

Um caso de SIDA seronegativo

A clinical case of seronegative AIDS

Ana Rita Cardoso*, Cristina Gonçalves**, Dulce Pascoalinho**, Carla Gil*, António Fernandes Ferreira***, Inês Bártoło^f, Nuno Ta-veira^{ff}

Resumo

Os A.A. descrevem o caso de uma jovem que se apresenta com um quadro clínico de SIDA e com testes serológicos para o VIH repetidamente negativos. O diagnóstico da infecção pelo VIH-1 foi feito por determinação do Ag p24 e da carga viral por reacção de polimerização enzimática em cadeia (PCR). O parceiro sexual da doente era seropositivo para o VIH-1 e ambos estavam infectados pelo mesmo vírus, um recombinante entre os subtipos A e D. As disparidades encontradas entre este casal sugerem a existência de um defeito imunológico específico que impossibilita o desenvolvimento de anticorpos.

Palavras chave: SIDA, HIV, seronegativo, recombinante

Abstract

The A.A. describe the case of a young female patient presenting with the clinical features of AIDS and persistently negative HIV serology. p24 antigen testing and detection of viral RNA by PCR (polymerize chain reaction) confirmed the diagnosis of infection with HIV-1. Her partner was seropositive for HIV-1 infection, both being infected with the same virus, a recombi-

nant between subtypes A and D. The disparity between the couple's test results suggests the presence of an immunological deficiency that prevents the formation of antibodies.

Key Words: AIDS, HIV, seronegative, recombinant

Introdução

Os métodos actualmente usados para diagnóstico da infecção pelo VIH baseiam-se em testes serológicos para detecção de anticorpos e antígenos nas amostras de sangue. Uma das grandes limitações dos testes de 3ª. geração, usados em muitos hospitais, tem sido a incapacidade de detecção da infecção durante a sua fase inicial, até que se desenvolvam anticorpos detectáveis, o chamado período janela. Aparte esta situação, o teste imunoenzimático (EIA) inicial e o Western blot confirmatório têm sido considerados suficientemente sensíveis e específicos para o diagnóstico da infecção, inclusive no rastreio de dadores de sangue.

Apresenta-se aqui o caso de uma jovem com um quadro clínico de SIDA e infectada pelo VIH-1, com resultados de vários testes serológicos negativos, cujo diagnóstico da infecção só foi possível por detecção do Ag p24 e detecção do genoma viral por PCR.

Caso clínico

A.B. é uma doente do sexo feminino, de 29 anos de idade, de naturalidade brasileira, residente em Portugal desde Julho de 2001, que recorreu ao Serviço de Urgência (S.U.) do Hospital de Nossa Senhora da Graça HNSG (Tomar) no início de Setembro de 2001, por vômitos alimentares e febre (temperatura axilar: 37,5 – 38,5°C). Analiticamente, apresentava anemia normocítica e normocrómica (Hg: 11,3 g/dl) e leucopenia (2.700/μl). Este quadro foi sucessivamente interpretado como síndrome gripal, faringite e febre tifóide (Reacção de Widal: H – 1/640; O – 1/160). Foi medicada com trimetoprim-sulfametoxazol, com resolução dos sintomas. Voltou ao S.U. no final do mesmo mês, por persistência da febre e astenia, anorexia e candidíase oral, tendo sido medicada com nistatina. Por não haver melhoria do quadro, voltou a ser observada e foi internada no Serviço de Medicina deste Hospital em Outubro de 2001.

No que diz respeito aos antecedentes familiares e pessoais, os pais e a irmã de A.B. eram pessoas saudáveis. A doente tinha antecedentes de sinusite e faringite crónicas e enxaqueca desde a infância, tinha sido submetida a amigdalectomia, aos 5 anos, por amigdalites de repetição, e pesava habitualmente 40-42 kg. Negava hábitos tabágicos, consumo alcoólico imoderado, consumo de drogas ou história de transfusões. Teve três parceiros sexuais, aparentemente saudáveis. Realizou testes de rastreio para o VIH há quatro e dois anos, que foram negativos.

*Médica do Internato Complementar de Medicina Interna – Hospital Nossa Senhora da Graça, Tomar

**Assistente Hospitalar de Medicina Interna – Hospital Nossa Senhora da Graça, Tomar

***Chefe de Serviço de Medicina Interna. Director do Serviço de Medicina Interna – Hospital Nossa Senhora da Graça, Tomar

^fLicenciada em Biologia. Assistente estagiária no Instituto Superior de Ciências da Saúde do Sul. Investigadora no Centro de Patologia Molecular da Faculdade de Farmácia de Lisboa

^{ff}Doutor em Farmácia, especialidade em Microbiologia. Professor Associado do Instituto Superior de Ciências da Saúde do Sul. Investigador no Centro de Patologia Molecular da Faculdade de Farmácia de Lisboa

Recebido para publicação a 14/02/2003

Durante o internamento registou-se um quadro de febre (temperatura axilare: 36,5 – 39°C), astenia, adinamia, anorexia com perda de peso (aproximadamente 5 kg até Dezembro de 2001; peso actual: 36 kg), candidíase orofaríngea e vulvovaginal, com fraca resposta à terapêutica anti-fúngica local, e um episódio de sinusite aguda que se resolveu com antibioticoterapia (amoxicilina e ácido clavulânico).

Dos exames laboratoriais realizados, destaca-se a existência de anemia normocítica e normocrômica e leucopenia progressivas e elevação da velocidade de hemo-sedimentação (35 – 50 mm/1^a. hora). Foram realizados vários exames complementares, para esclarecimento desta situação, entre os quais testes de ELISA de 3^a. geração para o VIH (Abbott AxSYM HIV 1/2 gO) a 24/10/2001, a 15/11/2001 e a 18/12/2001, cujos resultados foram negativos. Das restantes serologias virais, verificaram-se resultados positivos para CMV (IgG), Epstein-Barr (EBNA e VCA IgG), Herpes simplex (IgG) – técnica de imunofluorescência, Gull®, Rubéola (IgG) – método ELFA (enzyme linked immunofluorescent assay) – VIDAS, BioMérieux®, e redução progressiva dos títulos da reacção de Widal. O medulograma realizado apresentava aspiração fácil de medula rica em fragmentos de celularidade normal, eritropoiese activa, mielopoiese activa com escassos mielócitos gigantes, megacariopoiese de morfologia normal e hemossiderina presente no sistema retículo-endotelial e reduzida no eritron – resultados compatíveis com “anemia das doenças crónicas”, sugerindo infecção viral crónica. A imuno-electroforese das proteínas séricas revelou IgG, IgM, IgA e cadeias leves k e l dentro dos parâmetros normais. O estudo das populações linfocitárias por citometria de fluxo, realizado a 14/11/2001, revelou uma contagem de linfócitos T CD4+ : 102 células/µl com uma relação CD4/CD8= 0.68. Dada a persistência do quadro clínico compatível com a existência de imunodeficiência, e seguindo a hipótese diagnóstica mais sugerida pela clínica, foram pedidos a determinação do Ag p24 e a da carga viral do VIH. Os resultados destes exames, realizados a 04/12/2001, foram: Ag p24 no soro (método ELFA – VIDAS HIV p24 II, BioMérieux®) – 150,4 pg/ml; quantificação do RNA do VIH 1 (método bDNA – Versant HIV-1 RNA 3.0, Bayer®): > 500,000 cópias/µl.; Western blot (Genelabs Diagnostics®) a 27/12/2001: VIH-1 – Indeterminado (p24); VIH-2 Negativo (Fig. 1). Desta forma, foi feito o diagnóstico de infecção pelo VIH-1. A doente iniciou terapêutica anti-retroviral, com lamivudina, zidovudina, indinavir, e profilática com trimetoprim-sulfametoxazol, regressando ao Brasil no Natal de 2001. Soube-se, posteriormente, que o actual parceiro sexual de A.B. realizou teste de rastreio para o VIH que revelou seropositividade para o VIH-1. Mantém-se assintomático.

A caracterização genotípica do vírus no plasma foi feita por sequenciação e análise filogenética de fragmentos dos genes *gag* e *env*. O resultado deste estudo revelou que am-

bos os doentes estavam infectados pelo mesmo vírus, uma forma recombinante AD.

Discussão

São raros os casos de infecção pelo VIH seronegativos descritos na literatura mundial. Trata-se, habitualmente, de indivíduos jovens previamente saudáveis, alguns dos quais dadores habituais de sangue, com parceiros/as sexuais seropositivos/as para o VIH-1, que frequentemente desenvolvem quadros de SIDA rapidamente progressivos. Os diagnósticos são feitos por determinação do Ag p24, quantificação do RNA viral e cultura do vírus.¹⁻¹⁰ Não existe ainda explicação para a causa da seronegatividade destes casos. No entanto, a hipótese mais defendida aponta para uma deficiência da resposta imunológica do hospedeiro à infecção pelo VIH.

Os testes serológicos usados actualmente para diagnosticar a infecção pelo VIH (ELISA e Western blot) podem ser negativos por vários motivos. A causa mais comum é o teste ser realizado durante o período de janela. Este período tem sido reduzido progressivamente com a evolução dos testes serológicos. Nos testes de 3^a. geração, que detectam não só anticorpos IgG mas também IGM, este período tem a duração média de 21-29 dias. Durante esta fase inicial, a contagem de linfócitos T CD4+ pode descer, com inversão da relação CD4/CD8, a carga viral pode ser muito elevada e haver positividade do Ag p24. Dada a depressão da imunidade, podem até ser observadas infecções oportunistas durante este período.¹¹ No entanto, atendendo à deterioração do quadro clínico e laboratorial e uma vez que a doente realizou testes há quatro e há dois anos, e nos três meses que precederam o diagnóstico, que foram negativos, esta hipótese parece ser muito pouco provável. Foram descritos casos de infecção pelo VIH com seroconversão tardia até aos 36 meses. No entanto, a grande maioria destes indivíduos era assintomática.¹²⁻¹⁴

Da mesma forma, durante a fase avançada/terminal da doença, as serologias para o VIH podem tornar-se negativas por destruição grave do sistema imunológico – Serorreversão.¹⁵ No entanto, um estudo realizado com cerca de 2,5 milhões de doentes mostrou que esta situação, se existente, é extremamente rara.¹⁶ Tendo em conta que a duração média do período de latência clínica é de 10 anos, que a sintomatologia apresentada por A.B. tem cerca de quatro meses de evolução, e que as primeiras serologias realizadas há dois e quatro anos já haviam sido negativas, não parece ser esta a explicação. A baixa sensibilidade dos testes serológicos é uma hipótese que, à partida, não pode ser afastada; no entanto, de acordo com o fabricante, o teste usado apresenta uma sensibilidade aproximada de 100%, quando existem anticorpos circulantes. Do mesmo modo, o erro laboratorial, embora seja uma realidade, é pouco provável que se repita constantemente ao longo das várias realizações do teste em datas e locais diferentes. Se o anticorpo ou o antigé-

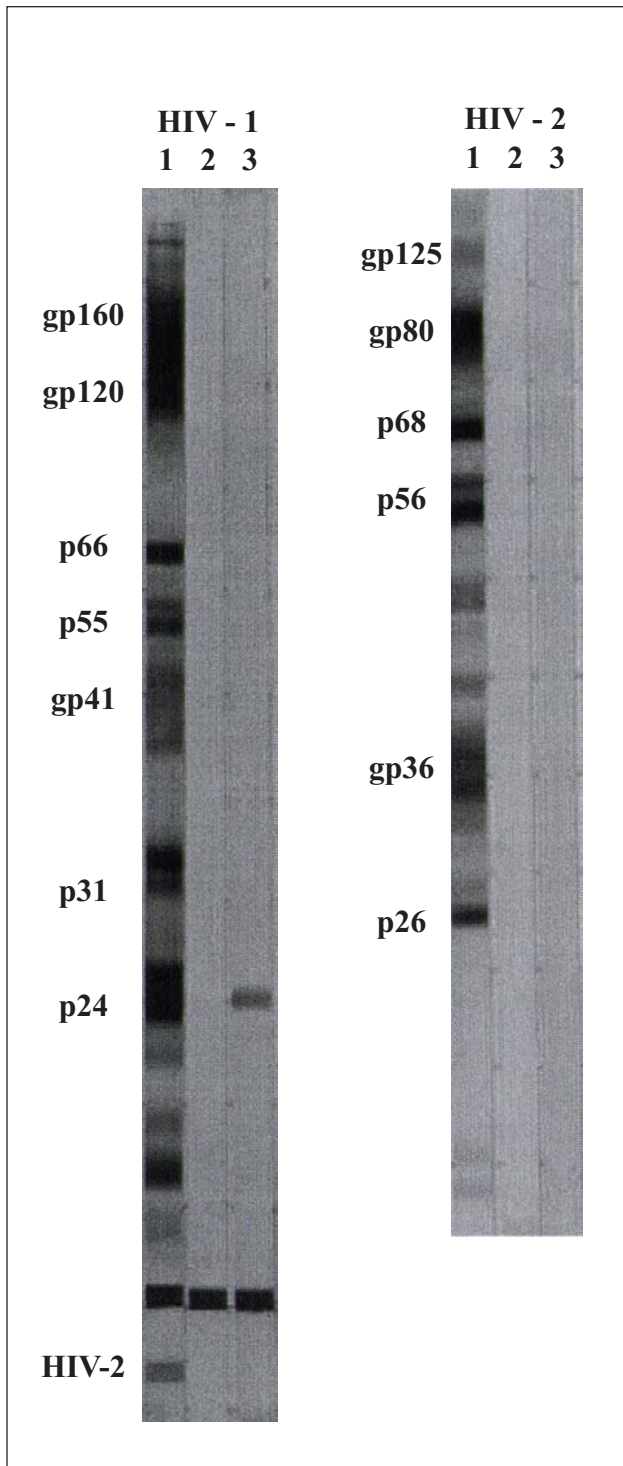


Fig. 1 – Análise por Western blot do perfil serológico anti-VIH da doente analisada neste estudo. São indicados, à esquerda na figura, as proteínas e glicoproteínas do VIH-1 ou VIH-2 presentes nas tiras de Western blot. As tiras número 3 correspondem à doente seronegativa, enquanto as tiras 1 e 2 correspondem, respectivamente, aos controlos positivos e negativos dos kits.

nio estiverem em excesso, as reacções imunossrológicas podem não se efectuar (os fenómenos de pró-zona e post-zona, respectivamente). Nestes casos, o soro deve ser diluído e testado de novo, uma vez que a diluição do soro deve eliminar as reacções de pró-zona. Os testes de serologia para o VIH actualmente em uso são cuidadosamente elaborados, o que permite a utilização dos reagentes em quantidades que asseguram a execução das reacções numa zona de equivalência de quantidades de antígeno e anticorpo¹¹.

Outras hipóteses podem ser levantadas. A hipogamaglobulinemia é uma hipótese pouco provável para explicar o caso de uma doente que sobreviveu até aos 29 anos e apresenta IgG positivas para Herpes simplex, CMV, Epstein-Barr e T. Gondii, e imunolectroforese com valores normais de IgG. A disfunção primária das células T pode ser responsável por contagens baixas de linfócitos T CD4+. No entanto, por definição, o diagnóstico é de exclusão, obrigando a que a determinação do RNA-VIH por PCR e a cultura viral sejam negativas. Também não há história de imunossupressão iatrogénica, nem parece haver patologia neoplásica (TAC CE, torácico, abdómino-pélvico, ecografia ginecológica e medulograma sem evidência de neoplasia). A co-infecção pelo CMV ou vírus de Epstein-Barr pode induzir imunodeficiência que impede a resposta imunológica ao VIH, mas a doente apresentava Ig M negativos para ambos os vírus.

Nas infecções pelo VIH do grupo N, os testes serológicos podem ser negativos. Também poderia tratar-se de uma estirpe viral particularmente agressiva que não permitisse ao hospedeiro o desenvolvimento de uma resposta imunológica. O primeiro caso é muito raro e o teste de ELISA usado detecta anticorpos para o VIH-1 do grupo O. Além disso, a genotipagem revelou infecção por um vírus recombinante AD. Trata-se de um recombinante muito raramente descrito nas bases de dados¹⁷ e até agora não descrito em Portugal. Poderá ser esta a explicação da seronegatividade? Não parece se, uma vez que, pelo estudo genético sabe-se que ambos os doentes estão infectados pelo mesmo vírus e, sendo o parceiro de A.B. seropositivo, esta hipótese não explica a diferença encontrada na evolução clínica e sobretudo serológica.

A falência do hospedeiro em montar uma resposta imune específica apresenta-se como a hipótese mais provável e mais defendida. Sem a capacidade de desenvolvimento de anticorpos que detenham a infecção inicial, o sistema imunológico é incapaz de travar a infecção pelo VIH e a rápida progressão da doença. Poderá assim perceber-se as diferenças encontradas na evolução clínica e serológica dos dois doentes; provavelmente, este factor não actuará isoladamente. São necessários mais estudos que permitam identificar este defeito imunológico e de que forma ele actua defendendo uns e condenando outros.

Conclusão

Uma das mais importantes implicações dos resultados falso-negativos dos testes serológicos, resulta do seu uso no rastreio de sangue de dadores. A generalização dos recentes testes de 4ª. geração, capazes de detectar também o Ag p24, surge como uma medida urgente, uma vez que poderá detectar a infecção em casos semelhantes ao que aqui se descreve, principalmente se acompanhados de uma história clínica cuidadosamente colhida. Em situações como a descrita, em que a imunidade não permite a defesa contra a infecção, o diagnóstico precoce e o início do tratamento adequado podem fazer a diferença entre a vida e a morte. Embora a infecção pelo VIH seronegativa seja uma raridade, deve estar sempre presente na memória de todos os médicos, de modo a alertá-los para a necessidade de exames mais específicos, como a PCR e a cultura viral, quando a clínica e os resultados dos testes serológicos são discordantes.

Outra curiosidade levantada neste caso diz respeito à descoberta de um vírus recombinante AD não descrito anteriormente em Portugal. O seu significado em termos de implicações diagnósticas, clínicas, prognósticas e terapêuticas é ainda desconhecido, realçando a importância da necessidade da realização de mais estudos que nos dêem a conhecer a realidade epidemiológica da infecção pelo VIH em Portugal e suas consequências.

Bibliografia

1. Soriano V, Dronda F, Gonzalez-Lopez A et al. HIV-1 causing AIDS and Death in a Seronegative Individual. *Vox Sang* 1994; 67: 410-411.
2. Wegner S, Ohl C, deNobile J et al. Case report of a woman with seronegative HIV-1 infection (abstract 173). *AIDS Res Hum Retroviruses* 1995; 11 (supl 1): S107.
3. Martin-Rico P, Pedersen C, Skinhej P et al. Rapid development of AIDS in an HIV-1 antibody-negative homosexual man. *AIDS* 1995;9:95-96.
4. Montagnier L, Brenner C, Chamaret S et al. Human immunodeficiency virus infection AIDS in a person with negative serology. *J Inf Dis* 1997;175:955-959.
5. Reimer L, Motrice S, Schable C et al. Absence of detectable antibody in a patient infected with human immunodeficiency virus. *Clin Inf Dis* 1997;25:86-100.
6. Michael N, Brown A, Voigt R et al. Rapid disease progression without seroconversion following primary human immunodeficiency virus type 1 infection – evidence for highly susceptible human hosts. *J Inf Dis* 1997;173:1352-1359.
7. Sullivan P, Schable C, Koch W et al. Persistently negative HIV-1 antibody enzyme immunoassay screening results for patients with HIV-1 infection and AIDS: serologic, clinical and virologic results. *AIDS* 1999;13:89-96.
8. Ellenberg D, Sullivan P, Dorn J et al. Viral and immunologic examination of human immunodeficiency virus type 1 infected, persistently seronegative persons. *J Inf Dis* 1999;180:1033-1042.
9. Candotti D, Adu-sarcodi Y, Davies F et al. AIDS in HIV-seronegative Ghanian woman with intersubtype AG recombinant HIV-1 infection. *Journal of Medical Virology* 2000;62:1-8.
10. Taveira N, Camacho R, Bárto I et al. Rapid clinical progression to AIDS and death in a persistent seronegative heterosexual men. *Infect Dis Reviews*. 2: 229-230.
11. Pedro M. Diagnóstico de laboratório – Serologia vírica e alguns méto-

- dos de detecção directa. Biblioteca da SIDA. Vol. 1. Editora Permanyer Portugal 2001:14-15.
12. Welinsky S, Rinaldo C, Kwok S et al. HIV-1 infection a median of 18 months before a diagnostic Western-blot. *Ann Intern Med* 1989;111:961-972.
13. Imagawa D, Moon D, Lee H et al. Human immunodeficiency virus type 1 infection in homosexual men who remain seronegative for prolonged periods. *N Engl J Med* 1989; 320:1458-1462.
14. Oka S, Ida S, Shioda T et al. Genetic analysis of HIV-1 during rapid progression to AIDS in an apparently healthy man. *AIDS Research and Human Retroviruses* 1994; 10: 271-277.
15. Farsadegan H, Polis M, Wolinsky S et al. Loss of HIV antibodies with evidence of viral infection in asymptomatic homosexual men: A report from Multicenter AIDS Cohort Study. *Ann Intern Med* 1998; 108: 785-790.
16. Roy M, Damata J, Burke D. Absence of true seroreversion of HIV-1 antibody in seroreactive individuals. *JAMA* 1993;269:2876-2879.
17. Leitner T, Escanilla D, Marquine S et al. Biological and molecular characterization of subtype D, G and A/D recombinant HIV-1 transmissions in Sweden. *Virology* 1995; 209(1):136-146.