, o teste PCR realizado no período neonatal identificou 56% das crianças com infecção perinatal pelo HIV-1. Mostrou que a probabilidade de a criança *não estar infectada*, tendo o teste PCR negativo no período neonatal, foi de 84%, visto que 4 crianças adoeceram, sem terem sido identificadas precocemente. Por outro lado, a chance de a criança com teste PCR neonatal positivo estar infectada e desenvolver AIDS foi de 100%. Logo, este teste mostrou-se muito útil para o diagnóstico precoce da infecção perinatal pelo HIV-1, apesar de não poder identificar todos os casos.

Os resultados obtidos no presente estudo não sugerem que o teste PCR positivo no período neonatal necessite confirmação posterior. Entretanto, apesar da elevada chance de que um único teste PCR neonatal positivo, realizado com rigor técnico, esteja revelando infecção verdadeira, como demonstramos neste trabalho, ele deve ser usado com cautela como confirmação diagnóstica, particularmente se

Referências bibliográficas

1. European Collaborative Study. Children born to women with HIV infection: natural history and risk of transmission. *Lancet* 1991; 337:253 - 60.
2. Gwinn M, Pappaionou M, George JR, et al. Prevalence of HIV infection in childbearing women in the United States: surveillance using newborn blood samples. *JAMA* 1991; 265:1704 - 708.
3. Ryder RW, Nsa W, Hassig S, et al. Perinatal transmission of the human immunodeficiency virus type 1 to infants of seropositive women in Zaire. *N Eng J Med* 1989;320:1637-642.
4. Blanche S, Rouzioux C, Moscato M-L G, et al. A prospective study of infants born to women seropositive for human immunodeficiency virus type 1. *N Eng J Med* 1989; 320:1643 - 648.
5. Tovo PA, De Martino M, Gabiano C et al. Prognostic factors and survival in children with perinatal HIV-1 infection. *Lancet* 1992.339:1249 - 253.
6. Pizzo PA, Wilfert CM. Antiretroviral therapy and medical management of the human immunodeficiency virus-infected child. *Ped Inf Dis J* 1993; 12: 513 - 22.
7. Andiman WA, Silva TJ, Shapiro ED, et al. Predictive value of the human immunodeficiency virus 1 antigen test in children born to infected mothers. *Ped Inf Dis J* 1992, 11:436 - 40.
8. Mussi-Pinhata MM, Hutto C, Geffin R et al. HIV-1 IgA in infants at risk. - *J Cel Bioch*; 1992. suppl 16E:110 - 11.
9. Centers for Disease Control. Classification system for human immunodeficiency virus (HIV) infection in children under 13 years of age. *MMWR* 1987; 15: 225 - 36.
10. Ou CY, Kwok S, Mitchell SW, Mack DH et al. DNA amplification for the direct detection of HIV-1 in DNA of peripheral blood mononuclear cells. *Science* 1988; 239:295-97
11. Borkowsky W, Krasinski K, Pollack H et al. Early diagnosis of human immunodeficiency virus infection in children < 6 months of age: Comparison of polymerase chain reaction, culture, and plasma antigen capture techniques. *J Inf Dis* 1992; 166: 616 - 19.
12. Petru A, Dunphy MG, Azimi P ET AL. Reliability of polymerase chain reaction in the detection of human immunodeficiency virus infection in children. *Ped Inf Dis J* 1992; 11:30-3.
13. Rogers MF, Ou C, Rayfield M et al. Use of polymerase chain reaction for early detection of the proviral sequences of human immunodeficiency virus in infants born to seropositive mothers. *N Engl J Med* 1989, 320:1649 - 654.
14. Pizzo PA, Butler KM. In the vertical transmission of HIV-1, timing may be everything. *N Eng J Med* 1991; 325(9):652-53.
15. Krivine A, Friton H, Cao L. HIV replication during the first weeks of life. *Lancet* 1992; 339:1187- 189.
16. Luzuriaga K; McQuilken P; Alimenti A et al. Early viremia and immune responses in vertical human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Infect Dis* 1993; 167(5):1008-13.
17. Jones DS, Abrams E, Ou CY et al. Lack of detectable human immunodeficiency virus infection in antibody-negative children born to human immunodeficiency virus infected mothers. *Ped Inf Dis J* 1993; 12: 222-27.
18. Borkowsky W; Krasinski K. Perinatal Human Immunodeficiency Virus Infection: Ruminations on Mechanisms of Transmission and Methods of Intervention. *Pediatrics* 1992; 90(1): 133-136.