

# ANÁLISE DA SEROPREVALÊNCIA DA INFECCÃO PELO HIV<sub>1</sub> E HIV<sub>2</sub> EM MULHERES RESIDENTES NUMA ÁREA DA CIDADE DE LISBOA\*

LOUISE DA CUNHA TELES, DELFIM GUERREIRO, MARIA HELENA LOURENÇO, M.<sup>a</sup> ODETE SANTOS FERREIRA, RUI M.M. VICTORINO

Fundação N.º S.º do Bom Sucesso, Faculdade de Farmácia de Lisboa. Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

## RESUMO

Os autores apresentam os resultados de um estudo de seroprevalência da infecção pelo HIV<sub>1</sub> (Vírus da Imunodeficiência Humana Tipo I) e pelo HIV<sub>2</sub> (tipo II) em mulheres em idade fértil frequentando uma consulta de Planeamento Familiar e uma consulta de Cuidados Pré-Natais que serve uma população urbana de duas freguesias da cidade de Lisboa em que cerca de 7% é de origem Africana. Foi adoptado um protocolo de trabalho com características de estudo anónimo mas em que se previa a possibilidade da colheita de segunda amostra para confirmação de resultados (modelo *non linked*). Foram registados através de inquérito os elementos de ordem social e epidemiológica sendo realizado exame clínico a todas as participantes no estudo (1390). Esta fase foi seguida de colheita de amostras de sangue para estudos seroepidemiológicos relacionados com várias infecções virais incluindo o HIV<sub>1</sub> e o HIV<sub>2</sub>. Foi comparada a população que compareceu (75%) com a que não compareceu à realização de análises verificando-se não haver em geral diferenças significativas entre os dois grupos no que refere a um conjunto de características epidemiológicas, sociais e clínicas. Foram considerados seropositivos para o HIV, os casos com anticorpos anti-HIV detectados por ELISA e confirmados por Western Blot revelando anticorpos contra as três proteínas (env, core e gag) e com resultados igualmente positivos pelos dois métodos em segunda amostra de sangue recolhida subsequentemente. As prevalências de infecção foram quer para o HIV<sub>1</sub> quer para o HIV<sub>2</sub> de 0.29% (total 0.58%) na população estudada, sendo a prevalência de HIV<sub>2</sub> de 1.45% na população de origem Africana. Os seis casos seropositivos detectados incluíam um caso de toxicod dependência, um caso de prostituição, um caso de origem Africana, não havendo nos três restantes factores de risco para além da existência de parceiros sexuais múltiplos em duas mulheres. As características clínicas, epidemiológicas e imunológicas dos casos seropositivos são descritas e discute-se a importância da prevalência encontrada. Finalmente salienta-se a relevância da análise e discussão detalhadas, antes do início de qualquer programa de rastreio da infecção pelo HIV, das vantagens, inconvenientes e limitações dos protocolos a usar no contexto da situação concreta do Centro e Comunidade em questão.

## SUMMARY

**Analysis of the Seroprevalence of HIV<sub>1</sub> and HIV<sub>2</sub> infection in women living in an area of the city of Lisbon**

A seroprevalence study of HIV<sub>1</sub> and HIV<sub>2</sub> infection in women attending a Family Planning and an Antenatal Clinic was done in an area of the city of Lisbon where 7% of the population is of African origin. The protocol of study was of *non linked type* although with the possibility of collecting a second sample of blood for confirmation of results. Epidemiological, social and clinical data were collected from 1390 women and this was followed by the collection of a blood sample for the seroepidemiological study of HIV<sub>1</sub> and HIV<sub>2</sub>. The population that was submitted to blood tests (75%) was compared to the one that missed the test and it was found that no important differences were present between the two. The criteria for HIV<sub>1</sub> or HIV<sub>2</sub> positive results were the presence of a positive ELISA test confirmed by an Western Blot revealing antibodies against the three proteins env, core and gag. For a test to be considered positive results by both methods had to be found in a second sample collected later. The prevalences of infection were of 0.29% for HIV<sub>1</sub> and 0.29% for HIV<sub>2</sub> although the prevalence of HIV<sub>2</sub> in the population of African origin was higher (1.45%). The six seropositive cases detected included a drug addict, one prostitute, one case of African origin and two cases with multiple sexual partners. The clinical, epidemiological and immunological features of the seropositive cases are presented and the prevalence found is discussed in the context of other portuguese data. The importance of discussing in detail the advantages and disadvantages of the different protocols of seroprevalence studies in the context of a given Center and Community before starting the screening programmes is stressed.

## INTRODUÇÃO

A estimativa da extensão da infecção pelo HIV<sub>1</sub> e HIV<sub>2</sub> na população geral é um problema complexo. Este tipo de informação é extremamente importante para avaliar a evolução da epidemia da SIDA e pode ter implicações no planeamento de acções preventivas<sup>1,2</sup>.

\* O trabalho foi subsidiado pela J.N.I.C.T. (Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica) através do projecto 87-444.

Muitos estudos de seroprevalência têm sido dirigidos a *grupos de risco* como toxicod dependentes, homossexuais e hemofílicos, não podendo obviamente estes dados ser extrapolados para a população geral<sup>3,4</sup>.

Os rastreios em dadores de sangue têm sido usados como um dos elementos para estimar a prevalência da infecção na população geral mas a sua aplicabilidade para este objectivo pode ser contestada, pelo facto de ser uma população autoseleccionada<sup>5</sup>.

Os estudos de amostras representativas da população geral apresentam problemas metodológicos difíceis. A opção por

estudos anónimos *com consentimento* tem o problema de uma percentagem maior ou menor das pessoas que constituem a amostra inicialmente definida, não dar o seu consentimento, o que pode implicar uma perda de representatividade dessa mesma amostra. Por outro lado, os estudos anónimos sem consentimento têm sido considerados éticos nas situações em que é colhida uma amostra de sangue com consentimento para determinados fins, sendo utilizado o soro residual para determinação dos anticorpos anti-HIV após *anonimização* desse soro residual. Esta abordagem tem sido realizada no contexto de consultas pré-natais, de planeamento familiar e ainda em recrutas militares<sup>6-8</sup>. A prevalência da infecção pelo HIV em mulheres em idade fértil é habitualmente referida como um dos elementos mais importantes, na definição de seroprevalência na população geral e na avaliação da evolução da epidemia<sup>4,9,10</sup>.

Um dos problemas deste tipo de estudos anónimos utilizando o remanescente do soro de amostras obtidas para outros fins, é o de não ser possível colher segunda amostra para confirmação, em virtude da anonimização dessa primeira amostra. Este problema é particularmente importante em face dos resultados recentes da literatura sugerindo a necessidade de uma segunda amostra para confirmação dos resultados de testes imunoenzimáticos e mesmo de Western Blots realizados na primeira amostra<sup>11</sup>. A relevância destes testes em segunda amostra é especialmente crítica no contexto de populações de baixo risco visto que nestas situações a taxa de falsos positivos é particularmente elevada como é claramente apresentado no recente trabalho de Meyer (1989) sobre estudos de seroprevalência da infecção pelo HIV<sup>12</sup>.

No presente trabalho pretendeu-se analisar a seroprevalência da infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Adquirida (HIV) numa população de mulheres frequentando uma Consulta de Planeamento Familiar e uma Consulta Pré-natal de um Centro de Saúde servindo duas freguesias da Cidade de Lisboa com uma população de cerca de 30 000 habitantes.

Esta população socialmente bem caracterizada e com grande heterogeneidade social tinha a particularidade de incluir uma percentagem de cerca de 10% de pessoas de raça negra naturais dos países de expressão portuguesa em especial Guiné e Cabo Verde o que apresentava algum interesse em relação à importante questão da prevalência da infecção pelo HIV<sub>1</sub> e HIV<sub>2</sub> nessas populações Africanas residentes em Portugal<sup>13</sup>.

O modelo de estudo utilizado foi do tipo *non-linked* de acordo com a nomenclatura de *National Advising Committee on AIDS* do Canadá que define *Unlinked Testing* (para efeitos de investigação) como... *testes em que os resultados não são ligados ou associados à pessoa testada, o que pode ser feito conhecendo ou não a identidade dessa pessoa...*<sup>14</sup>.

A circunstância de o Centro em causa ter programa de rastreio em curso para outras situações em ambas as consultas acima referidas, possibilitou a utilização de um protocolo de colheita de segunda amostra de sangue para confirmação dos resultados da amostra inicial de modo a analisar a problemática dos *falsos positivos* apesar de manter as características dos protocolos *non linked* tal como definidos atrás.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### População Estudada

A população estudada corresponde a mulheres em idade fértil frequentando consultas de planeamento familiar e consultas de cuidados pré-natais de um Centro de Saúde servindo duas freguesias da cidade de Lisboa com uma população de cerca de 30 000 habitantes.

Foram estudadas 1 390 mulheres de acordo com um protocolo que a seguir se descreve. As várias características da

população estudada (idade, classe social segundo a classificação de Graffar, país de origem) serão detalhadas no capítulo **RESULTADOS**.

### Inquéritos e Protocolos de Estudo

Todas as mulheres que frequentavam consultas de planeamento familiar e as de cuidados pré-natais eram submetidas a uma entrevista por uma enfermeira de Saúde Pública preenchendo um questionário extenso incorporando aspectos epidemiológicos e clínicos relevantes em relação à infecção pelo HIV (por exemplo transfusões de sangue, uso endovenoso de drogas, viagens e residências no estrangeiro) sendo ainda submetidas a observação clínica por um médico com o objectivo de registar elementos clínicos que se sabem estar associados à infecção pelo HIV como por exemplo adenopatias, lesões cutâneas, febre persistente, diarreia crónica, emagrecimento, infecções oportunistas conhecidas, doenças sexualmente transmissíveis, outras doenças crónicas existentes.

Os actuais programas neste centro incluem por rotina a colheita de sangue na sequência das consultas acima referidas, implicando portanto uma nova deslocação ao centro. Para execução do actual projecto, o sangue remanescente da amostra colhida para exames de rotina (hemoglobina, ureia, glicemia, títulos de anticorpos anti-vírus da rubéola, anticorpos anti-toxoplasma no programa pré-natal e hemoglobina, triglicéridos e colesterol no planeamento familiar) era utilizado para a realização dos testes deste projecto nomeadamente o leucograma, os anticorpos anti-HIV<sub>1</sub> e anti-HIV<sub>2</sub>, anti-vírus citomegalovírus (CMV), anti-vírus Epstein Barr (VEB), anti-vírus da Hepatite B (VHB), anti-vírus Herpes Simples I e II (VHS) e anti-chlamydia trachomatis.

A Figura 1 representa o modelo do protocolo de estudo utilizado sendo a zona cinzenta correspondente aos procedimentos e resultados sujeitos a anonimato. É de destacar que os resultados do questionário eram sujeitos a codificação e processamento informático para subsequente anonimização na fase de ligação destes dados com os resultados dos testes laboratoriais do projecto (área cinzenta — estudo *non-linked* para efeitos de investigação). Deste modo as consultas referidas nunca recebem resultados laboratoriais do projecto mas apenas os resultados dos testes das rotinas já existentes no Centro antes do início deste projecto, como se pode ver na representação gráfica do modelo. É importante salientar que as consultas do centro têm a possibilidade de independentemente deste protocolo pedir a realização de testes para anticorpos anti-HIV<sub>1</sub> ou HIV<sub>2</sub> em utentes que o solicitem (testes confidenciais voluntários).

O facto de as utentes seguidas nestas consultas serem observadas regularmente e fazerem análises periódicas possibilita a realização de testes de confirmação e estudos imunológicos no sangue residual das segundas amostras de rotina recolhidas.

### Análises Laboratoriais

#### I — Anticorpos anti-HIV<sub>1</sub> e HIV<sub>2</sub>

As amostras de sangue eram colhidas no centro e enviadas para um laboratório de análises clínicas onde o soro era separado em dois lotes para possibilitar envio para laboratórios diferentes de modo a analisar eventuais variações entre laboratórios.

Os soros eram testados por um método ELISA (ELAVIA 1, ELAVIA 2, Diagnostics Pasteur).

Os casos positivos ou duvidosos eram sujeitos a novo teste ELISA que no caso de mostrarem o mesmo resultado eram



Fig. 1 — Protocolo de Investigação.

sujeitos a estudo pelo método de Western Blot (New Lav Blot 1, New Lav Blot 2, Diagnostics Pasteur e Du Pont HTLV-III Western Blot IgG)<sup>15</sup>. A nomenclatura adoptada para os resultados do Western Blot foi a da OMS tal como se mostra no Quadro 1. Os soros, apresentando dupla reactividade ao HIV<sub>1</sub> e HIV<sub>2</sub>, foram posteriormente testados para confirmação por reactividade sobre um péptido correspondente ao epitopo dominante da proteína transmembranária do HIV<sub>1</sub> (gp 41-péptido 1 ou péptido 39) e do HIV<sub>2</sub> (gp 36-péptido 2 ou péptido 41.2.1) (Pepti-Lav, Diagnostics Pasteur). Estes dois péptidos fixados separadamente numa membrana, permitem num único teste, através de uma reacção imunoenzimática, obter uma resposta específica para cada uma das estirpes HIV.

Como atrás se referiu as utentes continuam a realizar testes laboratoriais de rotina no decurso da sua vigilância o que possibilita a confirmação dentro do protocolo *non linked* (Figura 1), dos resultados dos testes anteriores particularmente nos casos positivos ou indeterminados no Western Blot.

Os métodos relativos aos anticorpos anti-VHB, anti-CMV, anti-VEB e anti-Chlamydia não são aqui descritos por os resultados desta parte do protocolo de estudo serem objecto de um outro artigo.

## II — Estudos Imunológicos

Nos casos recebidos pelo projecto sobre forma codificada em que se detectava seropositividade para HIV<sub>1</sub> ou HIV<sub>2</sub> eram realizados em amostras anonimizadas estudos imunológicos incluindo quantificação de linfócitos T totais (CD3+), linfócitos T *Helper* (CD4+), linfócitos T supressores (CD8+). Resumidamente foram isoladas células mononucleares do sangue periférico (CMSP) a partir de amostras de sangue heparinizado por Gradiente de Ficoll Hipaque e determinadas as percentagens das populações linfocitárias nestas células por citometria de fluxo (Coulter-Epics — Laboratório de Medicina da F.M.L. — H.S.M.) utilizando anticorpos monoclonais com fluoresceína ou ficoeritrina (Dako) para os vários marcadores de superfície atrás referidos. As CMSP foram ainda utilizadas para estudo das respostas linfocitárias proliferativas a mitógenos (PHA-fitohemaglutinina e PWM-Pokeweed mitogen) através do método da análise da incorporação da Timidina tri-

tiada tal como descrito previamente<sup>17</sup>. Os resultados expressos em contagens por minuto (cpm) foram comparados com controlos saudáveis estudados no mesmo dia.

## RESULTADOS

### Caracterização da População Estudada

Entre Janeiro de 1987 e 31 de Julho de 1989 foram estudadas 1390 mulheres, as quais foram submetidas a uma observação clínica e responderam ao inquérito, tendo comparecido posteriormente para efectuar o conjunto de análises laboratoriais 1044 mulheres (75%), conforme rotina atrás descrita. Das 1044 mulheres em idade fértil que efectuaram o conjunto de análises, 787 frequentavam a consulta de Planeamento Familiar e 257 a de Saúde da Maternidade (Figura 2).

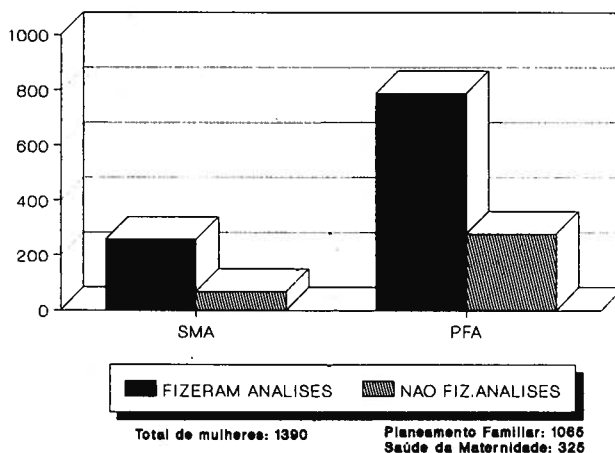


Fig. 2 — Distribuição das mulheres que fizeram e não fizeram análises nas consultas de Planeamento Familiar (PFA) e nas consultas de Saúde da Maternidade (SMA).

### QUADRO 1 — Critérios de seropositividade no Western Blot utilizados para classificação dos casos de presente estudo

Positivo — Soros contendo anticorpos que reconhecem pelo menos uma proteína dos seguintes genes:  
ENV + GAG + POL

Indeterminado — Soros com anticorpos que reconhecem apenas proteínas de um ou dois dos genes:  
ENV, GAG e POL

Negativo — Ausência de anticorpos dirigidos contra as três classes de proteínas referentes aos três genes:  
ENV — GAG — POL

(Referência 16)

O tempo que mediou entre a realização do inquérito e a comparação no Centro para a colheita da amostra de sangue foi em 95% das mulheres inferior a 3 meses tendo 75% ocorrido nas primeiras 3 semanas.

Apresenta-se de seguida a análise comparativa de várias variáveis estudadas nas utentes que compareceram à realização das análises para o estudo (1044 - 75%) versus as utentes que não compareceram (346 - 25%).

A Figura 3 mostra que a distribuição de classes sociais é semelhante no grupo de mulheres que realizou análises quando comparada com o grupo que não realizou, enquanto que no Quadro 2 se pode observar que a distribuição das idades é também semelhante, bem como a nacionalidade das mulheres (Quadro 3).

QUADRO 2 — Característica da população estudada: Idade

Idades	Análises	Fez análises		Não fez análises		Total	
		N	%	N	%	N	%
<20 anos		61	5.8	18	5.2	79	5.7
20 a 29 anos		482	56.2	174	50.3	656	47.2
30 a 39 anos		341	32.7	126	36.4	467	33.6
40 a 49 anos		142	13.6	27	7.8	169	12.2
50 ou mais		18	1.7	1	0.3	19	1.3
<b>Total</b>		<b>1044</b>	<b>100.0</b>	<b>346</b>	<b>100.0</b>	<b>1390</b>	<b>100.0</b>

O teste  $\chi^2$  revelou que há diferenças significativas globais ( $\chi^2$  significante  $p=0.174$ ) embora os residuais de Freeman-Turkey só mostrem significância para o grupo de idade 40-49 anos.

QUADRO 3 — Característica da população estudada: Nacionalidade

Nacional.	Análises	Fez Análises		Não fez análises		Total	
		N	%	N	%	N	%
Portuguesa		929	89.0	304	87.9	1233	88.7
Ex. Colónias		69	6.6	28	8.1	97	7.0
Outros Países		12	1.1	5	1.4	17	1.2
Desconhecida		34	3.3	9	2.6	43	3.1
<b>Total</b>		<b>1044</b>	<b>100.0</b>	<b>346</b>	<b>100.0</b>	<b>1390</b>	<b>100.0</b>

O teste  $\chi^2$  não revelou diferenças significativas globais para as várias nacionalidades ( $p=0.5924$ ) nos dois grupos.

Finalmente com base nos inquéritos, através dos quais se colheu informação epidemiológica e clínica relevante em relação à problemática do HIV, foi possível verificar a ausência de diferenças entre as duas populações (com e sem realização de análises) com exceção das pessoas com história de *diarreia prolongada e perda de peso* que parecem ter uma representação superior no grupo que realizou análises (Figura 4). Este aspecto poder-se-á explicar pelo facto de a presença desses sintomas favorecer naturalmente a comparação para investigações adicionais. De qualquer modo pode afirmar-se, com base nas comparações efectuadas, que das diversas variáveis analisadas (Figuras 3 e 4 e Quadros 2 e 3), a população que não realizou análises não difere significativamente da população estudada, representando esta os 75% das mulheres que frequentaram estas duas consultas.

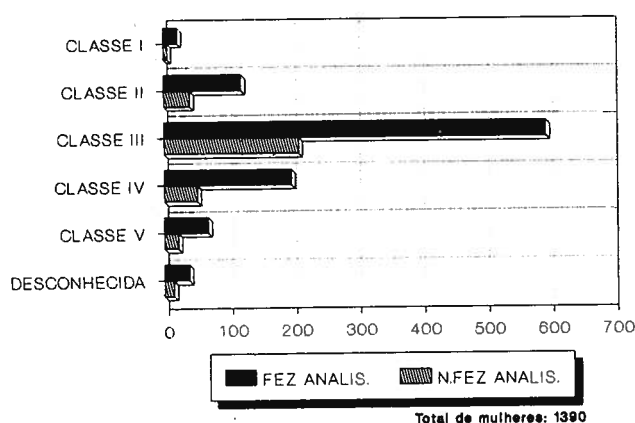


Fig. 3 — Distribuição das classes sociais segundo a classificação de Graffar nas mulheres que fizeram e não fizeram análises. O teste de  $\chi^2$  não revelou a existência de diferenças significativas globais para as classes sociais ( $p=0.6506$ ) nos dois grupos.

#### Resultados da Pesquisa de Anticorpos ANTI-HIV<sub>1</sub> e ANTI-HIV<sub>2</sub>

O Quadro 4 mostra os números e percentagens de casos positivos em ELISA e Western Blot realizados pelo menos

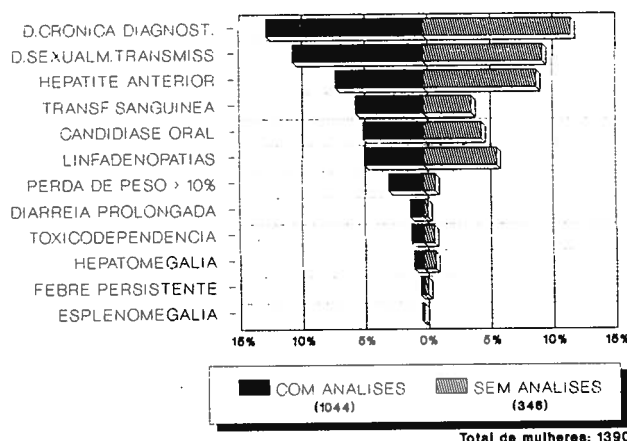


Fig. 4 — Características Epidemiológicas e Clínicas apuradas nos inquéritos realizados às mulheres que realizaram e não realizaram análise. O teste de  $\chi^2$  não revelou a existência de diferenças significativas globais ( $p=0.5254$ ) para as várias variáveis analisadas nos dois grupos.

em duas amostras colhidas em alturas diferentes, na população de 1044 mulheres estudadas comparando-se ainda as populações de origem Portuguesa com as de origem Africana. Apesar de a maioria dos casos positivos em mulheres portuguesas corresponderem a infecções pelo HIV<sub>1</sub> (3 de 5), é de salientar a existência de dois casos de infecção pelo HIV<sub>2</sub> neste grupo. No grupo de origem Africana registou-se apenas um caso de seropositividade sendo este para o HIV<sub>2</sub>. A origem das 69 utentes Africanas estudadas distribui-se do seguinte modo: Cabo Verde 49, Angola 15, Guiné 3, Moçambique 1 e S. Tomé 1.

#### Características dos Casos Seropositivos

O Quadro 5 mostra as características clínicas, epidemiológicas e laboratoriais dos 6 casos seropositivos identificados. É de destacar que os factores de risco detectados foram num caso a *toxicodpendência de cocaína e heroína* (HIV<sub>1</sub>), num

QUADRO 4— Seroprevalência\* da infecção pelo HIV<sub>1</sub> e HIV<sub>2</sub>

População	Número	HIV <sub>1</sub> <sup>+</sup>		HIV <sub>2</sub> <sup>+</sup>		Total	
		N	%	N	%	N	%
População Total	1044	3	0.29%	3	0.29%	6	0.58%
População de origem Portuguesa e de outros países não Africanos**	975	3	0.30%	2	0.20%	5	0.50
População origem Africana	69	0	0.0%	1	1.45%	1	1.45%

\* Critérios de seropositividade: vide Material e Métodos.

\*\* Este grupo inclui 12 mulheres estrangeiras de países não Africanos.

QUADRO 5— Características clínicas virológicas e imunológicas dos casos seropositivos detectados\*

Caso	Idade	Sexo	Nacionalidade	Elsa Pasteur	Western Blot	Situação clínica	Subpopulações Linfocitárias % e n. <sup>o</sup> /mm <sup>3</sup>	Respostas Linfocitar. a Mitogénios (PHA e PWM)
1	26	Portuguesa	Positivo HIV <sub>1</sub>	HIV <sub>1</sub> gp 160, gp 110, p 68 p 55, gp 41, p 34, p 25, p 18.	HIV <sub>1</sub> gp 160, gp 110, p 68 gp 41 t, p 25, p 18.	Portadora assintomática 1 ano mais tarde diagnóstico de tuberculose (presuntivo 1987). Boa resposta à terapêutica — Actualmente bem	Linf. T Totais = +70 (1469) CD 4+ = 45% (931) CD 8+ = 38% (787)	PHA = 2 106 cpm (10% do contr.) PWM = 11 664 cpm (16% do contr.)
			Negativo HIV <sub>2</sub>	HIV <sub>2</sub> Neg.				
2	37	Africana	Positivo HIV <sub>2</sub>	HIV <sub>2</sub> gp 105, p 68 p 56, gp 36 p 26, p 16	HIV <sub>2</sub> gp 105, p 68 gp 36, p 26, p 16	Diarreia crónica intermitente — cerca de 1 ano mais tarde — identificada Isospora Belli. Linfadenopatia persistente generalizada	Linf. T Totais = 71 (1301) CD 4+ = 49% (818) CD 8+ = 31% (548)	PHA = 42 480 cpm (85% do contr.) PWM = 96 915 cpm (90% do contr.)
			Positivo HIV <sub>1</sub>	HIV <sub>1</sub> gp 160, p 68, p 55, p 40, p 34, p 25, p 18	HIV <sub>1</sub> gp 160 t, gp 110 t, gp 41 t, p 25, p 18			
3	41	Portuguesa	Positivo HIV <sub>1</sub>	HIV <sub>1</sub> gp 160 t, gp 110 t, gp 41 t, p 25, p 18	HIV <sub>1</sub> gp 160 t, gp 110 t, gp 41 t, p 25, p 18	Portadora assintomática	Linf. T Totais = 79% (1393) CD 4+ = 59% (1040) CD 8+ = 42% (741)	PHA = 112 256 cpm (100% do contr.) PWM = 144 167 cpm (100% do contr.)
			Negativo HIV <sub>2</sub>	HIV <sub>2</sub> Neg.				
4	25	Portuguesa	Positivo HIV <sub>1</sub>	HIV <sub>1</sub> gp 160, p 68 p 55, p 18	HIV <sub>1</sub> gp 160, p 68 p 55, p 18	Linfadenopatia persistente generalizada	Linf. T Totais = 85% (1503) CD 4+ = 44% (778) CD 8+ = 42% (743)	N.R.
			Negativo HIV <sub>2</sub>	HIV <sub>2</sub> Neg.				
5	29	Portuguesa	Positivo HIV <sub>2</sub>	HIV <sub>2</sub> gp 140, gp 105 p 68, p 56 gp 36, p 26	HIV <sub>2</sub> gp 140, gp 105 p 68, p 56 gp 36, p 26	Linfadenopatia persistente generalizada	Linf. T Totais = 70% (1901) CD 4+ = 43% (1146) CD 8+ = 23% (628)	PHA = 23 888 cpm (80% do contr.) PWM = 104 633 cpm (95% do contr.)
			Positivo HIV <sub>1</sub>	HIV <sub>1</sub> gp 110 t, gp 41 t, p 34 t, p 55 t, p 25	HIV <sub>1</sub> gp 110 t, gp 41 t, p 34 t, p 55 t, p 25			
6	45	Portuguesa	Positivo HIV <sub>2</sub>	HIV <sub>2</sub> gp 105, p 68 t gp 36, p 26	HIV <sub>2</sub> gp 105, p 68 t gp 36, p 26	Portadora assintomática	—	N.R.
			Positivo HIV <sub>1</sub>	HIV <sub>1</sub> p 55, p 25, p 18	HIV <sub>1</sub> p 55, p 25, p 18			

\* Aspectos epidemiológicos e factores de risco (vide texto).

caso de origem Africana em zona de alta prevalência, noutro caso a prostituição (HIV<sub>2</sub>) e nos restantes (2 casos de HIV<sub>1</sub> e um caso de HIV<sub>2</sub>) apenas se podia admitir a existência de parceiros sexuais múltiplos em dois casos. Uma doente apresentava diarreia crónica e linfadenopatia persistente generalizada, enquanto que das cinco restantes duas apresentavam linfadenopatia persistente generalizada e três eram portado-

ras assintomáticas. É de salientar o facto de os estudos imunológicos não terem revelado depleção de linfócitos Helper (CD4+) em nenhuma das doentes, variando as percentagens de linfócitos CD4+ entre 45% e 59% e os números absolutos entre 778/mm<sup>3</sup> e 1 040/mm<sup>3</sup>. Nos estudos funcionais apenas um doente apresentava redução franca das respostas aos mitogénios PHA e PWM (caso 1 - HIV<sub>1</sub>).

## Avaliação dos Resultados dos Testes Serológicos para o HIV<sub>1</sub> e HIV<sub>2</sub>

Tal como referido na secção de MATERIAIS E MÉTODOS, os casos positivos pelo ELISA realizado na primeira amostra foram confirmados por Western Blot realizados na mesma amostra sendo colhida subsequentemente nova amostra para confirmação. Para além dos 6 casos com critérios de positividade para HIV<sub>1</sub> ou HIV<sub>2</sub> atrás descritos, verificaram-se vários casos com resultados positivos ou equívocos no ELISA e com Western Blot indeterminado (apenas anticorpos contra uma ou duas proteínas) na mesma amostra e em amostras subsequentes. O estudo detalhado destes casos será apresentado noutra trabalho.

## DISCUSSÃO

Este estudo foi programado em 1986 e tinha como objectivo principal definir a seroprevalência da infecção pelo HIV<sub>1</sub> e HIV<sub>2</sub> numa população de mulheres em idade fértil numa determinada área da cidade de Lisboa utilizando para o efeito a população que frequenta as consultas de Planeamento Familiar e Pré-natal de um Centro de Saúde.

O estudo da seroprevalência de HIV em populações supostamente de baixo risco desta infecção, particularmente à data do início deste programa (1987), exigiu atenção especial em relação aos problemas de reacções negativas ou desajustadas que poderia gerar quer em utentes quer nos profissionais de saúde. Após longo período de reflexão pelos elementos do grupo de trabalho, optou-se pelo modelo de investigação de seroprevalência atrás descrito que se aproxima do que mais recentemente tem sido designado de sistema *non linked*<sup>14</sup> com larga aceitação do ponto de vista ético<sup>18</sup> e com a vantagem de não introduzir distorções por selecção da amostra como acontece nos estudos voluntários<sup>6,7</sup>. De qualquer modo no presente estudo, uma vez que as análises não eram realizadas no dia da primeira visita, tornou-se necessário analisar se as utentes que não compareceram às análises, diferiam das restantes que as realizaram, no que respeita a diversas variáveis epidemiológicas, sociais e clínicas.

No total das mulheres estudadas a seroprevalência de anticorpos anti-HIV<sub>1</sub> foi de 0.29% e a de anti-HIV<sub>2</sub> foi de 0.29%. Quando se estudaram as prevalências na população Africana verificou-se uma ausência de casos de seropositividade HIV<sub>1</sub> e uma prevalência de 1.45% para o HIV<sub>2</sub> enquanto que a população não Africana teve prevalência de 0.30% para o HIV<sub>1</sub> e de 0.20% para o HIV<sub>2</sub>. Apesar de a amostra se poder considerar pequena para estudos deste tipo, pensamos que se trata de prevalências elevadas se considerarmos tratar-se da população geral ocorrendo ao Centro de Saúde. Naturalmente que estas prevalências não podem ser directamente comparadas com as encontradas em dados de sangue voluntários mas impressiona o facto de serem francamente superiores às prevalências descritas nesses grupos e superiores ainda às que em princípio seriam de esperar nesta população de mulheres num País com um número de casos de SIDA notificados de cerca de 500 até Outubro de 1990 dos quais cerca de 12% são mulheres<sup>19</sup>. Neste aspecto será interessante comparar estes resultados correspondentes a uma amostra de duas freguesias de Lisboa com cerca de 30 000 habitantes, com estudos futuros noutras áreas. A possibilidade de haver uma maior representação de grupos com comportamento de risco nesta população, em comparação com a de outras áreas, merece consideração.

Os 6 casos seropositivos detectados incluem um caso de toxicodependência, uma prostituta (HIV<sub>1</sub>), uma mulher de

origem Africana (HIV<sub>2</sub>), duas mulheres com parceiros sexuais múltiplos e um caso sem factores de risco conhecidos. Em termos clínicos, à data do estudo, nenhuma doente apresentava critérios para diagnóstico de SIDA. Tratava-se de portadoras assintomáticas e de casos de linfadenopatia persistente generalizada, à excepção de uma doente que tinha queixas de diarreia crónica. As investigações iniciais da causa da diarreia crónica revelaram *Schistosomiasis rectal* sendo todas as investigações realizadas, incluindo biópsia jejunal, negativas para outros agentes patogénicos. Cerca de um ano mais tarde esta doente viria a desenvolver novamente diarreia, sendo nessa altura detectada infecção por *Isospora belli* que teve uma boa resposta à terapêutica com Cotrimoxazole. O mesmo se passou com uma segunda doente que desenvolveu mais tarde síndrome febril indeterminado com diagnóstico presuntivo de tuberculose, passando a ser acompanhada no Hospital.

Um aspecto que nos parece importante destacar é o da existência de casos de infecção pelo HIV<sub>2</sub> em mulheres portuguesas sem residência prévia em África. Em dois casos trata-se de mulheres com parceiros sexuais múltiplos incluindo entre estes, segundo os dados disponíveis, pessoas oriundas de países com elevada prevalência de infecção pelo HIV<sub>2</sub>. Esta possibilidade de penetração da infecção pelo HIV<sub>2</sub> na população não Africana em Portugal é uma situação que continuará a merecer a nossa atenção e é particularmente importante por se tratar de um estudo não dirigido a grupos de risco mas antes a todas as mulheres frequentando o Centro. De qualquer modo dados portugueses recentemente publicados no contexto de estudo de grupos com comportamentos de risco (prostitutas, grávidas de risco, etc.) indicam também a presença de casos HIV<sub>2</sub> na população portuguesa<sup>20</sup>.

Neste trabalho não analisamos em pormenor um aspecto de considerável importância que é o da ocorrência de testes positivos ou duvidosos por ELISA, em que os Western Blots revelam padrões indeterminados (anticorpos contra apenas algumas proteínas). No presente estudo encontrou-se uma percentagem destes casos superior à da literatura internacional, particularmente no que se refere a outros países Europeus e América do Norte<sup>12,21</sup>. Estes aspectos serão analisados noutra trabalho em preparação e ganham especial relevância no momento em que evidencia recente sugere a existência de prevalências elevadas de *Western Blots* indeterminados em soros de doentes residentes em certos países Africanos<sup>22</sup>.

Tendo sido encontrada neste estudo uma prevalência superior à esperada, deve naturalmente discutir-se o problema de resultados falsos positivos, aspecto frequentemente debatido em especial no contexto de populações de baixo risco<sup>12</sup>. No presente estudo foi possível realizar estudos em segunda amostra em todos os casos inicialmente positivos em ELISA e Western Blot, tal como se refere o protocolo atrás descrito. Deste modo os resultados considerados como positivos para os anticorpos anti-HIV<sub>1</sub> e HIV<sub>2</sub> constituem resultados confirmados por Western Blot em pelo menos duas amostras colhidas em tempos diferentes, o que confere uma considerável segurança ao resultado final. Este tipo de resultados contrasta com os de outros estudos *non linked* onde o protocolo não previa a colheita repetida de amostras de sangue aos utentes participantes nos programas.

Como se refere nas recomendações da OMS, qualquer programa de screening para o HIV deve ser precedido de uma definição de critérios e objectivos<sup>8</sup>. A consideração dos problemas sociais, legais e éticos são parte essencial dessa definição prévia. No presente estudo o objectivo principal consistia em contribuir para a obtenção de dados sobre a prevalência de anticorpos anti-HIV nesta população. Ao contrário de outros estudos não se pretendia, identificar doentes assintomáticos para intervenção terapêutica precoce

nem tão pouco identificar pessoas infectadas na tentativa de reduzir riscos de transmissão, apesar de os recentes avanços terapêuticos poderem tornar estes objectivos tendencialmente mais justificáveis do que no passado<sup>23,24</sup>. Neste sentido tem sido defendida a importância da realização de testes de seroprevalência anónimos em amostras de sangue colhidas para exames de rotina existentes, no sentido de definir a importância do problema da infecção pelo HIV numa determinada comunidade. O tipo de situação encontrada poderá ou não levar a recomendações de implementação do programa de rastreio voluntário — com consentimento após informação<sup>18</sup>. De qualquer modo, é fundamental reconhecer e discutir detalhadamente antes do início de qualquer programa, as vantagens, inconvenientes e limitações quer dos protocolos anónimos quer dos protocolos voluntários com consentimento esclarecido, no contexto da situação concreta do Centro e comunidade em questão<sup>18,25,27</sup>.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos em primeiro lugar à Prof.<sup>a</sup> Maria de Sousa não só por ter proporcionado o contacto entre os grupos envolvidos neste projecto interdisciplinar mas especialmente pelo estímulo, reflexão e espírito crítico que nos trouxe nas difíceis fases iniciais deste projecto. À Enfermeira Malhado Gigante e à Enfermeira Fátima Évora todo o apoio e, competência e profissionalismo posto na realização dos inquéritos e nas colheitas das amostras de sangue. À Dr.<sup>a</sup> Teresa Paramés pelas facilidades dadas e apoio na organização da rotina laboratorial. Ao Sr. Fernando Cardoso pelo excelente apoio na apresentação gráfica dos dados.

#### BIBLIOGRAFIA

- Editorial. Anonymous HIV Testing. *Lancet* 1990; 335: 575-576.
- JOHNSON M.A., GRIFFITHS P.: Screening for HIV. *Brit J Hospit Med* 1989; 41: 119.
- FRANCIS D.P., CHIN J.: The prevention of acquired immunodeficiency syndrome in the United States: an objective strategy for medicine, public health, business, and the community. *JAMA* 1987; 257: 1357-66.
- HOFF R., BERARDI V.P., WEIBLEN B.J., MAHONEY-TROUT L., MITCHELL M.L., GRADY G.F.: Seroprevalence of human immunodeficiency virus among childbearing women. Estimation by testing samples of blood from newborns. *N Engl J of Med* 1988; 318: 528-30.
- BURKE D.S., BRUNDAGE J.F., HERBOLD J.R., et al.: Human immunodeficiency virus infections among civilian applicants for United States military service, October 1985 to March 1986. *N Engl J Med* 1987; 317: 131-6.
- HULL C.F., BETTINGER C.J., CALLAHER M.M., KELLER N.M., WILSON J., MERTZ C.J.: Comparison of HIV-antibody prevalence in patients consenting and declining HIV-antibody testing in an STD clinic. *JAMA* 1988; 260: 935-938.
- KRASINSKI K., BORKOWSKY W., BEBENROTH D., MOORE T.: Failure of voluntary testing for human immunodeficiency virus to identify infected parturient women in a high-risk population. *N Engl J Med* 1988; 318: 185.
- OMS—Report of the meeting on criteria for HIV screening programmes. Geneva 20-21 May 1987: OMS—Special Programme on AIDS.
- Editorial HIV infection: Obstetric and perinatal issues. *Lancet* 1988: 806-7.
- HOWARD L.C., HAWKINS D.A., MARWOOD R., SHANSON D.C., GAZZARD B.G.: Transmission of human immunodeficiency virus by heterosexual contact with reference to antenatal screening. *Brit J Obst Gynaecol* 1989; 96: 135-139.
- WILBER JUDITH C.: Laboratory Tests for HIV Infection. In *AIDS Clinical Review* in Ed. P. Volderding and M.A. Jacobson 1989: 53-66.
- BURKE D.S., BRUNDAGE J.F., REDFIELD R.R., et al.: Measurement of the false positive rate in a screening program for human immunodeficiency virus infections. *N Engl J Med* 1988; 319: 961-64.
- VICTORINO R.M.M., MARIA V.A.: Ausência de evidência de exposição ao vírus HTLV-III/LAV em indivíduos saudáveis ex-residentes em Angola e Moçambique. *O Médico* 1986; 37; 114: 201-205.
- Le SIDA. L'état de la question au pays. Rapport de synthèse et recommandations. Société royale du Canada 1988: 15.
- SANTOS FERREIRA M.O., COHEN T., LOURENÇO M.H., MATOS ALMEIDA M.J., CHAMARET S., MONTAGNIER LUC: A study of seroprevalence of HIV<sub>1</sub> and HIV<sub>2</sub> in six provinces of People's Republic of Angola: Clues to the spread of HIV infection. *J AIDS* 1990; 3: 780-786.
- SANDLER S.G., DODD R.Y., FANG C.T.: Diagnostic tests for HIV infection: Serology In: DeVita V.T., Hellman S., Rosenberg S.A., eds. *AIDS: Etiology, Treatment, and Prevention*, Second Edition. Philadelphia: J.B. Lippincott 1988: 121-6.
- VICTORINO R.M.M., HODGSON H.J.F.: Relationship between T cell subpopulations and the mitogen responsiveness and suppressor cell function of peripheral blood mononuclear cells in normal individuals. *Clin Exp Immunol* 1980; 42: 571-578.
- BAYER R., LUMEY L.H., WAN L.: Editorial review. The American, British and Dutch responses to unlinked anonymous HIV seroprevalence studies: an international comparison. *AIDS* 1990; 4: 283-290.
- AYRES L., COSTA J.B., CHAMPALIMAUD J. et al.: doc. 46 Síndrome da Imunodeficiência Adquirida—Situação em Portugal em 30 de Setembro de 1990. Centro de Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmissíveis. Instituto Nacional de Saúde. Lisboa 1990.
- ANTUNES M., AVILLEZ M.F., FURTADO C., PEREIRA L.M., AYRES L.: Prevalência de anticorpos anti-HIV<sub>1</sub> e anti-HIV<sub>2</sub> em mulheres atendidas na Maternidade de Magalhães Coutinho. Experiência de uma ano. *J Médico* 1989; 120: 533-534.
- SCHWARTZ SANFORD J., DANS PETER E., KINOSIAN BRUCE P.: Human immunodeficiency virus test evaluation, performance and use. Proposals to make good tests better. *JAMA* 1988; 259: 2574-2579.
- CHRISTIANSEN C.B., WANTZIN P., SHAO J.F. et al.: High prevalence of indeterminate Western Blot tests for antibodies to HIV<sub>1</sub> in Tanzania. *AIDS* 1990; 4: 1040.
- VOLBERDING PAUL A. et al.: Zidovudine in asymptomatic human immunodeficiency virus infection. A controlled Trial in persons with fewer than 500 CD4-positive cells
- FRIEDLAND G.H.: Early treatment for HIV: The time has come. *N Engl J Med* 1990; 322: 1000-1.
- JOHNSON MARGARET A., WEBSTER ALISON: Human immunodeficiency virus infection in women. *Brit J Obst Gynaecol* 1989; 96: 129-134.
- STEVENS A., VICTOR C., SHERR L., BEARD R.: HIV testing in antenatal clinics: the impact on women. *AIDS Care* 1989; 1,2: 165-171.
- SARTORIUS N., BAILEY P., CARRASCO I., et al.; Rechercher le VIH ou pas? Forum mondial de la Santé 1989; 10: 463-469.

Pedido de Separatas:  
Louise da Cunha Teles  
Fundação N.º S.º do Bom Sucesso  
Av. Dr. Mário Moutinho (ao Restelo)  
1400 Lisboa