



ARTIGO ORIGINAL

Avaliação imunológica em 60 crianças com AIDS*Immunological evaluation of 60 children with AIDS*Aroldo P. de Carvalho¹, Edward Tonelli²**Resumo**

Objetivo: As alterações imunológicas que ocorrem na criança infectada pelo HIV constituem importantes provas para o diagnóstico e a resposta terapêutica. Objetivou-se verificar o comprometimento imunológico em 60 crianças com AIDS em Florianópolis, Estado de Santa Catarina.

Métodos: Realizou-se dosagem de imunoglobulinas séricas pela técnica de nefelometria, comparando-se com um padrão normal para crianças brasileiras. A contagem e porcentagem de linfócitos T auxiliares, supressores, e a relação auxiliares/supressores, realizada por meio de citometria de fluxo, foram comparadas com um padrão para crianças não infectadas, geradas por mães portadoras do vírus.

Resultados: A média das dosagens de IgG foi mais elevada nas crianças com AIDS ($p < 0,005$). A média das dosagens de IgM foi mais elevada nas faixas etárias entre 13 e 108 meses ($p < 0,005$). A contagem de linfócitos CD4+ foi inferior ao valor mínimo do intervalo de confiança de 95% dos valores medianos de referência para cada faixa etária em 50 (84,7%) das 59 determinações. Os valores relativos de linfócitos CD4+ foram bem inferiores às porcentagens de referência. A curva das medianas dos valores da relação CD4+/CD8+ para cada faixa etária situou-se abaixo do percentil 5 das medianas dos valores de referência.

Conclusões: A hipergamaglobulinemia e a contagem e porcentagem de linfócitos CD4+ constituem-se em indicadores sensíveis de infecção pelo HIV, observado também na presente casuística. Recomenda-se a avaliação imunológica nas crianças soro-positivas para o HIV, inclusive abaixo de 18 meses de idade.

J. pediatr. (Rio J.). 1999; 75(3):172-180: síndrome da imunodeficiência adquirida, imunoglobulinas, linfócitos T, sub-populações de linfócitos T.

Abstract

Objective: The immunologic defects that occur in children with HIV infection are important tests to both diagnosis and therapeutic response. The objective of this study was to verify the immunologic abnormalities in 60 children with AIDS, in Florianópolis, Santa Catarina State, Brazil.

Methods: Serum immunoglobulin levels were determined by nephelometry and compared to a normal pattern for Brazilian children. The lymphocyte T helper (CD4+) and the lymphocyte T suppressor (CD8+) count and percentage, and the ratio between them, determined by commercial flow cytometry, were compared to a pattern for healthy children of HIV-positive mothers.

Results: The mean serum IgG levels was higher in the children with AIDS ($p < 0.005$). The mean serum IgM levels was higher in the children with AIDS in the age group between 13 and 108 months ($p < 0.005$). The CD4+ lymphocytes count was below the inferior limit of the 95% confidence interval of the median reference values to each group of age in 50 (84.7%) of the 59 determinations. The CD4+ lymphocytes percentage was much lower than the percentages of reference. The graph curve of the medians of the ratio between lymphocytes CD4+ and CD8+ to each group of age was below the fifth percentile of the graph curve of the medians of reference.

Conclusions: The hypergamaglobulinemia and the lymphocyte T CD4+ count and percentage are sensitive indicators of HIV infection, observed in the present study. Immunologic evaluation of the HIV-positive children is recommended, including those younger than 18 months of age.

J. pediatr. (Rio J.). 1999; 75(3): 172-180: acquired immunodeficiency syndrome, serum immunoglobulin levels, T lymphocytes subsets, human immunodeficiency virus infections.

Introdução

As primeiras descrições da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) já mencionavam uma importante alteração no sistema imunológico, particularmente com uma disfunção na imunidade celular, acompanhando quadros de infecções oportunistas como pneumonia por *Pneumocystis carinii*, citomegalovirose e candidíase mucocutânea¹⁻³.

1. Infectologista Pediatra do Hospital Infantil Joana de Gusmão (HIJG) e Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Mestre em Pediatria pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

2. Professor Titular e Livre Docente de Pediatria da UFMG.

Instituição: Hospital Infantil Joana de Gusmão.
Universidade Federal de Santa Catarina.
Universidade Federal de Minas Gerais.

Posteriormente vários relatos enfatizavam que a nova enfermidade determinava uma marcada depleção na população de linfócitos T- auxiliares (T4 positivos) no sangue periférico, aumento relativo de linfócitos supressores (T8 positivos), com uma conseqüente inversão na relação T4+/T8+^{4,5}.

A descrição do primeiro caso de AIDS na criança, em 1982, demonstrava laboratorialmente um aumento nas concentrações séricas de imunoglobulinas da classe G, A e M, além da diminuição do número de linfócitos T com comprometimento da função das células T *in vitro*⁶.

Após a descoberta do agente etiológico por Luc Montagnier em 1983⁷, atualmente denominado de vírus da imunodeficiência humana (HIV), a patogênese da enfermidade foi gradualmente conhecida. O HIV, constituindo-se em um vírus linfotrópico da família do HTLV, infecta preferencialmente os linfócitos T auxiliares, tem efeito citopático sobre várias células humanas e de mamíferos, pode alterar algumas funções do linfócito T e destruir seletivamente essas células^{8,9}.

O estudo da função imunológica na criança infectada pelo HIV constitui uma prova laboratorial indireta importante para o diagnóstico, a avaliação da situação do sistema imune e ainda para uma monitorização da resposta às terapêuticas instituídas. Observam-se várias anormalidades envolvendo componentes da imunidade humoral e celular do sistema imunológico em pacientes com AIDS¹⁰.

A linfopenia representa um importante achado laboratorial especialmente em adultos, não evidenciada, entretanto, com a mesma freqüência em pacientes pediátricos.

Os testes laboratoriais indicativos de alterações da função imunológica associados a testes sorológicos repetidamente positivos para o HIV, de acordo com a classificação do CDC (1987), mesmo em crianças livres de sintomas abaixo de quinze meses de idade, são suficientes para confirmar a infecção pelo vírus. Entre esses testes são incluídos a) dosagem de imunoglobulinas séricas; b) contagem absoluta de linfócitos; c) contagem absoluta de linfócitos T auxiliares e linfócitos T supressores; d) relação linfócitos T auxiliares/linfócitos T supressores; e) resposta dos linfócitos aos mitógenos¹¹.

Observa-se, em pacientes com AIDS e infecção pelo HIV, uma ativação policlonal de linfócitos B, refletindo-se em elevados níveis de imunoglobulinas séricas, em presença de complexos imunes circulantes e em numerosos fenômenos auto-ímmunes. Apesar desses elevados níveis de imunoglobulinas, evidencia-se um defeito nas células B, as quais não respondem adequadamente aos indutores usuais de diferenciação celular. Embora se encontrem secretando grandes quantidades destas proteínas, são incapazes de responder aos estímulos que normalmente desencadeariam os processos de resposta imunológica¹⁰.

A quantificação dos linfócitos T auxiliares e dos linfócitos T supressores e a relação entre essas duas

populações de células representam os principais marcadores laboratoriais do comprometimento imunológico determinado pela infecção pelo HIV^{12,13}.

Esses parâmetros têm sido utilizados como evidências laboratoriais da progressão da enfermidade, critérios para início de terapias anti-retrovirais, avaliação da eficácia dos regimes terapêuticos instituídos e profilaxia para infecção por *P. carinii*, constituindo-se em indicadores confiáveis em adultos portadores de AIDS^{12,14,15}.

Os níveis de CD4 em crianças saudáveis durante os primeiros cinco anos de vida diminuem progressivamente na média de 40 células/mm³ por mês e a porcentagem diminui na média de 0,24% por mês. Já a porcentagem de CD8 aumenta significativamente, mas não de forma tão acentuada quanto a diminuição da porcentagem de CD4. A contagem absoluta de CD8 também diminui com a idade, em torno de 70 células/mm³ por mês¹².

O objetivo do presente estudo foi verificar as alterações imunológicas apresentadas em pacientes pediátricos portadores de AIDS em nosso meio; com a tentativa de valorização dos testes laboratoriais nas dúvidas diagnósticas, especialmente nas crianças abaixo de 18 meses de idade, quando a persistência de anticorpos maternos pode interferir no diagnóstico definitivo da infecção.

Casuística e Métodos

Realizou-se um estudo transeccional em 60 crianças com AIDS atendidas no Hospital Infantil Joana de Gusmão (HIJG), em Florianópolis, Santa Catarina, em colaboração com as Universidades Federais de Minas Gerais e de Santa Catarina, o Laboratório Central do Estado de Santa Catarina e o Laboratório de Pesquisas Clínicas e Bromatológicas Ltda., de Florianópolis.

Entre 177 pacientes atendidos no HIJG, no período de junho de 1994 a junho de 1995, selecionaram-se 60 crianças comprovadamente infectadas pelo HIV, através da realização de testes que pesquisam anticorpos como ensaio imunoenzimático (ELISA), imunofluorescência indireta (IFI), Western-Blot (W-B) e reação em cadeia da polimerase (PCR), e que apresentavam quadro clínico compatível com AIDS, definido pela classificação do CDC de 1987¹¹, revisada em 1994¹⁶. A seleção dos casos seguiu a ordem de atendimento no referido período, com inclusão de todas as crianças que preenchem os critérios estabelecidos, até completar 60. Limitou-se à casuística pela viabilidade dos laboratórios em realizar os testes apenas nesse número.

Previamente à inclusão no estudo, os responsáveis pelo paciente tiveram informações detalhadas sobre a pesquisa, verbal e por escrito, com o consentimento firmado em documento próprio, de acordo com as normas vigentes.

As crianças menores de dois anos de idade tiveram confirmação da infecção pela realização de pelo menos um teste pela técnica de PCR evidenciando detecção de DNA viral e ELISA, IFI ou W-B persistentemente positivos. A técnica de PCR foi realizada utilizando-se o método

laboratorial comercialmente disponível *Amplicor™ HIV-1 Test*, dos Laboratórios *Roche Diagnostic Systems*. Acima dessa faixa etária, a comprovação da infecção foi determinada pela positividade na detecção do DNA pró-viral pelo PCR, ou, pelo menos, por dois testes sorológicos distintos positivos para o HIV.

Analysaram-se as manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes.

A caracterização dos pacientes por idade e sexo foi realizada, agrupando-os em faixas etárias de seis em seis meses até dois anos de idade e, a partir daí, em intervalos de 36 meses

Os pacientes foram divididos também nas faixas etárias assim definidas: quatro a sete meses, oito a 12, 13 a 24, 25 a 36, 37 a 72, 73 a 108 e 109 a 155 meses. Essa divisão teve por objetivo possibilitar a comparação dos níveis de imunoglobulinas séricas com um padrão normal de referência para crianças brasileiras¹⁷.

Dividiram-se ainda as crianças nas seguintes faixas etárias: um a seis meses, sete a 12, 13 a 24, 25 a 36, 37 a 60 e 61 a 155 meses, para tornar possível a comparação dos resultados da contagem absoluta e relativa de linfócitos CD4+, CD8+ e a relação CD4+ e CD8+, com um padrão de referência para crianças saudáveis nascidas de mães soro-positivas para o HIV¹⁵.

Obtiveram-se dados referentes ao mecanismo provável de transmissão do HIV, se perinatal, através de transfusões com sangue contaminado, via utilização de drogas injetáveis, através de abuso sexual, ou desconhecida.

Os pacientes, no momento da inclusão no estudo, foram submetidos aos seguintes exames laboratoriais: dosagem de imunoglobulinas das classes G, M e A; contagem e porcentagem dos linfócitos CD4+ e CD8+; e relação entre os linfócitos CD4+ e os linfócitos CD8+. Esses exames foram realizados pelo Laboratório de Pesquisas Clínicas e Bromatológicas Ltda.

A dosagem de imunoglobulinas séricas foi efetuada pela técnica de nefelometria, utilizando-se o nefelômetro do fabricante *Boehring Diagnostics Incorporation*. As imunoglobulinas contidas no soro humano, através de uma reação imunoquímica, formam imunocomplexos com anticorpos específicos, os quais podem dispersar um raio de luz incidente. A intensidade da luz dispersada é proporcional à concentração da imunoglobulina correspondente, contida na amostra analisada. Compara-se o resultado com um padrão de concentração conhecido. Os resultados são expressos, mais comumente em mg/dl; podendo-se, no entanto, expressá-los em g/l, de acordo com a *International Federation of Clinical Chemistry (IFCC)*. Os valores normais na criança variam de acordo com a faixa etária¹⁸, e utilizaram-se, como referência para os resultados expressos em mg/dl, os níveis encontrados por Nasnitz et al. (1982)¹⁷, para crianças brasileiras normais, nos diferentes períodos etários; e, para os resultados em g/l, a referência da *IFCC*.

A contagem de linfócitos CD4+, CD8+ e a relação CD4/CD8 foram efetuadas pelo mesmo laboratório, através da metodologia de citometria de fluxo, utilizando-se os anticorpos monoclonais (murino líquido da *marca Coulter, tipo cyto-stat / Coulter clone*), marcados com fluoresceína vermelha para os linfócitos CD4+ e verde para os CD8+. Os limites de normalidade na criança foram baseados nos relatos de Denny et al. (1992)¹², Waecker Jr et al. (1993)¹⁵ e CDC (1994)¹⁶.

A análise estatística constou dos testes t de *Student* e t de *Student* modificado por Welch (1947)¹⁹, citado por Berquó et al. (1981)²⁰ e por Snedecor & Cochran (1989)²¹, com o objetivo de utilizá-lo em populações cujos desvios padrão são desconhecidos, porém supostamente desiguais. As dosagens de imunoglobulinas séricas dos pacientes com AIDS puderam ser comparadas com os valores de referência.

A curva da mediana da contagem absoluta e relativa de CD4 e da relação entre CD4 e CD8, obtida das determinações dos pacientes, foi comparada com as curvas de referência obtidas através de dosagens em crianças saudáveis nascidas de mães soro-positivas para o HIV¹⁵.

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Centro de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da UFMG e pelos Comitês de Ética do Hospital das Clínicas da UFMG e do HIJG.

Resultados

A distribuição por faixa etária e sexo pode ser visualizada na Tabela 1. A média de idade foi de 45,48 meses (mínimo de três e máximo de 122 meses, desvio padrão de 29,85).

Tabela 1 - Distribuição por sexo e faixa etária de 60 crianças com AIDS

Faixa etária (meses)	Sexo		Total	
	M	F	N	%
0 - 5	1	0	1	1,6
6 - 11	3	1	4	6,7
12 - 17	2	1	3	5,0
18 - 23	4	8	12	20,0
24 - 59	10	11	21	35,0
60 - 95	7	8	15	25,0
96 - 131	3	1	4	6,7
Total	30	30	60	100,0

O Gráfico 1 demonstra a distribuição dos pacientes segundo o provável mecanismo de aquisição do HIV.

As manifestações linfoproliferativas, incluindo linfadenopatia, pneumonia intersticial linfóide, hepatomegalia, esplenomegalia e aumento de glândulas salivares, foram observadas em todos os 60 pacientes, dos quais 20

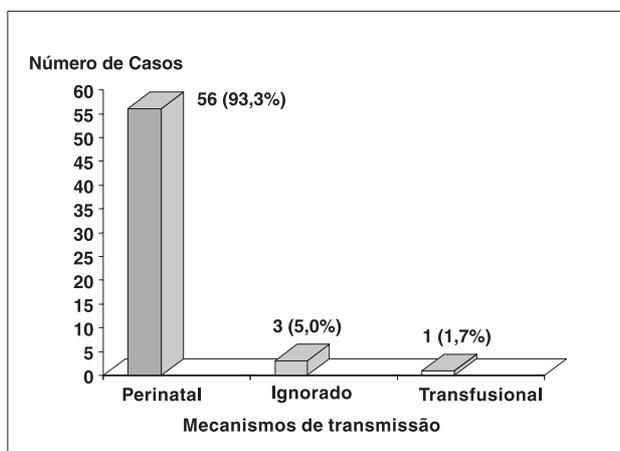


Gráfico 1 - Distribuição dos casos de AIDS conforme o mecanismo de transmissão do HIV

(33,3%) apresentaram três manifestações, 17 (28,3%) quatro, 11 (18,3%) cinco, nove (15,0%) duas e três (5,0%) apenas uma manifestação. As manifestações clínicas mais freqüentes podem ser observadas na Tabela 2.

Os pacientes com AIDS, com exceção de um, foram investigados através de pelo menos duas técnicas laboratoriais para confirmação da infecção pelo HIV. O único caso que foi investigado somente com ELISA era um menino de nove anos de idade que apresentou o teste repetidamente positivo. O Gráfico 2 demonstra os testes diagnósticos efetuados nos pacientes.

As crianças apresentaram na sua totalidade pelo menos dois testes de ELISA positivos para o HIV, a maioria delas (75,0%) com três ou mais testes seriados positivos.

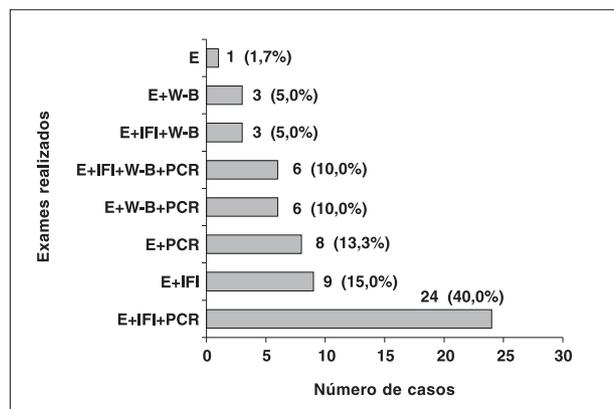
Tabela 2 - Manifestações clínicas mais freqüentemente observadas em 60 crianças com AIDS

Manifestações clínicas	Número de casos	%
Linfadenopatia	59	98,3
Hepatomegalia	51	85,0
Esplenomegalia	46	76,7
Broncopneumonia de repetição	41	68,3
Lesões de pele	39	65,0
Perda de peso	32	53,3
Diarréia crônica ou recorrente	31	51,7
Febre prolongada ou intermitente	30	50,0
Otites crônicas ou de repetição	28	46,7
Retardo no desenvolvimento neuro-psico-motor	28	46,7
Parotidite	27	45,0
Candidíase crônica ou recorrente	26	43,3
Pneumonia intersticial linfóide	21	35,0
Infecções herpéticas	12	20,0
Pneumonia por <i>P. carinii</i>	10	16,7
Diarréia por <i>Cryptosporidium</i>	10	16,7

A IFI, utilizada muitas vezes como teste confirmatório, foi positiva em todos os 41 casos nos quais ela foi realizada.

O teste de *Western-blot* foi positivo nos 18 pacientes em que foi efetuado.

A detecção do DNA viral foi constatada em todas as 44 crianças em que o PCR foi realizado, 73,3% do total de casos, 31 das quais (70,5%) demonstraram detecção em um teste, 12 (27,3%) em dois testes e uma criança (2,3%) em três testes. Entre os 20 pacientes menores de dois anos de idade, 18 (90,0%) realizaram PCR e todos evidenciaram o DNA viral.



Nota: E= ELISA; IFI= imunofluorescência indireta; W-B= *western-blot*; PCR= reação em cadeia da polimerase

Gráfico 2 - Testes laboratoriais realizados nos pacientes com AIDS para diagnóstico da infecção pelo HIV

A dosagem de imunoglobulinas séricas foi realizada em 45 crianças com resultado expresso em mg/dl. A média das dosagens para IgG foi significativamente mais elevada ($p < 0,005$) em comparação com os valores médios normais de referência para crianças brasileiras¹⁷, de acordo com as diversas faixas etárias, com exceção da faixa de oito a 12 meses (Tabela 3). A média das dosagens de IgM não evidenciou diferenças estatisticamente significativas nas faixas etárias de quatro a sete, oito a 12 e 109 a 155 meses (Tabela 4). Já, para a média das determinações de IgA, observaram-se valores significativamente mais elevados apenas nas faixas etárias de quatro a sete e 37 a 72 meses (Tabela 5).

A contagem de linfócitos CD4+ entre os pacientes foi inferior ao valor mínimo do intervalo de confiança de 95% dos valores medianos de referência para cada faixa etária em 50 (84,7%) das 59 determinações. Apenas nos grupos etários de 13 a 24, 25 a 36 e 61 a 155 meses, três crianças (18,7%), quatro (50,0%) e duas (11,1%) respectivamente evidenciaram níveis dentro do intervalo de confiança de 95% da mediana de referência para essas faixas etárias.

Tabela 3 - Níveis de IgG sérica em 60 crianças com AIDS por faixa etária, comparados com um padrão normal para crianças brasileiras*

Idade (meses)	IgG (mg/dl)		Valor de P
	Padrão normal*	Crianças com AIDS	
	N.	média ± DP (máx. - mín.)	
4 a 7	30	685 ± 288 (330 - 1510)	< 0,005 [†]
8 a 12	30	676 ± 220 (282 - 1115)	> 0,100 [‡]
13 a 24	30	891 ± 262 (410 - 1630)	< 0,005 [†]
25 a 36	30	1054 ± 253 (610 - 1610)	< 0,005 [‡]
37 a 72	30	1210 ± 353 (630 - 2000)	< 0,005 [‡]
73 a 108	30	1258 ± 258 (750 - 1780)	< 0,005 [‡]
109 a 155	30	1340 ± 370 (660 - 2120)	< 0,005 [‡]

* Naspitz C.K et al., 1982, p.122

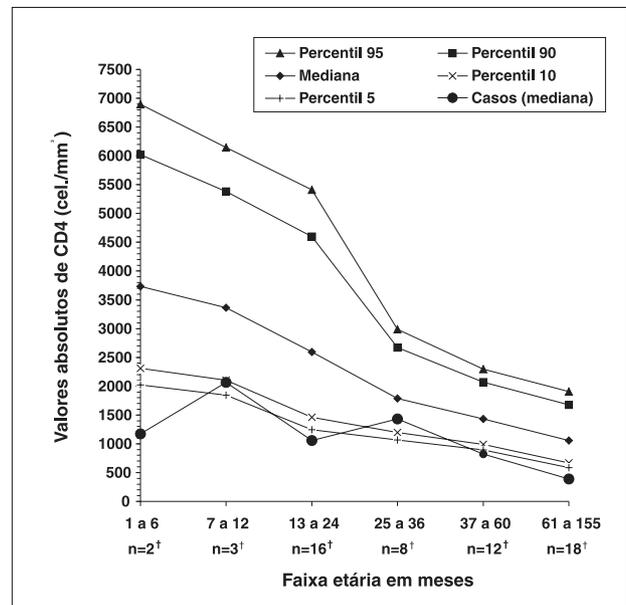
† Obtido pelo teste t de Student

‡ Obtido pelo teste t de Student modificado por Welch, devido variações diferentes

O Gráfico 3 demonstra a curva dos percentis de referência para cada faixa etária, bem como a mediana desses valores e a curva da mediana dos valores observados nos pacientes.

Os valores relativos de linfócitos CD4+ observados para as diferentes faixas etárias no grupo de pacientes com AIDS foram bem inferiores às porcentagens de referência. Todos os pacientes nos grupos etários de um a seis, sete a 12 e 13 a 24 meses demonstraram porcentagens menores do que o limite mínimo do intervalo de confiança de 95% para a mediana de referência nesses grupos etários. Entre as crianças do grupo etário de 25 a 36 meses, em quatro (50,0%) a porcentagem foi dentro do limite do intervalo de confiança de 95% da mediana de referência, enquanto que, dos grupos de 37 a 60 e 61 a 155 meses, um paciente em cada faixa, 8,3% e 5,6% respectivamente, evidenciou porcentagens dentro desse intervalo (Gráfico 4).

A relação entre a contagem de linfócitos CD4+ e CD8+ observada nos pacientes foi, em todas as 59 determinações, inferior ao limite mínimo do intervalo de confiança de 95% da relação mediana de referência para cada faixa etária. A curva das medianas dos valores dessa relação para cada faixa etária, situou-se abaixo do percentil 5 das medianas dos valores de referência, como pode ser visualizado no Gráfico 5.



* Waecker Jr. et al., 1993, p.124

† Número de pacientes em cada faixa etária no presente estudo

Gráfico 3 - Curvas de percentis de contagem de linfócitos CD4+ de referência* por faixa etária e curva da mediana da contagem obtida em 59 crianças com AIDS**Tabela 4** - Níveis de IgM sérica em 60 crianças com AIDS por faixa etária, comparados com um padrão normal para crianças brasileiras*

Idade (meses)	IgM (mg/dl)		Valor de P
	Padrão normal*	Crianças com AIDS	
	N.	média ± DP (máx. - mín.)	
4 a 7	30	62 ± 34 (23 - 146)	> 0,300 [†]
8 a 12	30	74 ± 30 (40 - 156)	> 0,100 [†]
13 a 24	30	90 ± 43 (28 - 173)	< 0,005 [†]
25 a 36	30	105 ± 47 (29 - 195)	@0,005 [†]
37 a 72	30	104 ± 52 (24 - 276)	< 0,005 [‡]
73 a 108	30	105 ± 46 (28 - 212)	< 0,005 [‡]
109 a 155	30	99 ± 46 (30 - 180)	> 0,100 [†]

* Naspitz C.K et al., 1982, p.122

† Obtido pelo teste t de Student modificado por Welch, devido variações diferentes

‡ Obtido pelo teste t de Student

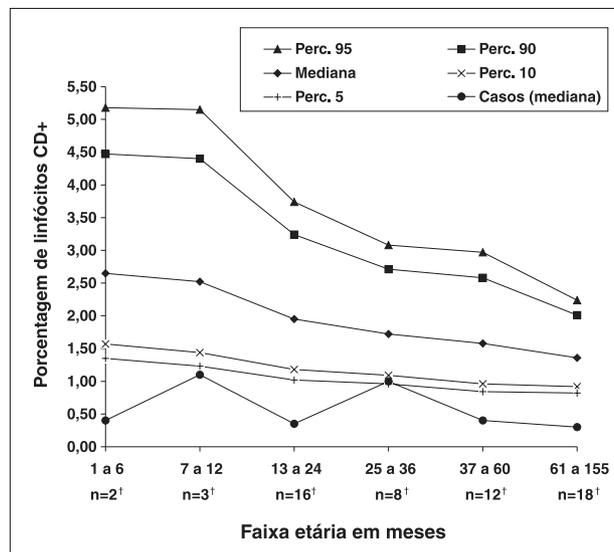
Tabela 5 - Níveis de IgA sérica em 60 crianças com AIDS por faixa etária, comparados com um padrão normal para crianças brasileiras*

Idade (meses)	IgA (mg/dl)		Valor de P
	N. Padrão normal* média ± DP (máx. - min.)	Crianças com AIDS N. média ± DP (máx. - min.)	
4 a 7	30 39 ± 18 (19 - 118)	2 176 ± 13 (163 - 189)	< 0,005†
8 a 12	30 46 ± 28 (12 - 104)	2 184 ± 79 (105 - 263)	> 0,100‡
13 a 24	30 69 ± 45 (24 - 184)	11 110 ± 86,4 (37 - 293)	@ 0,200‡
25 a 36	30 114 ± 65 (40 - 289)	7 131 ± 86,6 (34 - 301)	@ 0,300†
37 a 72	30 133 ± 67 (33 - 308)	13 231 ± 196,7 (51 - 768)	= 0,005‡
73 a 108	30 223 ± 112 (90 - 450)	8 213 ± 101,9 (97 - 453)	@ 0,400†
109 a 155	30 249 ± 119 (68 - 500)	2 1026 ± 724 (302 - 1750)	> 0,200‡

* Naspitz C.K et al., 1982, p.122

† Obtido pelo teste t de Student

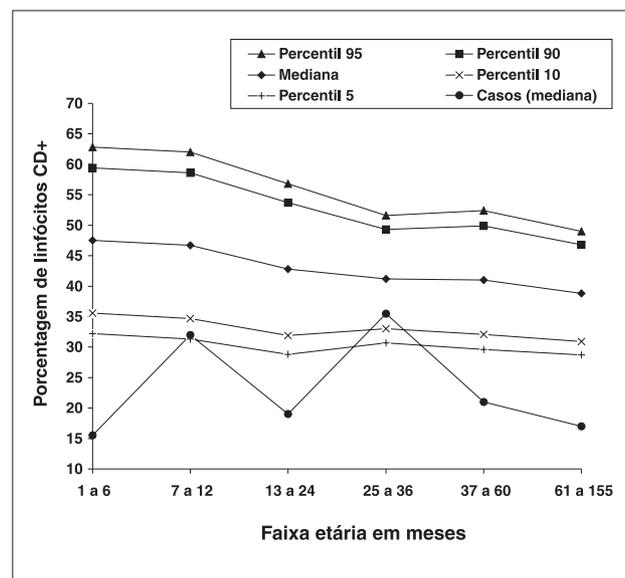
‡ Obtido pelo teste t de Student modificado por Welch, devido varianças diferentes



* Waecker Jr. et al., 1993, p.124

† Número de pacientes em cada faixa etária no presente estudo

Gráfico 5 - Curvas de percentis da relação entre linfócitos CD4+ e CD8+ de referência* por faixa etária e curva da mediana da relação obtida em 59 crianças com AIDS



* Waecker Jr. et al., 1993, p.124

† Número de pacientes em cada faixa etária no presente estudo

Gráfico 4 - Curvas de percentis da porcentagem de linfócitos CD4+ de referência* por faixa etária e curva da mediana da porcentagem obtida em 59 crianças com AIDS

Discussão

As dificuldades no diagnóstico da infecção pelo HIV em crianças nascidas de mães soro-positivas, em decorrência da passagem transplacentária de anticorpos maternos, tornam a comprovação da infecção particularmente difícil nas crianças menores de 18 meses de idade, uma vez que a maioria dos laboratórios não dispõe de técnicas de cultura ou testes que detectam antígenos virais. Os métodos de diagnóstico indireto, como avaliação da função imunológica, poderão auxiliar bastante na elucidação desse diagnóstico.

Grande parte das manifestações da AIDS na infância, em especial nas fases iniciais da enfermidade, são comuns a inúmeras outras entidades nosológicas, principalmente em países em que o baixo nível socioeconômico e cultural associado às precárias condições de saneamento básico são determinantes para que a criança seja acometida constantemente por infecções bacterianas, virais e parasitárias. O estado nutricional deficitário, freqüente nesses países, tem como conseqüência quadros clínicos muitas vezes indistinguíveis da AIDS. Em decorrência desses fatos, cada vez mais surpresas farão parte do dia a dia dos pediatras quando, associado a um quadro clássico de desnutrição protéico-calórica atribuído a uma enormidade de fatores, se depararem com um diagnóstico de infecção pelo HIV²².

A transmissão perinatal representa atualmente o único mecanismo virtual de infecção pelo HIV em lactentes, pelo menos nos países em que existem controles de bancos de sangue²³. Esse fato faz com que cada vez mais se desen-

volvam técnicas de comprovação diagnóstica que não se baseiem apenas na detecção de anticorpos.

Na presente casuística, 93,3% das crianças contraíram o vírus através do contágio perinatal.

A técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) constituiu-se em um procedimento diagnóstico já largamente utilizado para a confirmação da infecção pelo HIV. Inúmeros estudos têm demonstrado sua utilidade especialmente na definição do estado infeccioso em crianças nascidas de mães portadoras do vírus. Esse método consiste na detecção de mínimas quantidades de DNA proviral transcrito pelo RNA do HIV através da enzima *transcriptase reversa*, dentro da célula hospedeira. Como a quantidade desse DNA proviral é muito pequena para ser detectada pelas técnicas habituais de biologia molecular, há necessidade de uma amplificação em cerca de um milhão de vezes ou mais para se aumentar a possibilidade de constatação da presença dessa molécula²⁴.

A sensibilidade e a especificidade desse método laboratorial em crianças maiores e adultos estão acima de 90%²⁵⁻²⁹. Entretanto, Comeau et al. (1993)³⁰ verificaram uma positividade de apenas 52%, quando aplicaram o teste em 67 amostras de sangue obtidas de recém-nascidos comprovadamente infectados pelo HIV.

O PCR foi efetuado em 44 pacientes (73,3%) dos 60 descritos no presente estudo e em 100,0% daqueles menores de 18 meses de idade. Em muitas crianças dessa faixa etária, realizaram-se mais de um teste de PCR, em decorrência das dificuldades na confirmação do diagnóstico nos pacientes dessa idade e do desconhecimento da sensibilidade e especificidade do método disponível (*Amplicor™ HIV-1 Test*) para os sorotipos prevalentes de HIV em nosso meio.

Em pacientes pediátricos a hipergamaglobulinemia constituiu-se em um indicador sensível de infecção pelo HIV mesmo em crianças menores de seis meses de idade, especialmente se está associada a outras alterações da função imunológica³¹⁻³³. Kline et al. (1993)³² observaram que, em crianças abaixo dessa faixa etária, o valor preditivo positivo desse achado laboratorial isolado é pobre, explicando o fato pela possibilidade de aquisição transplacentária de imunoglobulinas maternas. A ocorrência, observada por esses autores, de um grande número de crianças não infectadas pelo HIV com um aumento isolado nas concentrações séricas de IgG poderia ser assim justificada.

Um estudo colaborativo europeu demonstrou que a hipergamaglobulinemia usualmente apareceu como o primeiro achado em crianças comprovadamente infectadas, antes mesmo do aparecimento dos sinais e dos sintomas da enfermidade³¹.

A comparação das dosagens de imunoglobulinas séricas efetuadas nos pacientes da presente série, com os valores de referência para crianças brasileiras, demonstrou claramente um aumento significativo, especialmente nos níveis séricos IgG e IgM. Os níveis de IgA foram

significativamente mais elevados apenas nas faixas etárias de quatro a sete e 37 a 72 meses.

Algumas dificuldades são observadas quando se analisam a contagem de linfócito CD4+, CD8+ e a relação CD4+/CD8+ na população infantil, especialmente em crianças menores de cinco anos de idade. Entre essas dificuldades podem-se citar as seguintes: a) os níveis de CD4 são bem mais elevados em crianças, declinando progressivamente até por volta dos cinco anos de idade quando correspondem aos valores de adultos; b) a padronização de índices para cada faixa etária tem sido difícil de ser estabelecida; c) alguns estudos em crianças evidenciam pouca relação entre baixos níveis de CD4 e progressão da doença; d) o risco para infecções oportunistas também parece não manter a mesma relação com baixos valores de CD4; e) crianças expostas ao HIV intra-útero, mesmo não infectadas, poderiam apresentar diferenças em relação às crianças não expostas^{12-14,34}.

Raszka Jr. et al. (1994)³⁵ demonstraram, em uma série de pacientes na faixa etária pediátrica, que talvez a porcentagem de linfócitos CD4+ possa ter maior valor preditivo nas alterações da população de células T do que a contagem absoluta dessas células.

A mediana das determinações dos valores absolutos e relativos de linfócitos CD4+ e da relação CD4+/CD8+ nos pacientes do presente estudo foi inferior à mediana de referência para todas as faixas etárias, a grande maioria situando-se abaixo do valor mínimo do intervalo de confiança de 95%. Essa observação, que pode ser evidenciada nas curvas dos Gráficos 3, 4 e 5, parece refletir que realmente as crianças com AIDS apresentam depleção nestes valores, apesar do pequeno número de casos em algumas faixas etárias, principalmente de 1 a 6 meses (2 casos) e de 7 a 12 meses (3 casos).

Através das observações constatadas na presente casuística e das referências de literatura, conclui-se que as alterações imunológicas apresentadas pelos pacientes pediátricos portadores de infecção pelo HIV podem se constituir em provas diagnósticas indiretas, especialmente a dosagem dos níveis séricos de imunoglobulinas das classes G e M, a contagem absoluta e relativa de linfócitos CD4+ e a relação CD4/CD8.

As determinações seriadas desses parâmetros, pelo menos em intervalos trimestrais, poderiam auxiliar no diagnóstico da infecção nas crianças nascidas de mães soro-positivas.

Referências bibliográficas

- Centers for Diseases Control and Prevention. *Pneumocystis pneumonia*. MMWR 1981; 30:250-52.
- Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM, Weisman JD, Fan PT, Wolf RA et al. *Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men; evidence of a new acquired cellular immunodeficiency*. N Engl J Med 1981; 305:1425-31.

3. Masur H, Michelis MA, Greene JB, Onorato I, Stouwe RAV, Holzman RS et al. An outbreak of community acquired *Pneumocystis carinii* pneumonia; Initial manifestation of cellular immune dysfunction. *N Engl J Med* 1981; 305:1431-38.
4. Moll B, Emerson EE, Small CB, Friedland GH, Klein RS, Spigland I. Inverted ratio of inducer to suppressor T-lymphocyte subsets in drug abusers with opportunistic infections. *Clin Immuno Immunopathol* 1982; 25:417-23.
5. Centers for Diseases Control and Prevention. *Pneumocystis carinii* pneumonia among persons with hemophilia A. *MMWR* 1982; 31:365-67.
6. Centers for Diseases Control and Prevention. Possible transfusion-associated acquired immune deficiency syndrome (AIDS) - California. *MMWR* 1982; 31:652-54.
7. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983; 220:868-71.
8. Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, Gallo RC. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* 1984; 224:497-500.
9. Schupbach J, Popovic M, Gilden RV, Gonda MA, Sarngadharan MG, Gallo RC. Serological analysis of a subgroup of human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) associated with AIDS. *Science* 1984; 224:503-05.
10. Bowen DL, Lane HC, Fauci AS. Immunopathogenesis of the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Int Med* 1985; 103:704-09.
11. Centers for Diseases Control and Prevention. Classification system for human immunodeficiency virus (HIV) infection in children under 13 years of age. *MMWR* 1987; 36:225-36.
12. Denny T, Yogev R, Gelman R, Skuza C, Oleske J, Chadwick E et al. Lymphocyte subsets in healthy children during the first 5 years of life. *JAMA* 1992; 267:1484-88.
13. McKinney Jr RE, Wilfert CM. Lymphocyte subsets in children younger than 2 years old; normal values in a population at risk for human immunodeficiency virus infection and diagnostic and prognostic application to infected children. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11:639-44.
14. Butler KM, Husson RN, Lewis LL, Mueller BU, Venzon D, Pizzo PA. CD4 status and p24 antigenemia; are they useful predictors of survival in HIV-infected children receiving antiretroviral therapy? *Am J Dis Chil* 1992; 146:932-36.
15. Waecker Jr NJ, Ascher DP, Robb ML, Moriarty R, Krober M, Rickman WJ et al. Age-adjusted CD4 lymphocyte parameters in healthy children at risk for infection with the human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1993; 17:123-25.
16. Centers for Diseases Control and Prevention. Revised classification system for human immunodeficiency virus infection in children less than 13 years of age. *MMWR* 1994; 43:1-10.
17. Nasipitz CK, Sole D, Carneiro-Sampaio M, Gonzalez CH. Níveis séricos de IgG, IgM, IgA em crianças brasileiras normais. *J pediatria (Rio J.)* 1982; 52:121-26.
18. Carneiro-Sampaio MS, Sato MN. Avaliação da resposta humoral. In: Carneiro-Sampaio MS & Grumach AS, ed. *Alergia e imunologia em pediatria*. São Paulo: Sarvier Editora de Livros Médicos Ltda.; 1992. p.209-14.
19. Welch BL. The generalization of "Student problem when several different population variances are involved". *Biometrika* 1947; 34:28-35.
20. Berqui ES, De Souza JMP, Gotlieb SLD. Comparação entre as médias de duas populações. *Bioestatística*. In: Berqui ES, De Souza JMP, Gotlieb SLD, ed. *Bioestatística*. São Paulo: Editora Pedagógica e Universitária; 1981. p.233-46.
21. Snedecor GW & Cochran WG. The comparison of two samples. In: Snedecor GW & Cochran WG, ed. *Statistical methods*. 8ª ed. Ames: Iowa State University Press; 1989. p.83-106.
22. Quinn TC, Ruff A, Halsey N. Pediatric acquired immunodeficiency syndrome; special considerations for developing nations. In: Pizzo PA. & Wilfert CM, ed. *Perspectives on pediatric human immunodeficiency virus infections*. Baltimore: *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11:558-68.
23. Blanche S, Rouzioux C, Moscat M-LG, Veber F, Mayaux M-J, Jacomet C et al. A prospective study of infants born to women seropositive for human immunodeficiency virus type 1. *New Engl J Med* 1989; 320:1643-48.
24. Rogers MF, Schochetman, Hoff R. Advances in diagnosis of HIV infection in infants. In: Pizzo A & Wilfert CM, ed. *Pediatric AIDS; the challenge of HIV infection in infants, children, and adolescents*. 2ª ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1994. p.219-38.
25. Borkowsky W, Krasinski K, Pollack H, Hoover W, Kaul A, Ilmet-Moore T. 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 Infect Dis* 1992; 166:616-19.
26. Brandt CD, Rakusan TA, Sison AV, Josephs SH, Saxena ES, Herzog KD et al. Detection of human immunodeficiency virus type 1 infection in young pediatric patients by using polymerase chain reaction and biotinylated probes. *J Clin Microbiol* 1992; 30:36-40.
27. Petru A, Dunphy MG, Azimi P, Janner D, Gallo D, Hanson C et al. Reliability of polymerase chain reaction in detection of human immunodeficiency virus infection in children. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11: 30-33.
28. Kline MW, Lewis DE, Hollinger FB, Reuben JM, Hanson C, Kozinetz CA et al. A comparative study of human immunodeficiency virus culture, polymerase chain reaction and anti-human immunodeficiency virus immunoglobulin A antibody detection in the diagnosis during early infancy of vertically acquired human immunodeficiency virus infection. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13:90-3.
29. Zazy M, Romano L, Catucci M, Milto A, Almi P, Gonnelli A et al. Low human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) DNA burden as a major cause for failure to detect HIV-1 DNA in clinical specimens by PCR. *J Clin Microbiol* 1995; 33:205-8.
30. Comeau AM, Hsu H-W, Schwerzler M, Mushinsky G, Walter E, Hofman L et al. Identifying human immunodeficiency virus infection at birth; application of polymerase chain reaction to Guthrie cards. *J Pediatr* 1993; 123:252-58.
31. Ades AL, Newell ML, Peckham CS, Giaquinto C, Zaccchello F, De Rossi A et al. Children born to women with HIV-1 infection; natural history and risk to transmission; the European collaborative study. *Lancet* 1991; 337:253-60.

32. Kline MW, Hollinger FB, Rosenblatt HM, Bohannon B, Kozinetz CA, Shearer WT. Sensivity, specificity and predictive value of physical examination, culture and other laboratory studies in the diagnosis during early infancy of vertically acquired human immunodeficiency virus infection. *Pediatr Infect Dis J* 1993; 12:33-6.
33. Husson RN, Comeau AM, Hoff R. Diagnosis of human immunodeficiency virus infecton in infants and children. *Pediatrics* 1990; 86:1-10.
34. Erkeller FM, Deneys V, Yuksel B, Hannet I, Hulstaert F, Hamilton C et al. Age-related changes in human blood lymphocyte subpopulations. *J Pediatr* 1992; 120:216-22.
35. Raska Jr. WV, Meyer GA, Waecker NJ, Ascher DP, Moriarty RA, Fischer GW et al. Variability of serial absolute and percent CD4+ lymphocyte counts in healthy children born to human immunodeficiency virus 1-infected parents. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13:70-2.

Endereço para correspondência:

Dr. Aroldo Prohmann de Carvalho
Rua dos Cações, 96, Jurerê Internacional
Florianópolis - SC - CEP 88054-000
Fone: (048) 282-1690
Fax: (048) 228.1822