

Trabalho Final de Mestrado Integrado em Medicina

**Avaliação epidemiológica, clínica e
laboratorial de doentes infetados por vírus
da imunodeficiência humana tipo 2 na
Consulta de Imunodepressão do Hospital de
Santa Maria**

Ano Letivo 2015/2016

Clínica Universitária de Doenças Infecciosas e Parasitárias

João Pedro Martins Domingos

12764

Orientado pela:

Professora Doutora Emília de Jesus da Encarnação Valadas

Coorientado pela:

Mestre Ana Filipa Marques Alçada Sutre

RESUMO

Objetivos: Caracterizar indivíduos infetados por VIH-2 (seguidos na Consulta de Imunodepressão do Hospital de Santa Maria) e avaliar a sua evolução clínica e imunológica. Definir a existência de diferentes grupos de progressão clínica.

Métodos: Registo retrospectivo de dados demográficos, epidemiológicos, clínicos, imunológicos e de seguimento de indivíduos infetados por VIH-2.

Resultados: Incluíram-se 137 indivíduos, a maioria (70,8%) do género feminino e natural da Guiné-Bissau (52,6%). O seguimento estendeu-se entre 12 e 295 meses, apresentando o género feminino menor mortalidade e melhor *follow-up*. Registou-se uma mediana de 471 células/ μ L no diagnóstico, sendo este valor superior no género feminino. Verificou-se descida mediana de 99 células/ μ L entre o início de seguimento e a última avaliação ou início de terapêutica antirretroviral. Após início de terapêutica há uma subida mediana de 131,7 células/ μ L, com o género feminino a iniciar e terminar terapêutica com valores mais elevados. Cerca de um terço dos doentes (28,5%) desenvolveu, pelo menos, uma doença definidora de SIDA. A maioria (57,7-74,5%) pode ser considerada como *progressors* e de 14,1 a 32,9% como *long term non-progressors*.

Conclusão: A infeção por VIH-2 tem repercussão imunológica, ainda que esta pareça ser menor e com evolução mais arrastada comparativamente a VIH-1. O género feminino apresenta ter melhores parâmetros clínicos e de prognóstico.

ABSTRACT

Objectives: To characterize the clinic and immunologic progression of HIV-2 infected individuals followed-up at Hospital Santa Maria's Consulta de Imunodepressão. To define the existence of clinic progression groups.

Methods: Retrospective registry of demographic, epidemiologic, clinic, immunologic and follow-up data of HIV-2 infected individuals.

Results: 137 individuals were included, the majority (70,8%) being of female gender and having Guiné-Bissau as their place of birth (52,6%). The follow-up extended from 12 to 295 months, the female gender showing a smaller mortality rate and better follow-up. There was a median of 471 cells/ μ L at the time of diagnostic, the female gender having higher values. It was observed a median drop of 99 cells/ μ L from the beginning of follow-up to the last cell count (or the beginning of antiretroviral therapy). After the beginning of therapy there was a median rise of 131,7 cells/ μ L, the female gender having higher values both at beginning and end of therapy. A third (28,5%) of individuals developed at least one AIDS defining disease. Most individuals (57,7-74,5%) can be considered as progressors and 14,1 to 32,9% as long term non-progressors.

Conclusion: HIV-2 infection as immunologic repercussions that seem reduced and more insidious by comparison with HIV-1. The female gender exhibits better clinical and prognostic parameters.

ÍNDICE

RESUMO.....	1
ABSTRACT	2
ÍNDICE.....	3
AGRADECIMENTOS	5
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	6
INTRODUÇÃO.....	8
EPIDEMIOLOGIA	8
Origem e filogenia de VIH-2	8
Distribuição geográfica	11
Distribuição demográfica	12
Transmissão.....	13
CARACTERIZAÇÃO DE VIH-2	14
Variabilidade genética de VIH-2.....	15
Tropismo vírico	16
PATENOGÉNESE E HISTÓRIA NATURAL	18
Imunopatenogénese	18
História natural da doença.....	18
Mortalidade	19
Replicação vírica.....	20
Resposta imunitária	20
Manifestações clínicas.....	22
INFEÇÃO DUPLA POR VIH-1 E VIH-2.....	23
DIAGNÓSTICO	24
MONITORIZAÇÃO.....	25
Classificação.....	26
TERAPÊUTICA	27
Recomendações de esquemas terapêuticos para VIH-2	29
MATERIAL E MÉTODOS.....	30
RESULTADOS	33
INTRODUÇÃO	33
DADOS DEMOGRÁFICOS	33
DADOS EPIDEMIOLÓGICOS	36

DADOS DE SEGUIMENTO	40
DADOS CLÍNICOS	41
Dados gerais	41
Evolução imunológica.....	43
Avaliação de efeitos imunológicos de TARV	46
Carga viral	48
Doenças definidoras de SIDA	49
Grupos de progressão clínica	49
DISCUSSÃO	52
Dados demográficos.....	52
Dados epidemiológicos	53
Dados de seguimento	55
Dados clínicos.....	56
Evolução imunológica	57
Avaliação de efeitos imunológicos de TARV	58
Carga viral.....	59
Doenças definidoras de SIDA.....	60
Grupos de progressão clínica	60
ANEXOS	63
ANEXO 1 - Condições que definem as várias categorias clínicas para estadiamento da infecção por VIH ¹⁰⁵	63
ANEXO 2 – Tabela de correlação e teste Qui-Quadrado de Pearson entre o Género e Estratificação por Contagem de Linfócitos T CD4 ⁺ na <i>baseline</i>	64
ANEXO 3 – Teste T de Wilcoxon pareado – <i>Treatment-naive: Baseline, Nadir e Endline</i>	65
ANEXO 4 – Teste T de Wilcoxon pareado – Grupo terapêutico: <i>Baseline, Nadir e Endline</i>	66
ANEXO 5 – Tabela de correlação e teste Qui-Quadrado de Pearson entre o Género e Grupo de Progressão Clínica (critérios conservadores).....	67
ANEXO 6 – Tabela de correlação e teste Qui-Quadrado de Pearson entre o Género e Grupo de Progressão Clínica (critérios inclusivos)	68
ÍNDICE DE TABELAS	69
ÍNDICE DE FIGURAS	70
BIBLIOGRAFIA	71

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora Emília Valadas, por toda a disponibilidade, atenção, e alegria com que me acompanhou nesta jornada. Pela palavra de encorajamento e o espírito positivo com que sempre me desafiou a aventurar por “águas” ainda por descobrir e a pensar “fora da caixa”. Muito obrigado pela paciência e atenção.

À Professora Doutora Perpétua Gomes, pela amabilidade com que se disponibilizou para ajudar a completar este trabalho e a torná-lo mais completo.

À Ana Filipa Sutre, por já vários anos de ajuda e apoio incansável. Pelas longas horas de trabalho que dispensou para me apoiar e pelo muito que me já ensinou.

A todos aqueles que na Consulta de Imunodepressão do Hospital de Santa Maria e Clínica Universitária de Doenças Infecciosas e Parasitárias me acolheram no seu local de trabalho e de uma forma ou outra contribuíram para a concretização deste trabalho.

À Joana Chora, pela ajuda a esclarecer a abordagem e perspetiva estatística a seguir.

À minha família, por todo o suporte e amor com que sempre me rodeiam. Pela paciência com as minhas ausências e pela compreensão e acolhimento do meu cansaço. Obrigado por serem sempre um porto de abrigo.

Ao Guilherme, pela presença constante e permanente. Por todo um caminho de anos e aprendizagem mútua. Muito obrigado por estares aí para mim.

Ao Luís, ao Rafael, ao António e ao Miguel, por todo o acompanhamento que fizeram desde o início desta caminhada. Obrigado pelas palavras de incentivo e todos os desafios.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

- ADN: ácido desoxirribonucleico
- ARN: ácido ribonucleico
- Células CD4⁺: células que expressam o recetor CD4
- Células CD4⁻: células que não expressam o recetor CD4
- Células CD8⁺: células que expressam o recetor CD8
- CDC: Center of Disease Control
- CV: carga viral
- EC: *elite controllers*
- ELISA: *Enzyme-linked Immunosorbent assays*
- env*: gene que codifica o envelope vírico
- EUA: Estados Unidos da América
- gag*: gene do grupo antigénio
- IL: interleucina
- IE: inibidores de entrada
- II: inibidores da integrase
- IP: inibidores da protease
- LTNP: *long term non progressors*
- LTNP-EC: *long term non progressors elite controllers*
- LTNP-NC: *long term non progressors viremic non controllers*
- LTNP-VC: *long term non progressors viremic controllers*
- MSM: *men who have sex with men*
- NK: células *natural killer*
- NITRs: nucleósidos inibidores da transcriptase reversa
- NNITRs: não nucleósidos inibidores da transcriptase reversa
- OMS: Organização Mundial de Saúde
- PBMCs: polimorfonucleares periféricos
- PCR: polimerase de reação em cadeia

pol: gene que codifica a polimerase

PR: protease

SIDA: síndrome da imunodeficiência adquirida

SU: glicoproteína de superfície

TARV: terapêutica antirretroviral

TM: glicoproteína transmembranar

TR: transcriptase reversa

UDE: utilizador de drogas endovenosas

VIH: vírus da imunodeficiência humana

VIS: vírus da imunodeficiência símia

VIScpz: vírus da imunodeficiência de chimpanzé-comum

VISmac: vírus da imunodeficiência de macacos

VISsm: vírus da imunodeficiência de “sooty mangabeys”

INTRODUÇÃO

Nos Estados Unidos da América (EUA), início da década de 1980, é identificado o aparecimento de uma nova doença sindrômica, afetando vários doentes e que se apresenta com infecções e neoplasias incomuns (como a pneumonia a *Pneumocystis jiroveci* e sarcoma de Kaposi).¹ Esta doença, caracterizada por um déficit imunitário com marcada redução de valores de células T CD4⁺, proliferação aumentada de células B e hipergamaglobulinemia, seria, na altura, denominada de Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA)¹. Na mesma década seria descoberto um retrovírus humano da família dos lentivírus como seu agente causal^{2,3,4}. Esse vírus é denominado de Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) e, mundialmente, em 2014, 36,9 milhões de pessoas encontravam-se infetadas com o vírus, tendo-se registando ainda dois milhões de novas infecções e 1,2 milhões de mortes associadas a complicações da mesma⁵.

VIH pertence à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae*, género *Lentivirus*, existindo atualmente dois tipos, o tipo 1 (VIH-1) e o tipo 2 (VIH-2). Este último tipo é identificado após isolamentos vários de um retrovírus humano de relação muito mais próxima com Vírus de Imunodeficiência Símia (VIS) do que com VIH-1⁶. Estes dois tipos de VIH têm estrutura, morfologia e ciclo celular semelhantes, apresentando entre si respostas imunológicas cruzadas. Porém, as infecções por VIH-1 e VIH-2 diferem entre si, no que diz respeito à evolução natural da doença, repercussão imunológica no hospedeiro, distribuição geográfica e origem filogenética⁷.

EPIDEMIOLOGIA

Origem e filogenia de VIH-2

As primeiras evidências da existência de VIH-2 surgem em 1985, em trabalhadoras sexuais Senegalesas, que apresentavam reação cruzada preferencial em Western blot para antigénios de VIS, por comparação com antigénios de VIH-1, o que indicava exposição a um vírus *VIS-like*⁸. Subsequentemente, em 1986, é isolado a partir de doentes com SIDA de África Ocidental (Guiné-Bissau e Cabo Verde) um vírus com relação mais próxima de VIS do que VIH-1, e que hoje se sabe corresponder a VIH-2⁹.

Assume-se, atualmente, que VIH é originário de transmissão zoonótica de primatas não humanos infetados com SIV¹⁰. VIH-1 será originário da transmissão de VIS de chimpanzé-comum (VIScpz), *Pan troglodytes*, enquanto VIH-2 será proveniente da transmissão de VIS de “sooty mangabeys” (VISsm), *Cercocebus atys*⁶.

Desde os isolamentos iniciais de VIH-2 que se verifica que, geneticamente, VIH-1 apresenta algumas diferenças consideráveis em comparação a VIH-2, nomeadamente no que diz respeito a sequenciação genómica e estruturas proteicas e glicoproteicas¹¹. VIH-2 é, filogeneticamente, mais próximo de VIS de macacos (VISmac), género *Macaca*, e de SIVsm, que infecta “sooty mangabeys” (*Cercocebus torquatus atys*) (Figura 1). E, apesar de VISmac aparentar infetar macacos apenas em cativeiro, foi demonstrado que “sooty mangabeys” encontram-se naturalmente infetados com VISsm no seu habitat natural⁶.

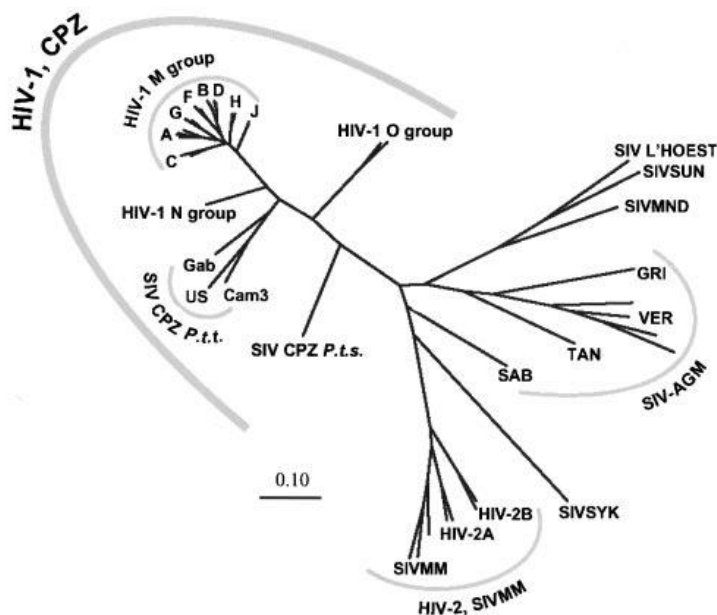


Figura 1 - Relação filogenética entre lentivírus de primatas a partir de sequenciação genética do gene que codifica a polimerase (pol) vírica de HIV-1, HIV-2 e SIVmac¹⁰.

Estes últimos primatas referidos habitam maioritariamente a região de África Ocidental¹⁰, e são a mais provável fonte de transmissão zoonótica do VIH-2, visto que eram, frequentemente, caçados para alimentação humana e até mantidos como animais domésticos pelas populações humanas residentes nas regiões de África Ocidental⁶.

A partir de análises filogenéticas de várias estirpes de VIH-2 poderão ter ocorrido cerca de sete a oito transmissões zoonóticas independentes de “sooty mangabeys” para humanos, o que estará na origem dos oito subtipos de VIH-2 atualmente existentes (A-H)^{10,12}. Apenas os subtipos A e B aparentam ter distribuição endémica¹², sendo que os restantes subtipos (C-H) foram identificados exclusivamente associados a infeções em

apenas um indivíduo, pelo que poderão corresponder a transmissões zoonóticas primárias e isoladas¹⁰.

Lemey *et al.* procuraram estabelecer uma linha temporal da evolução filogenética de VIH-2, sendo que os seus resultados apontam para uma origem do subtipo A (mais prevalente na Guiné-Bissau) aproximadamente em 1940 ± 16 anos e o subtipo B (mais prevalente no Mali e Costa do Marfim¹²) aproximadamente em 1945 ± 14 anos¹³. O crescimento epidémico do subtipo A terá ocorrido entre 1950-1970, período que os autores associam e relacionam com o período abrangido pela guerra pela independência em Guiné-Bissau (1961-1974), estipulando esse evento como importante fator para a disseminação do vírus¹³.

Os resultados apresentados por um estudo retrospectivo realizado na Guiné-Bissau parecem suportar essa hipótese, identificando a prostituição, relações extraconjugais, transfusões sanguíneas e uso compartilhado de instrumentos perfurantes (ex.: seringas) em contexto de cenário de guerra colonial como importantes fatores de risco para a infeção por VIH-2 e fonte da expansão epidémica observada durante esse período na Guiné-Bissau¹⁴.

Um estudo realizado em Portugal na população de doentes infetados com VIH-2 e seguidos no Hospital Egas Moniz, Lisboa, verificou que apenas uma pequena percentagem dos mesmos era de naturalidade portuguesa, sem relações com as antigas colónias portuguesas e a maioria tinha, muito provavelmente, adquirido a infeção através de transfusão sanguínea. Já a maioria dos doentes eram naturais de Guiné-Bissau ou tinham ligações diretas e/ou indiretas com o país¹⁵. Porém, por análise demográfica, pareceu aos autores extremamente improvável que a maioria desses doentes fossem sexualmente ativos durante o período da guerra colonial em Guiné-Bissau, o que não parece suportar a via sexual como o principal modo de transmissão do VIH-2 durante o período de crescimento epidémico¹⁵ e está em concordância com as evidências de que a transmissão sexual de VIH-2 seja menos eficiente que a transmissão sexual de VIH-1¹⁶. Exposição parentérica através de injeções, campanhas de vacinação, transfusão de sangue e derivados, infeção nosocomial e práticas culturais tradicionais podem ter sido a via principal de disseminação durante o período epidémico¹⁵.

Distribuição geográfica

VIH-2 é atualmente endémico nos países localizados na região da África Ocidental, ou na sua periferia, sendo que vários países apresentam uma prevalência de infeção da sua população superior a 1%, nomeadamente: Guiné-Bissau, Gâmbia, Senegal, Cabo Verde, Costa do Marfim, Mali, Serra Leoa, Mauritânia e Nigéria^{7,17}. Estima-se que cerca de um a dois milhões de pessoas estão de momento infetadas com VIH-2 na África Ocidental¹⁸.

Apesar de não apresentarem níveis de prevalência de infeção por VIH-2 tão elevados, em certos países (como Portugal, França, Índia, Angola, Moçambique) com ligações históricas, culturais e socioeconómicas com as zonas endémicas verifica-se uma prevalência significativa de infeção por VIH-2^{13,19,20,21}. Por outro lado, países profundamente marcados pela infeção por VIH-1, apresentam apenas alguns casos conhecidos de infeção por VIH-2, representando este vírus, por exemplo, apenas 0,01% de todas as infeções por VIH nos EUA²². A maioria (95%) das infeções por VIH-2 reportadas na Ásia dizem respeito a infeções na Índia²³ e apresentam uma elevada proximidade filogenética com o subtipo A de VIH-2 (subtipo mais prevalente em África Ocidental) o que parece confirmar uma rota direta de transmissão do vírus para a Índia através do continente africano²⁴.

A disseminação da infeção por VIH-2 na Europa parece ter-se estabelecido a partir da África Ocidental, tomando partido das relações entre os vários países europeus e as suas ex-colónias, nomeadamente colónias portuguesas, francesas e inglesas²⁵. De momento, Portugal e França são os dois países europeus com maior número de casos registados de infeção por VIH-2¹⁵, sendo que entre 2003 e 2006 França registou um total de 186 novos casos, o que correspondia a cerca de 1,8% de todas as infeções por VIH²¹.

Portugal mantém-se, atualmente, como o país europeu com maior prevalência de infeções por VIH-2^{10,20,26,27}. A 31 Dezembro de 2014 encontravam-se notificados 1735 casos de infeção por VIH-2, valores que correspondiam a 3,3% do total de casos notificados de infeções por VIH. Os casos registados como infeção dupla (VIH-1 e VIH-2) (n=656; 1,2%) correspondiam a casos de infeção por VIH em que o tipo de vírus não fora identificado ou, mais raramente, a casos confirmados de infeção dupla. Os casos acumulados de infeção por VIH2 distribuíam-se, equitativamente, por género (875 casos em mulheres e 860 casos em homens), a idade mediana à data do diagnóstico era de 42 anos, 52,8% residiam no distrito de Lisboa, 51,9% dos indivíduos eram originários da

África subsariana e o modo de transmissão mais frequentemente referido é o contacto heterossexual (80,1%)²⁸.

Atualmente, observa-se um declínio prevalência de infeção por VIH-2 na África Ocidental por comparação a VIH-1 cuja prevalência tem vindo a aumentar^{19,12,29,30}. É descrito um decréscimo da infeção por VIH-2 na Guiné-Bissau, sendo a sua prevalência de 8,9 % em 1987, 7,4% em 1996 e 4,4% em 2006²⁹. Comparativamente, observa-se um claro aumento da infeção por VIH-1 na mesma região, sendo que esta compreendia uma prevalência inferior a 1% antes de 1993, atingindo, progressivamente, valores de 2,5% em 1997 e 4,8% em 2000, com previsão de continuação desse aumento³¹. Hamel, D.J. *et al.* observou, após um *follow-up* de 20 anos de uma *cohort* de trabalhadoras sexuais Senegalesas, que a prevalência de infeção por VIH-2 decresceu de 8% em 1985 para 5,5% em 2003 e que, por outro lado, a prevalência de infeção por VIH-1 aumentou de 1% para 13,8% durante o mesmo período de *follow-up*³². Esta diminuição do número de infeções por VIH-2 não parece ser explicada por migrações populacionais ou mortalidade associada, estando, mais provavelmente, relacionada com alterações socio-comportamentais, políticas de saúde para a prevenção de transmissão de infeção por VIH, rastreio de doações de sangue e derivados, alterações de comportamentos sexuais de risco, menor taxa de transmissão de VIH-2 comparativamente a VIH-1 e por pressão competitiva entre os dois tipos de vírus^{12,29,31}.

Distribuição demográfica

A faixa etária na qual a prevalência de infeção por VIH-2 é maior parece ser relativamente superior ao que é verificado para a infeção por VIH-1^{15,19}. Na África Ocidental a prevalência é maior entre mulheres da faixa etária dos 45-60 anos¹² e, geralmente, para o género masculino esta faixa etária é superior¹⁹. Estes dados parecem suportar a hipótese que existe uma maior taxa de infeção entre aqueles que, à data da guerra colonial em Guiné-Bissau, eram sexualmente ativos ou com idade suficiente para estarem envolvidos no conflito armado³³. Em Portugal no final de 2014 a idade mediana à data do diagnóstico era de 42 anos²⁸.

A maioria dos estudos não parecem encontrar diferença significativa na progressão da infeção por VIH-2 entre o género feminino e masculino³⁴. Porém, outros autores referem que as mulheres aparentam ter maior probabilidade de adquirir infeção por VIH-2,

enquanto que os homens, tendencialmente, procuram tratamento médico em estádios de infecção mais tardios e, apesar de melhor estatuto socioeconómico, tendem a apresentar maior mortalidade e maior probabilidade de abandonar o *follow-up* que as mulheres⁴⁰.

Transmissão

VIH-2 apresenta as mesmas vias de transmissão que VIH-1: contacto sexual, exposição parentérica (transusão de sangue e derivados e partilha de objetos perfurantes) e transmissão vertical. Porém, VIH-2 aparenta ter menor eficácia de transmissão que VIH-1⁷. Tem-se postulado a menor carga viral (CV) que se observa nos indivíduos infetados por VIH-2 como um fator importante para a menor eficácia de transmissão do vírus^{7,10,12,33,35,36}. Verifica-se que a transmissão neonatal de VIH-2, na ausência de terapêutica antirretroviral (TARV), a partir de mães para os seus filhos em amamentação é menos de 4%, comparativamente a valores que atingem os 24,7% para mães infetadas por HIV-1^{37,39}. De igual forma, a secreção de partículas víricas de VIH-2 nas secreções genitais, nomeadamente sémen, é significativamente menor em comparação com os níveis observados em indivíduos infetados por VIH-1, e está em relação próxima com os valores plasmáticos de CV³⁸. Verifica-se, assim, que a transmissão heterossexual de VIH-2 é entre cinco a nove vezes inferior à observada na infeção por VIH-1 e a transmissão vertical cerca de 10 a 20 vezes menor¹⁰.

A menor eficácia de transmissão de VIH-2 parece ser a principal responsável pela sua distribuição geográfica e demográfica restrita, em comparação com o carácter epidémico de VIH-1^{7,12,35}. Alguns fatores de risco para a transmissão de VIH-2 têm vindo a ser identificados, nomeadamente: idade avançada, história passada de doenças sexualmente transmissíveis, relações sexuais com prostitutas e ausência de circuncisão¹⁹.

CARACTERIZAÇÃO DE VIH-2

VIH-2, tal como VIH-1, pertence à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae*, género *Lentivirus*, e é constituído por duas moléculas de ARN. A sua estrutura é muito semelhante à de VIH-1, embora VIH-2 possua um gene denominado de *vpx* em vez do gene *vpu* que é codificado por VIH-1^{13,19,41}. VIH-2 contém, desta forma, três genes estruturais, o gene que codifica o envelope (*env*), o gene do grupo de antígenos (*gag*) e o gene que codifica a polimerase (*pol*), codificando ainda seis genes reguladores, *tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpr* e *vpx*. Estes genes sobrepõem-se entre si em várias regiões do genoma viral⁴¹.

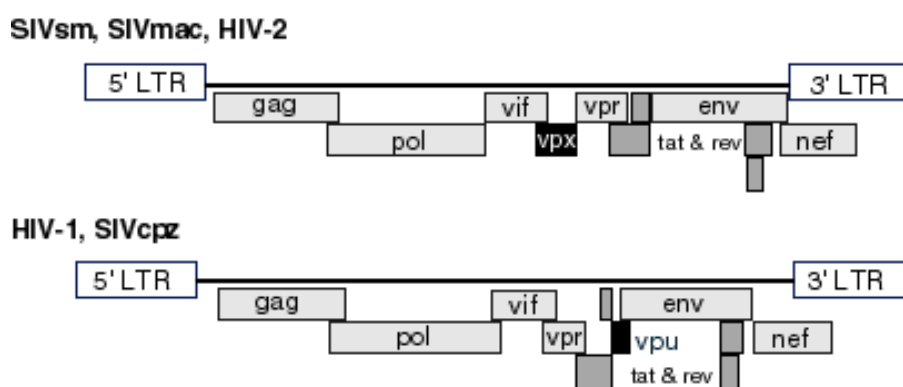


Figura 2 - Organização genómica das linhagens de lentivírus de primatas. Adaptado de ⁴¹.

VIH-1 e VIH-2 apresentam proximidade de aminoácidos em cerca de 60% das proteínas antigénicas codificadas pelos genes *gag* e *pol* e de cerca de 30-40% na proteína do envelope vírico codificada pelo gene *env*^{19,12,42}. O gene *vpx*, presente apenas em VIH-2, em VISmac e VISsm, apresenta uma sequência semelhante ao *vpr*, estando ambos justapostos⁴⁴. Esta semelhança pode ter como origem uma duplicação genética⁴⁵, apesar da análise filogenética de *vpx* sugerir, porém, ser mais provável que este tenha sido adquirido através da recombinação não homóloga entre diferentes tipos de VIS⁴⁶.

Funcionalmente, pensa-se que *vpx* possa ser essencial à replicação de VIH-2 nos macrófagos e importante para a mesma nos linfócitos T. Outras funções propostas incluem a promoção da acumulação de moléculas de ADN vírico, importação das mesmas para o núcleo e atividade citopatogénica por mecanismo desconhecido⁴⁴.

VIH-1 e VIH-2 apresentam, no entanto e de uma forma geral, organização genómica, morfologia, funcionalidade e composição proteica semelhantes⁴³.

Variabilidade genética de VIH-2

A variabilidade genética de VIH é em grande parte gerada pela inexistência de mecanismos de *proof reading* da transcriptase reversa codificada por VIH, pelo rápido *turnover* do vírus *in vivo*, pela pressão imunitária seletiva do hospedeiro infetado e por eventos de recombinação genética que ocorram durante a replicação²⁴. Porém, em termos genéticos, VIH-2 surge com uma variabilidade limitada comparativamente ao observado com VIH-1³⁵.

O envelope viral é constituído por uma bicamada fosfolipídica e por complexos tetrâmicos de glicoproteínas codificadas a partir do gene *env*: gp120/gp125 (VIH-1 e VIH-2, respetivamente) e gp41/gp36 (VIH-1 e VIH-2, respetivamente). A gp120/gp125 dá-se o nome de glicoproteína de superfície (SU) e a gp41/gp36 dá-se o nome de glicoproteína transmembranar (TM). A glicoproteína gp120/gp125 apresenta cinco regiões variáveis (V1-V5) e cinco regiões conservadas¹⁰. A região V3 de VIH-2 tem sido reportada como a região imunodominante contendo os epítetos responsáveis pela neutralização vírica por citotoxicidade celular dependente de anticorpos. Está ainda implicada na fusão da partícula vírica com a membrana celular, na formação de sincícios, na infetividade e tropismo do vírus^{10,47}. Sankale *et al.* ao analisar a região V3 de VIH-2 verificou que a sua heterogenicidade média era de 1,4% (variação 0-4,1%), um valor menor ao observado em VIH-1 (cerca de 6,1%). Para além disso, a variabilidade média de nucleótidos na região V3 entre doentes assintomáticos seropositivos para VIH-2 era de 0,6%, enquanto que em doentes cuja doença já havia progredido clinicamente para SIDA essa variabilidade era de 2,0%. Desta forma os autores puderam associar a variabilidade genética com a própria progressão da doença⁴⁸.

Dos oito subtipos de VIH-2 conhecidos, apenas, os subtipos A e B são endémicos e patogénicos, não parecendo existir diferenças significativas na progressão da doença, patogenicidade e transmissibilidade entre os dois^{12,19,24}. O subtipo A é responsável pela maioria das infeções, sendo predominante na Guiné-Bissau e Europa, o subtipo B surge, principalmente, no Gana e Costa do Marfim^{12,13,49}. Os subtipos restantes (C a H), como já fora referido, foram descritos apenas em indivíduos isolados^{10,50}. Destes, os subtipos E e F foram relacionados com VIS da Serra Leoa, o subtipo D com VIS da Libéria e o subtipo G com VIS da Costa do Marfim⁵⁰. A Serra Leoa, apesar da baixa prevalência

comparativamente a outros países da África Ocidental, é o país que regista maior diversidade de subtipos^{13,19}.

Tropismo vírico

Para a ocorrência do ciclo infeccioso e replicativo de VIH é necessária a interação entre o complexo glicoproteico de superfície do envelope vírico (constituído por um tetrâmero de uma molécula SU e três moléculas TM) e a molécula CD4, expressa nos linfócitos T auxiliares, macrófagos e células dendríticas¹⁰. Esta interação induz alterações conformacionais na SU que permitem a exposição ou formação do local de ligação a moléculas de coreceptores. Esta interação adicional determina alterações na estrutura da glicoproteína transmembranar (TM) que permite a fusão do envelope vírico com a membrana celular da célula hospedeira e a entrada do vírus na célula agora infetada. O ciclo replicativo de VIH está por isso dependente, por um lado, da expressão do recetor (CD4) e coreceptores na membrana das células alvo e, por outro, pelas glicoproteínas codificadas por *env*^{10, 35, 51, 52}.

O tropismo de VIH pode diferir consoante as principais células alvo infetadas e as taxas de replicação vírica, sendo historicamente dividido em três grupos. O primeiro grupo engloba isolados víricos que infetam *in vitro* células da linhagem T e que expressam o recetor CD4 (células CD4⁺), induzem a formação de sincícios e têm taxas de replicação elevadas. Este grupo faz principalmente uso do coreceptor CXCR4, tendo estes vírus um tropismo do tipo X4. O segundo grupo consiste em isolados víricos com capacidade para infetar eficientemente culturas de macrófagos, não induzem sincícios em células T infetadas e replicam-se muito lentamente. Estes tipos de vírus usam CCR5 como o seu principal coreceptor, tendo um tropismo do tipo R5. O terceiro grupo consiste em vírus capazes de infetar quer células de linhagem T, quer macrófagos. Habitualmente estes vírus usam indiscriminadamente quer CXCR4, quer CCR5 como coreceptores, e têm um tropismo do tipo R5/X4 ou duplo⁵³. Porém, não só o uso de coreceptores como outros fatores parecem estar responsáveis pelo tropismo de VIH, nomeadamente, a densidade de expressão de recetores, conformação e eventos que ocorram após a entrada do vírus na célula-alvo¹⁰.

Enquanto VIH-1 e VIH-2 partilham um único recetor principal (CD4), a utilização dos coreceptores não parece ser tão consistente, tendo sido identificados, *in vitro*, vários

coreceptores quer para VIH-1 como para VIH-2 e VIS^{36,52,54}. No caso de VIH-1 a importância do uso do coreceptor CCR5 para a infeção viral foi demonstrada pela descoberta de indivíduos que não expressavam esse coreceptor e eram aparentemente resistentes à infeção pelo vírus^{55,56}. Estirpes de vírus com tropismo do tipo R5 parecem ser, predominantemente, transmitidas, consistem na maioria da população vírica em indivíduos assintomáticos e permanecem presentes durante todo o decurso da infeção¹⁰. Nas infeções por VIH-1, um tropismo do tipo duplo parece algumas vezes preceder a evolução para um tropismo do tipo X4, o que se verifica em menos de 50% dos doentes com SIDA e infetados por esse vírus^{57,58}. Para VIH-1 são raras as estirpes capazes de utilizar outros coreceptores para além do CCR5 e CXCR4, sendo estes considerados recetores major e determinantes na sua patogénese. Porém, a evolução típica de tropismo R5 para X4 não é tão óbvia com VIH-2 e é muito frequente a identificação predominante de estirpes de tropismo duplo, bem como o uso de outros recetores, para além de CCR5 e CXCR4, que VIH-2 usa de maneira tão ou mais eficiente. Esta variabilidade na interação com os coreceptores parece ser uma característica particular de VIH-2 em relação a VIH-1^{10,35,51,52,54,59}.

Como acima já fora referido, a região V3 de SU de VIH-2, parece ser altamente conservada por comparação a VIH-1⁴⁸. Tal facto parece não ser coincidente com a variabilidade de utilização de coreceptores registada por VIH-2. Alguns autores afirmam que esta variabilidade poderia ser explicada pela hipótese de que as glicoproteínas codificadas por *env* de VIH-2 possam apresentar uma estrutura conformacional laxa, permitindo interagir menos especificamente com outros co-receptores^{35,59}. Outros estudos postulam que mutações ocorridas em V1/V2 e C5 podem contribuir adicionalmente para o uso de coreceptores independente de CCR5 e CXCR4, no entanto, este papel não está totalmente esclarecido^{52,54}.

Contrariamente ao que seria expectável, o uso mais inespecífico de coreceptores por VIH-2 não parece torna-lo mais patogénico por comparação a VIH-1^{7,12,35,54}. A utilização generalizada de vários tipos de coreceptores poderá resultar na entrada de VIH-2 em células não ativadas e, por isso, pouco permissivas à replicação vírica, não se traduzindo em vantagem patogénica^{35,54,59}.

Outra das grandes diferenças entre os dois tipos de vírus é a aparente capacidade que VIH-2 apresenta de poder infetar células-alvo independentemente da expressão de CD4.

Esta capacidade parece também ser partilhada com VIS⁶⁰. Pelo contrário, só muito raramente foram isoladas estirpes de VIH-1 com capacidade de infectar células que não expressassem CD4 (células CD4⁻)¹⁰. Esta capacidade parece estar associada a mutações pontuais e alterações das glicoproteínas codificadas por *env*, o que lhes confere flexibilidade conformacional e maior facilidade em se ligar a coreceptores na ausência de CD4^{35,36,52,54,60}. Apesar de se desconhecer a prevalência de estirpes CD4⁻ *in vivo*¹⁰, estas estirpes parecem ser responsáveis pela infeção de tecidos não hematológicos, nomeadamente astrócitos^{13,35,61}.

PATENOGÉNESE E HISTÓRIA NATURAL

Imunopatenogénese

A infeção em habitat natural por VIS de *sooty mangabeys*, chimpanzés-comuns e macacos não parece resultar em doença, apesar de cargas virais plasmáticas elevadas serem, por vezes, detetadas nessas espécies¹⁰. Apenas as transmissões zoonóticas de VIH-1 e VIH-2 parecem levar a evolução de doença, com depleção do número de linfócitos CD4⁺, aparecimento de infeções oportunistas, evolução para outras doenças/condições provocadas pela infeção viral e, eventualmente, morte precoce^{10,19}.

As características clínicas da infeção por VIH-2 são semelhantes a VIH-1⁶², no entanto, a sua progressão clínica acontece, de maneira geral, de forma mais lenta^{10,51,63}. VIH-2 é aparentemente menos patogénico que VIH-1 revelando uma menor carga vírica^{10,27,51,64-68} e declínio mais lento dos linfócitos T CD4⁺^{13,69}. Assume-se que uma menor virulência e melhor controlo imunitário por parte dos hospedeiros infetados também contribua para esta menor patogenicidade^{27,66-68,70}.

História natural da doença

A infeção primária com VIH-2, tal como com VIH-1, resulta na indução de respostas imunitárias humorais e celulares detetáveis, seguidas de um período de latência assintomático de duração variável⁷¹. A menor patogenicidade de VIH-2 parece também ter expressão num período de latência de infeção mais longo (igual ou superior a 10 anos)¹⁰. Uma elevada percentagem de indivíduos nunca progride para SIDA⁷², sendo que

muitos poderão ser classificados como *long term nonprogressors* (LTNP)^{10,12,13,19,24,35}. LTNP foram inicialmente definidos para a infecção por VIH-1, existindo alguma disparidade nas definições dadas, podendo-se definir ainda assim três grupos principais^{73,117,118}.

- LTNP-NC (*viremic non controllers*): infecção assintomática, com contagens de linfócitos T CD4⁺ >350 (ou >500) células/μL durante mais de 7-10 anos sem TARV com CV's acima de 2000 cópias/mL em mais de 50% dos registos de CV's;
- LTNP-VC (*viremic controllers*): infecção assintomática, com contagens de linfócitos T CD4⁺ >350 (ou >500) células/μL durante mais de 7-10 anos e com CV's menores ou iguais a 2000 cópias/mL sem TARV. Podem existir valores esporádicos de CV's acima de 2000 cópias/mL desde que não correspondam à maioria das determinações;
- LTNP-EC (*elite controllers*): infecção assintomática com contagens de linfócitos T CD4⁺ >350 (ou >500) células/μL durante mais de 7-10 anos e com CV's indetetáveis sem TARV. Podem existir valores esporádicos de CV's acima de 1000 cópias/mL desde que não consecutivos e não correspondam à maioria das determinações.

De uma forma geral, quando assintomáticos, a maioria dos indivíduos infetados por VIH-2 apresenta CV indetetável, sendo tal achado preditor de bom prognóstico^{12,74}. Tal não acontece tão frequentemente com VIH-1, sendo que alguns estudos referem que o período sintomático antes da progressão para SIDA e/ou morte parece ser, igualmente, mais prolongado com VIH-2^{35,65}. Apesar disso, outros autores verificam que após início da progressão da infecção não parecem existir diferenças consideráveis em termos de CV, velocidade de declínio imunitário e aparecimento de manifestações clínicas entre VIH-1 e VIH-2^{67,68,75}.

Mortalidade

Vários estudos revelam que os indivíduos infetados por VIH-2 apresentam mortalidade inferior aos infetados por VIH-1 (cerca de dois terços menor)^{70,76,77}, mas ainda assim, cerca de duas vezes superior a indivíduos não infetados por nenhum dos tipos de

VIH^{15,34,66}. A mortalidade observada é na sua maioria atribuída a faixas etárias superiores¹². É descrita uma mortalidade inferior no género feminino, relativamente, ao masculino, sendo que este último apresenta cargas víricas superiores^{40,66}.

Quando comparados indivíduos infetados por VIH-1 ou VIH-2, com níveis elevados de CD4⁺ (> 500 células/ μ L ou > 28% dos linfócitos totais), os indivíduos infetados por VIH-2 possuem maior taxa de sobrevivência. A diferença de mortalidade que VIH-2 apresenta parece dever-se, principalmente, à custa das fases iniciais da infeção. Porém, verifica-se que com imunossupressão moderada e avançada o risco de mortalidade é equivalente, não se verificando diferença na mortalidade nos estádios avançados de SIDA (<200 células/ μ L)^{12,78}.

Replicação vírica

Como acima fora referido, a diferença de valores de CV observada nas infeções por VIH-1 em comparação VIH-2 é bastante significativa^{10,27,51,64-68}. A CV de VIH-2 em doentes com seroconversão recente é, em média, 28 vezes menor que em doentes com seroconversão para VIH-1⁶⁶. Porém, o mesmo não se verifica quando comparada a carga de ADN provírico, de tal forma que as infeções por VIH-1 e por VIH-2 apresentam níveis quantitativos semelhantes independentemente dos valores de CV⁷⁹. Para além disso, indivíduos infetados por VIH-2 e com maior carga vírica, não apresentam níveis superiores de ADN provírico⁷⁹. Estes dados permitem inferir que o VIH-2 é capaz de estabelecer uma infeção estável embora o faça com uma menor taxa replicação^{10,46}. É possível que esta diferença entre valores de CV e carga de ADN provírico reflita o maior tropismo de VIH-2 para células sem replicação ativa, e CD4⁻, um melhor controlo imunitário e/ou uma menor sensibilidade do vírus a fatores de transcrição^{79,80,81}.

Resposta imunitária

A resposta imunitária a VIH-2 é relativamente distinta daquela que é observada com VIH-1, sendo que esta diferença parece explicar em parte o controlo da virémia e, consequentemente, a transmissão e prognóstico clínico distinto associado à doença pelo tipo 2 de VIH^{10,12}.

A resposta celular a VIH-2 através de células T CD4⁺ é mais intensa que a observada em doentes infetados com VIH-1 para contagens de células CD4⁺ nos limites normais⁸¹⁻⁸³, existindo uma correlação inversa entre a carga de ADN provírico e a resposta montada contra epítetos antigénicos da proteína GAG codificada pelo gene *gag* de VIH-2⁸¹. A manutenção da capacidade de proliferação e diferenciação dos linfócitos T CD4⁺, a capacidade de produção de citocinas (como a interleucina 2 e TNF- γ) e a capacidade de utilização da interleucina 7 por parte dos linfócitos T CD4⁺ parecem manter-se altamente conservadas e eficazes na infeção por VIH-2^{12,13,35,59,81,84}. Verifica-se ainda, uma menor taxa de apoptose dessa população linfocitária durante o curso da infeção^{12,35,59,84}.

No que diz respeito à resposta imune inata contra VIH-2 alguns estudos parecem apontar a via de TRIM5 α como capaz de bloquear ou interferir com a infeção por VIH. TRIM5 α atua ligando-se a epítetos da proteína do capsídeo viral, interferindo com as fases finais do ciclo replicativo do vírus, nomeadamente ao nível do transporte intracelular do virião, ativando processos de ubiquitação e degradação, e limitando a acumulação de precursores da proteína GAG durante a montagem da partícula vírica⁹⁴. VIH-2 parece ser sensível a restrição por TRIM5 α de macacos, e o alvo da sua inibição parece ser a proteína p26 da proteína do capsídeo vírico⁹⁵. Parece ainda existir evidência de que a família APOBEC das deaminases de citidina contribui para a inibição de VIH-2¹².

A atividade de células *natural killer* (NK) apresenta-se também mais preservada na infeção por VIH-2, demonstrando uma resposta ampla e mais intensa^{12,13}. Alguns estudos têm demonstrado que a resposta citotóxica contra VIH-2 dependente de células T CD8⁺ ocorre naturalmente *in vivo* e é possível de desencadear reatividade cruzada contra VIH-1⁸⁵. Porém, a sua produção, capacidade de proliferação e citotoxicidade é semelhante nas infeções por VIH-1 e VIH-2, apesar de alguns dados sugerirem que as células CD8⁺ são mais polifuncionais que os presentes na infeção por VIH-1^{81,82}.

Cavaleiro *et al.* ao avaliar os efeitos imunossupressores dos envelopes proteicos de VIH-1, VIH-2 e SIV verificou que, no caso de VIH-2, gp105 apresenta maior capacidade imunossupressora. Os autores sugerem que esta imunossupressão pode ser potencialmente benéfica já que leva a uma menor ativação imunitária e, conseqüentemente, a uma diminuição da taxa de replicação vírica, por comparação com gp120 de VIH-1⁸⁶. Já outros autores descrevem ainda as regiões C2, C3 e V3 do envelope proteico vírico como sendo o alvo *major* de resposta IgG mediada e, desta forma,

responsável por essas propriedades imunossupressoras. Porém, verificam uma correlação inversa entre a resposta IgG contra essas regiões e o número de linfócitos CD4⁺, traduzindo-se essa imunossupressão numa progressão mais acelerada da doença⁸⁷.

VIH-2 aparenta induzir uma produção de anticorpos muito mais abrangente que VIH-1 e parece ter menor capacidade para escapar à eliminação pelos mesmos^{12,13,59}. Aliás, desde cedo se encontrou produção de anticorpos neutralizadores de largo espectro na infecção a VIH-2, mas tal é extremamente raro na infecção a VIH-1⁸⁸. É, no entanto, importante ter em conta que os estudos que têm descoberto essas evidências apresentam algumas limitações¹². A elevada sensibilidade do vírus aos anticorpos pode dever-se à conformação estrutural do envelope vírico e ao menor padrão de glicosilação, o que pode tornar a região V3 mais exposta, o que (como já acima referido) parece conferir maior flexibilidade na utilização de coreceptores por parte de VIH-2, mas também mais facilmente expõe o vírus à ação de anticorpos^{59,89}. A associação entre o estado imunitário do doente e o padrão de glicosilação de outros domínios como V1/V2, parece indicar que quanto menor a taxa de glicosilação desses domínios, maiores os valores de linfócitos T CD4⁺⁵⁹.

Apesar destas diferenças, com a progressão da infecção para estádios de imunossupressão marcada, o diferencial de ativação imunitária entre os dois tipos de VIH deixa de existir¹².

Manifestações clínicas

Como já referido, observa-se um maior período assintomático na infecção por VIH-2. Porém, com o passar do tempo, declínio do número de linfócitos CD4⁺ e na ausência de terapêutica antirretroviral também estes doentes desenvolvem manifestações da doença, tal como acontece com os doentes infetados por VIH-1²⁴. Quando presentes, as manifestações clínicas da infecção por VIH-2, são semelhantes às de VIH-1^{13,24,35}. Condições como tuberculose, candidíase esofágica, toxoplasmose cerebral, doença disseminada a *Mycobacterium avium intracellulare*, criptococcose, criptosporidíase, doença a citomegalovírus, sarcoma de Kaposi, demência associada a VIH, pneumonia bacteriana recorrente e leucoencefalopatia multifocal progressiva têm sido descritas em doentes com VIH-2, sendo que a maioria são atualmente doenças/manifestações definidoras de SIDA^{90,91}.

Observam-se, no entanto, algumas diferenças por comparação a VIH-1, nomeadamente, uma menor incidência de sarcoma de Kaposi^{12,19,35,78} e nefropatia associada a VIH⁹². Verifica-se ainda uma maior incidência de encefalite⁹³, apesar de não ser claro se tal é devido à maior sobrevivência destes indivíduos ou ao facto de VIH-2 ser mais neurotrópico^{13,24,35}, uma maior incidência de tuberculose⁹⁰ e de síndrome de emaciação⁷⁸.

INFEÇÃO DUPLA POR VIH-1 E VIH-2

Compreende-se infeção dupla como a presença conjunta, no mesmo indivíduo, de ADN de VIH-1 e VIH-2¹². Considerando a elevada prevalência de VIH-1 no mundo inteiro e o aumento da sua incidência em países nos quais a infeção por VIH-2 era mais prevalente (principalmente em África Ocidental)^{19,12,29,30}, torna-se importante considerar o risco aumento de desenvolver infeção dupla nessas regiões e as suas implicações imunitárias e de evolução de doença. Nesta região estima-se que a infeção dupla afete entre 0,3 a 1 % da população, sendo, particularmente, frequente na Guiné-Bissau^{13,22,64,96}.

Vários estudos verificaram que a infeção dupla é mais frequente no género feminino, relativamente, ao masculino e que a sua prevalência aumenta com o aumento da idade das mulheres enquanto a prevalência tem uma relação inversa com a idade dos homens⁶⁴.

Em 1995, um estudo *cohort* com trabalhadoras sexuais Senegalesas sugeria a hipótese de que VIH-2 conferia algum grau de protecção contra a coinfeção por VIH-1, com mulheres infetadas com VIH-2, a revelarem menor incidência de VIH-1 que mulheres seronegativas, com um risco relativo de 0,32, apesar de maior incidência de outras doenças sexualmente transmissíveis⁹⁷. Porém, os outros estudos *cohort* realizados na África Ocidental não pareceram demonstrar tal evidência, alguns até descrevendo um maior risco de infeção por VIH-1 em doentes infetados por VIH-2⁹⁸.

Estudos *in vitro*, por outro lado, descrevem a ocorrência de reacção de neutralização cruzada de VIH-1 quando exposto a soro de indivíduos infetados por VIH-2 e a resistência de células polimorfonucleares periféricas (PBMCs) de doentes com VIH-2 à infeção por estirpes de VIH-1. Alguns mecanismos sugeridos para tais achados serão uma maior secreção de β -quimiocinas e inibição da replicação de VIH-1 a nível molecular (quer por competição pelo uso do limitado fator transcripcional ou por influência na montagem e libertação de partículas víricas de VIH-1)¹².

Apesar destas evidências *in vitro*, os dados existentes não parecem apoiar a hipótese de um efeito protetor contra VIH-1 exercido por VIH-2 *in vivo*^{12,99}.

Quando comparados indivíduos com infecção dupla estes apresentam uma mortalidade e evolução clínica semelhante à da infecção por VIH-1, o que permite admitir um prognóstico semelhante a esta última^{12,64}. Outros estudos sugerem que, quando VIH-1 e VIH-2 coexistem VIH-1 supera VIH-2, verificando-se valores de CV de VIH-1 superiores a VIH-2 (que se mantém extremamente baixos ou indetetáveis)¹². De referir que a infecção dupla não tem qualquer impacto na carga vírica de VIH-1 relativamente à infecção isolada por VIH-1¹⁰⁰.

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico diferencial da infecção por VIH é efetuado com base na demonstração da existência de anticorpos dirigidos a antígenos do vírus e dos seus tipos. As recomendações do Center of Disease Control (CDC) atualizadas em 2014 para o diagnóstico de VIH consideram um conjunto de fases e procedimentos para a identificação mais sensível e específica¹⁰¹:

- Inicialmente deverá ser realizado um teste diagnóstico para VIH usando um teste imunoenzimático antígeno/anticorpo de 4ª geração, que detetará quer anticorpos contra VIH-1, como contra VIH-2 e ainda o antígeno p24 de VIH-1. Esta primeira fase tem por objetivo testar para a existência de infecção estabelecida por VIH-1 e/ou VIH-2 ou para a existência de primoinfecção por VIH-1. Se este teste for não reativo não são necessários outros testes¹⁰¹;
- Se o teste imunoenzimático de 4ª geração for reativo (ou repetitivamente reativo) é recomendada a realização de um teste imunoenzimático de diferenciação de anticorpos de VIH-1/VIH-2, que poderá ser negativo, isoladamente positivo para anticorpos de só um dos tipos de VIH ou duplamente positivo (considerando-se um resultado indiferenciado e, portanto, não conclusivo)¹⁰¹;
- Uma terceira fase é aplicada, nos casos de resultado negativo ou indiferenciado na fase prévia, na qual é recomendada a utilização de um teste de deteção de ácidos nucleicos víricos de VIH-1. Um teste reativo confirmará a infecção por VIH-1 (em fase

aguda ou já cronicamente estabelecida) e um teste não reativo provavelmente indicará um resultado falso-positivo no teste imunoenzimático de primeira fase¹⁰¹.

Apesar destas recomendações outros testes podem e são atualmente utilizados para diagnóstico de VIH visto alguns testes recomendados pelo CDC (nomeadamente o teste de ácidos nucleicos víricos e imunoenaios de 4ª geração) apresentarem custos elevados e disponibilidade reduzidas em muitos contextos e regiões geográficas¹⁰¹. De outras alternativas recomendadas inclui-se o uso de testes imunoenzimáticos, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) (que não pesquisam o antigénio p24 de VIH-1) em alternativa a imunoenaios de 4ª geração e o uso de *Western Blot* em alternativa aos testes de ácidos nucleicos víricos^{12,101}.

É importante referir que existe uma clara limitação nos atuais métodos diagnósticos de VIH, visto que nos casos de possível infeção dupla, face à possibilidade de reação humoral cruzada entre VIH-1 e VIH-2, não se podem considerar como infeção dupla todos os resultados positivos, simultaneamente, para VIH-1 e VIH-2 de testes baseados na deteção de anticorpos^{7,24,101}. Idealmente, o seu diagnóstico seria efetuado pelo isolamento de ambos os vírus no mesmo indivíduo ou pela demonstração da presença do ADN provírico de VIH-1 e VIH-2 (teste de deteção de ácidos nucleicos víricos), pela reação em cadeia da polimerase (PCR)^{7,24}. No entanto, o uso desse tipo de testes para identificar VIH-2 é extremamente limitado, face à baixa taxa de deteção do ADN provírico e ARN plasmático pelas técnicas de PCR, e visto não existirem testes comercialmente disponíveis e aprovados para uso geral. A inexistência de um teste aprovado para a quantificação de CV de VIH-2 torna difícil a criação de evidência científica para aplicação destes testes no diagnóstico dos casos dúbios de infeção dupla e na monitorização das infeções por VIH-2^{7,24,101}. Verifica-se uma dependência atual de testes “caseiros” criados e usados em centros médicos ou de investigação, mas cuja aplicação é limitada^{7,24}.

MONITORIZAÇÃO

De uma forma geral, a monitorização da infeção por VIH-2 deve ser baseada em critérios clínicos, imunológicos e víricos, à semelhança do que é realizado com a infeção por VIH-1¹⁰². Os principais marcadores da infeção são a CV e a contagem de linfócitos T CD4⁺⁶⁶.

Outros indicadores de doença parecem existir, como os níveis elevados de β 2-microglobulina e neopterinina, mas são muito pouco usados na prática clínica¹⁰³.

A CV de VIH-2 é, em média, cerca de 28 vezes inferior à de VIH-1⁶⁶, sendo, geralmente, indetetável até que a contagem de linfócitos T CD4⁺ seja inferior a 300×10^6 células/L. Quando detetável, o seu valor parece prever, em parte a progressão da doença e relaciona-se com a mortalidade. Os indivíduos com CV elevada, possuem um risco elevado de redução da contagem de linfócitos T CD4⁺ e morte^{65,74,103,104}. Relativamente à carga provírica, como já foi referido, não se estabelecem diferenças entre as infeções por VIH-1 e VIH-2⁷⁹. A relação que se estabelece entre a carga provírica e a contagem de linfócitos T CD4⁺ é pouco clara, sendo que alguns estudos estabelecem uma relação inversa enquanto outros não^{79,82}.

Já a contagem de linfócitos T CD4⁺ correlaciona-se, inversamente, com a progressão da doença e a CV^{103,104}.

A CV e a contagem de linfócitos T CD4⁺ devem ser, idealmente, interpretadas no seu conjunto para avaliar o estadio imunitário do doente, sendo a contagem de linfócitos T CD4⁺ o único marcador laboratorial quando a CV é indetetável (o que ocorre muito frequentemente na infeção por VIH-2)¹⁰⁴.

Classificação

Atualmente estão em vigor dois sistemas de classificação dos vários estádios de infeção por VIH (independentemente do tipo): o sistema de classificação do CDC e o sistema de classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS).

O sistema de classificação do CDC (revisto, pela última vez, em 1993) avalia a gravidade da infeção por VIH com base em contagem de linfócitos T CD4⁺ e pela presença de condições/manifestações específicas relacionadas com a infeção. A definição de SIDA compreende todos os indivíduos com contagens de linfócitos T CD4⁺ <200 células/ μ L (ou percentagem $<14\%$) bem como todos os que, a dado ponto da infeção, adquiram uma doença/manifestação típica e específica¹⁰⁵.

Tabela 1 - Sistema de classificação do CDC para infecção por VIH em adultos e adolescentes. Adaptado de ¹⁰⁵.

CATEGORIAS DE CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4 ⁺	CATEGORIAS CLÍNICAS		
	A Assintomáticos, Primoinfeção, ou Linfoadenopatia generalizada persistente	B Sintomáticos Condições não “A” ou “C”	C Condições definidoras de SIDA
(1) ≥500 células/μL	A1	B1	C1
(2) 200-499 células/μL	A2	B2	C2
(3) <200 células/μL	A3	B3	C3

As condições que definem as várias categorias clínicas podem ser ler no anexo 1.

Por outro lado, o sistema de classificação da OMS (revisto, pela última vez, em 2007) traz a vantagem de poder ser usado em contextos clínicos com recursos limitados e, como tal, sem acesso a contagem de linfócitos CD4⁺ ou outros métodos laboratoriais. Este sistema permite guiar o diagnóstico, a avaliação clínica e a monitorização dos doentes com VIH, classificando-os em cinco estádios: primoinfeção por VIH e estádios clínicos de 1 a 4 (com progressão de condições clínicas menos grave até SIDA). Este sistema, porém, tem a desvantagem de apenas se basear em apresentação clínica e sintomas, pelo não tem em conta o *status* imunitário do indivíduo infetado¹⁰⁶.

TERAPÊUTICA

A experiência com o uso de terapêutica para tratamento dos doentes infetados com VIH-2 é profundamente limitada. Isto deve-se, em parte, à restrição de distribuição geográfica de VIH-2 a países com menor nível de recursos financeiros passíveis de ser alocados à investigação científica ou ao uso de terapêutica de última linha, e devido ao número de pequeno de casos de VIH-2 por comparação a VIH-1.¹² Não existem, atualmente, ensaios clínicos aleatórios que permitam definir a melhor estratégia terapêutica para esta infecção, sendo que a maioria da evidência tem sido obtida a partir de pequenos estudos *cohort* e relatos de casos^{104,107}.

O uso de terapêutica antirretroviral (TARV) altamente ativa, *highly active antirretroviral therapy*, envolve o uso de pelo menos três agentes farmacológicos antirretrovirais e é atualmente preconizada para a infeção por VIH-2^{12,24,104,108}. Os antirretrovirais existentes podem-se agrupar da seguinte forma: Nucleósidos Inibidores da Transcriptase Reversa (NITRs), Não-nucleósidos Inibidores da Transcriptase Reversa (NNITRs), Inibidores da Protease (IPs), Inibidores da Integrase (IIs) e Inibidores de Entrada (IEs)^{24,104}.

Apesar de VIH-1 e VIH-2 partilharem cerca de 60 % dos aminoácidos codificados no gene *pol* e 50% dos aminoácidos codificados nos genes da protease, sendo a sua transcriptase reversa (TR) e protease (PR) semelhantes^{109,110}, verifica-se que VIH-2 apresenta diferenças significativas na suscetibilidade aos agentes antirretrovirais¹². É já largamente conhecida a resistência natural de VIH-2 a NNITRs, característica atribuída por mutações com substituição de aminoácidos na TR de VIH-2^{111,112}. De igual forma, VIH-2 aparenta ser resistente aos inibidores de entrada, nomeadamente a Enfuvirtide, o primeiro fármaco a ser desenvolvido desta classe, demonstrando uma sensibilidade entre 20 a 100 vezes menor que VIH-1¹⁰⁴. O facto de VIH-2 usar um conjunto mais abrangente de coreceptores parece limitar o benefício clínico deste tipo de fármacos¹¹⁰. Observa-se também menor suscetibilidade a alguns IPs (como amprenavir, atazanavir, tipranavir, indinavir e nelfinavir) por comparação a VIH-1¹¹³. No entanto, a suscetibilidade de base a lopinavir parece ser equivalente¹². O uso de fármacos que potenciem a ação dos IPs, como o ritonavir, parece em parte colmatar a esta eventual suscetibilidade e melhorar a resposta terapêutica ao ponto de se sugerir a introdução destes fármacos em regimes de TARV¹¹⁴.

Para além destas diferenças de suscetibilidade, a resposta de VIH-2 à terapêutica é inferior à esperada e tal reflete-se, principalmente, na recuperação imunológica, a nível de contagem de linfócitos T CD4⁺, que se demonstra menor ou mais lenta^{63,104,108,114}. Um estudo recente procurou, através de uma colaboração europeia de múltiplos cohorts, averiguar qual a resposta da contagem de linfócitos T CD4⁺ à TARV de primeira linha para VIH-1 e VIH-2. Os autores observaram que a mediana de contagem de linfócitos T CD4⁺ em que se iniciava TARV era menor nos indivíduos infetados com VIH-2 (182 células/mm³ versus 224 células/mm³ para VIH-1) e a subida desses valores ao fim de 12 meses de terapêutica também era menor, cerca de 31 células/mm³ a menos que nos indivíduos infetados com VIH-1. Esta menor resposta de VIH-2 à TARV era consistente independentemente dos valores de CV observados¹¹⁵ e pode recomendar o início mais

precoce de TARV, nomeadamente a partir de contagem de linfócitos T CD4⁺ entre os 350-500 células/ μ L¹⁰⁴, sendo que a OMS atualmente recomenda o início de TARV em doentes infetados com VIH (independentemente do tipo) a partir de contagens <350 células/ μ L¹¹⁶.

Recomendações de esquemas terapêuticos para VIH-2

Em 2010 foram publicadas *guidelines* pela *British HIV Association* para o uso de TARV na infeção por VIH-2. Os autores referem que deve iniciada usando dois NITRs e um ou mais IPs, considerando ideais os esquemas com lopinavir+ritonavir ou darunavir+ritonavir com tenofovir ou zidovudina com emtricitabine (vide Tabela 2)¹⁰⁴.

Tabela 2 - Esquemas preferenciais, de primeira linha, para o tratamento da infeção por VIH-2. Deve escolher-se um fármaco de cada coluna. Adaptado de ¹⁰⁴.

Esquema	A	B	C
Preferencial	lopinavir/ritonavir	tenofovir	emtricitabina
Alternativo	darunavir/ritonavir	zidovudina	

Como terapêutica de segunda linha (caso ocorra falência terapêutica) a mudança de fármacos deve ser guiada idealmente pelo estudo das mutações apresentadas pelo vírus. Por isso, é recomendado ponderar a associação de raltegravir e, se necessário, a substituição do IP inicial por saquinavir (vide Tabela 3). Devem ser evitados, em qualquer fase do tratamento, NNITRs, nelfinavir, amprenavir, atazanavir e enfuvirtide¹⁰⁴.

Tabela 3 - Esquemas preferenciais, de segunda linha, para o tratamento da infeção por VIH-2. Adaptado de ¹⁰⁴.

Combinação inicial	Alternativas a ponderar	
2NITRs + lopinavir/ritonavir	2NITRs + raltegravir	darunavir/ritonavir
		saquinavir/ritonavir

MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho propõe-se realizar um estudo retrospectivo de uma *cohort* de indivíduos infetados por VIH-2, com idade superior a 18 anos, seguidos, durante um período de tempo variável, na Consulta de Imunodepressão do Hospital de Santa Maria. Parte dos indivíduos já haviam sido incluídos e os seus dados introduzidos numa base de dados em Microsoft Office Excel[®] 2016. Para realizar esta análise, foram, em primeiro lugar, incluídos mais doentes infetados com VIH-2, não previamente incluídos nessa base de dados, e atualizados os dados da mesma até Março de 2016. Foram recolhidos/atualizados os seguintes dados demográficos, epidemiológicos, clínicos e terapêuticos: data de nascimento, género, naturalidade, tempo de permanência em Portugal, data de diagnóstico da infeção por VIH-2, motivo do teste que levou ao diagnóstico, modo de transmissão da infeção, existência de coinfeções com vírus de hepatites ou VIH-1, data de primeiro e último registo clínico, diagnóstico de doenças oportunistas e relação com África. Assumiu-se como relação com África os seguintes contextos: participação na guerra da independência das anteriores colónias portuguesas, estadia e/ou viagem a países africanos (em particular, aqueles com elevada incidência de infeção por VIH-2^{7,17}), contactos sexuais ou comportamentos de risco em países africanos e/ou com indivíduos provenientes dos mesmos e relação familiar e/ou conjugal com indivíduos naturais ou com período de estadia em países africanos.

Foram também compilados/atualizados os resultados laboratoriais de contagem de linfócitos T CD4⁺ (células/ μ L) e as determinações de CV de VIH-2 (número de cópias de RNA de VIH-2/ mm^3), juntamente com as respetivas datas de determinação. O teste de determinação de CV de VIH-2, usado no seguimento dos doentes apresentou valores mínimos de deteção de cópias de RNA de VIH-2 com limites variáveis. De uma forma aproximada, o limite de deteção de cópias variou do seguinte modo, considerando-se CV indetetável para:

- Valores <500 cópias/ mm^3 , até cerca do ano 2000;
- Valores <200 cópias/ mm^3 , até cerca do ano 2007;
- Valores <40 cópias/ mm^3 , a partir do ano 2007 até à data da realização deste estudo.

Nos indivíduos que iniciaram TARV, esta foi registada paralelamente aos registos de contagens de linfócitos T CD4⁺ e de CV, registando-se os fármacos anti-retrovíricos usados e a data de início e interrupção de cada esquema terapêutico. Para efeitos deste estudo, apenas se registou o uso de determinado esquema de TARV após um período mínimo de dois meses a realizar o mesmo.

Para realizar o estadiamento da infeção foi usado o sistema de classificação do CDC para a infeção por VIH¹⁰⁵. Os indivíduos foram estadiados (se possível) à data do diagnóstico de infeção por VIH-2 e divididos nas seis categorias consoante as manifestações clínicas e a contagem de linfócitos T CD4⁺ (Tabela 1). Os doentes foram, ainda, diagnosticados com SIDA aquando o aparecimento de doenças definidoras (Anexo 1) ou quando apresentavam valores de linfócitos T CD4⁺ <200 células/ μ L, registando-se a data respetiva do diagnóstico.

Em relação ao estado atual de seguimento, foram registados todos os eventos de morte de indivíduos incluídos na base de dados e consideraram-se em *lost to follow up* todos os indivíduos cuja data do último registo clínico era prévia a 2014. O tempo de seguimento de cada indivíduo foi calculado, entre a data de primeiro e último registo clínico (quer esse registo fosse de consulta ou determinação laboratorial), e expresso em meses (30,4375 dias) e anos (12 meses, sendo que nesta conversão realizou-se arredondamento por defeito).

Com o presente estudo procura-se avaliar a evolução imunológica e clínica de indivíduos infetados com VIH-2 e com um período mínimo de seguimento. Como tal, foram considerados como critérios de exclusão, para análise estatística, os indivíduos com um período de seguimento <12 meses e/ou com menos de dois registos de contagem de linfócitos T CD4⁺ e/ou que tenham a dado ponto contraído infeção a VIH-1, sendo, desta forma, excluídos por apresentarem infeção dupla. Foram assim incluídos todos os indivíduos que não apresentassem estes critérios de exclusão, independentemente do seu estado atual de seguimento. Devido às limitações apresentadas para acesso a determinação de CV de VIH-2^{7,24,101} não foram excluídos indivíduos com base no número de registos de CV de VIH-2, realizando-se análise de subgrupo nos indivíduos que apresentavam determinações de CV de VIH-2.

Dividiram-se os indivíduos em estudo em dois grupos consoante a sua exposição a terapêutica antirretroviral. Devido à existência de indivíduos com má adesão à terapêutica

prescrita ou abandono muito precoce da mesma, bem como a existência de mulheres que são submetidas a terapêutica por períodos curtos para diminuição da transmissão vertical, apenas se incluíram no grupo sob terapêutica os indivíduos a realizar um esquema terapêutico durante pelo menos um ano de evolução. No grupo sem terapêutica (*treatment-naive*), incluíram-se os doentes nunca submetidos a nenhum esquema terapêutico ou submetidos por períodos de tempo inferiores a um ano.

O registo e tratamento de dados foi realizado recorrendo a Microsoft Office Excel® 2016 e a análise estatística recorrendo a IBM SPSS Statistics® 23. As variáveis categóricas foram avaliadas usando percentagens, e as variáveis contínuas através de média e/ou mediana, desvio padrão, amplitude entre quartis, valor mínimo e valor máximo. Definiu-se um intervalo de confiança de 95% para a média. As diferenças entre variáveis foram aferidas utilizando o teste Qui-Quadrado de Person, para as variáveis categóricas, e o teste de Mann-Whitney, para as variáveis contínuas. Para avaliação de diferenças entre valores de contagens de linfócitos T CD4⁺ durante o tempo de seguimento sem estar sob TARV e após início de TARV utilizou-se o teste T de Wilcoxon para amostras pareadas. O limite para significância estatística foi estabelecido nos 5%, correspondendo a um *p-value* < 0,05.

RESULTADOS

INTRODUÇÃO

Foram recolhidos dados de 166 indivíduos infetados por VIH-2. Após a aplicação dos critérios de exclusão, 29 indivíduos foram excluídos da análise final:

- Oito indivíduos foram excluídos por apresentarem tempo de seguimento inferior a 12 meses. Destes, três (37,5%) eram homens e cinco (62,5%) eram mulheres;
- Um indivíduo do género feminino foi excluído por apresentar menos de dois registos de contagem de linfócitos T CD4⁺;
- 19 indivíduos foram excluídos por apresentarem, simultaneamente, um tempo de seguimento inferior a 12 meses e menos de dois registos de contagem de linfócitos T CD4⁺. Destes, seis (31,6%) eram homens e 13 (68,4%) eram mulheres;
- Um indivíduo do género masculino foi excluído por apresentar infeção dupla por VIH-1 e VIH-2.

Foram, desta forma, incluídos 137 indivíduos infetados por VIH-2 neste estudo.

DADOS DEMOGRÁFICOS

Dos 137 indivíduos infetados por VIH-2, 97 eram do género feminino (70,8%) e 40 eram do género masculino (29,2%), com uma razão mulher/homem de 2,425.

A média de idade à data da realização deste estudo foi de $56,54 \pm 2,06$ anos, com um desvio padrão de 12,185, um mínimo de 23 anos, um máximo de 87 anos e uma mediana de 56 anos, observando-se, na Figura 3, a distribuição de idades por faixa etária. No género masculino, a média de idade foi de $60,3 \pm 4,0$ anos, com um desvio padrão de 12,511, um mínimo de 33 anos, um máximo de 87 anos e uma mediana de 63,5 anos. No género feminino a média de idade foi de $54,99 \pm 2,37$ anos, com um desvio padrão de 11,766, um mínimo de 23 anos, um máximo de 80 anos e uma mediana de 54 anos. Pelo teste de Mann-Whitney conclui-se com significância estatística que a idade à data de realização do estudo é maior nos indivíduos do género masculino do que nos indivíduos do género feminino ($U = 1418,5; p = 0,013509$).

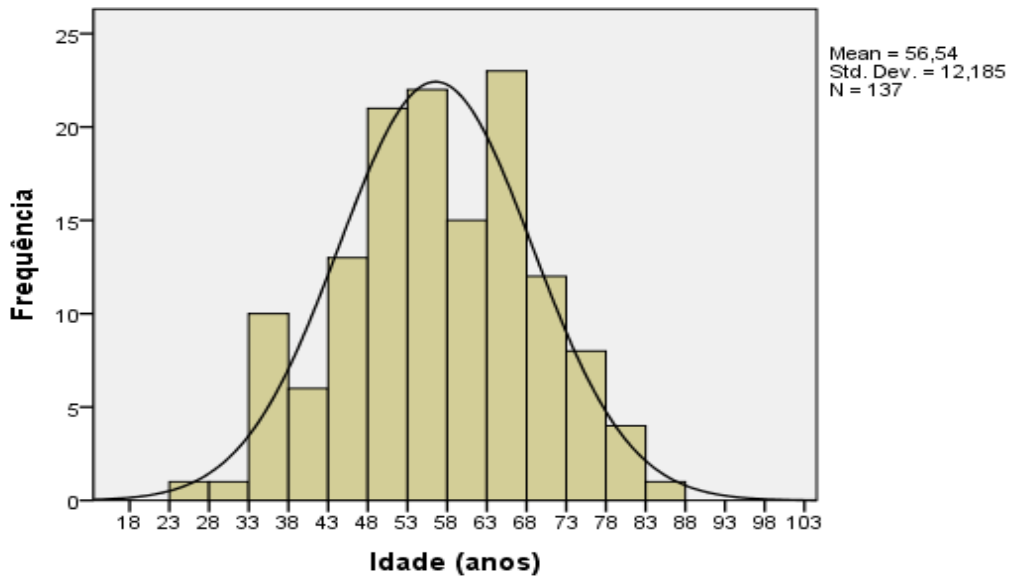


Figura 3 - Frequências de idades à data de realização do estudo por faixas etárias

A mediana de idades, à data de diagnóstico de infecção por VIH-2, foi de $40,68 \pm 2,04$ anos, com um desvio padrão de 12,067, um mínimo de seis anos, um máximo de 67 anos e uma mediana de 40 anos, observando-se, na Figura 4, a distribuição de idades por faixa etária. No género masculino, a média de idade foi de $43,38 \pm 3,89$ anos, com um desvio padrão de 12,133, um mínimo de seis anos, um máximo de 63 anos e uma mediana de 45,5 anos. No género feminino, a média de idade foi de $39,57 \pm 2,41$ anos, com um desvio padrão de 11,925, um mínimo de 14 anos, um máximo de 67 anos e uma mediana de 38 anos. Pelo teste de Mann-Whitney conclui-se com significância estatística que a idade à data de diagnóstico de infecção por VIH-2, é maior nos indivíduos do género masculino do que nos indivíduos do género feminino ($U = 1503$; $p = 0,038431$).

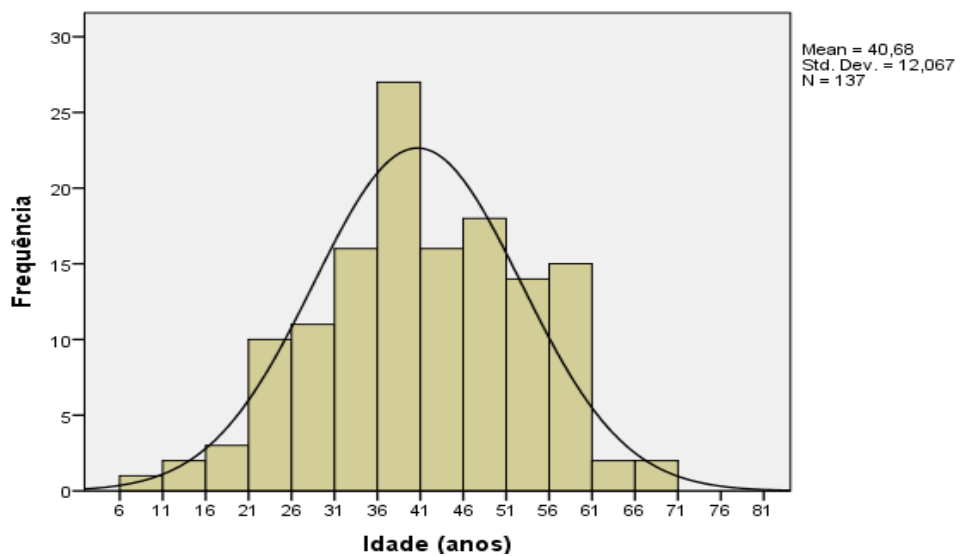


Figura 4 - Frequências de idades à data de diagnóstico de infecção por VIH-2 por faixas etárias

Relativamente à naturalidade dos indivíduos em estudo, era desconhecida a naturalidade de 10 indivíduos (7,3%), 72 eram naturais de Guiné-Bissau (52,6%), 36 de Portugal (26,3%), 13 de Cabo Verde (9,5%), três de Angola (2,2%) e três de Moçambique (2,2%).

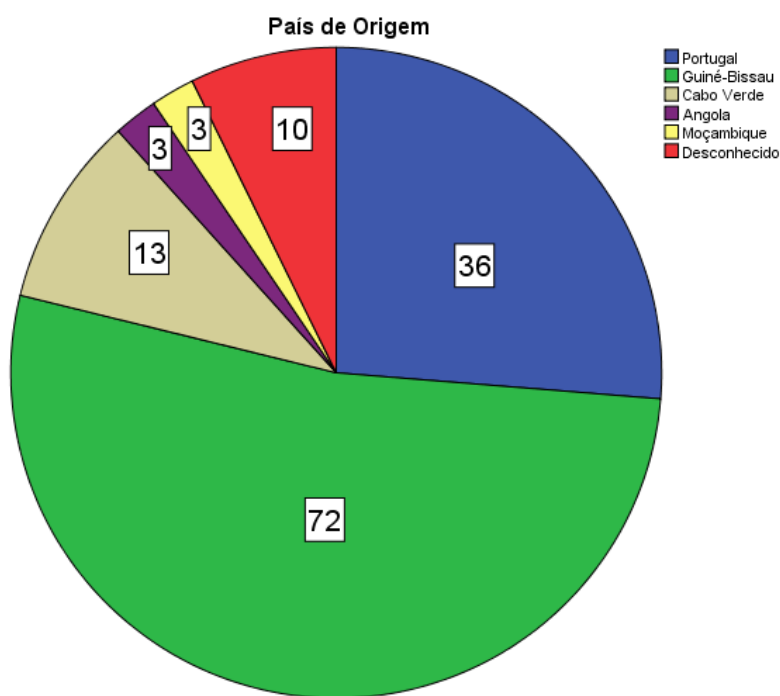


Figura 5 - País de origem dos indivíduos infectados por VIH-2

Dos 36 indivíduos de naturalidade portuguesa, cerca de 12 (33%) apresentam algum tipo de relação (direta ou indireta) com a região africana, desconhecendo-se essa relação nos restantes.

Dos 91 indivíduos de naturalidade não portuguesa e não desconhecida, desconhece-se a data de vinda ou de permanência mais fixa em Portugal em 16 indivíduos (17,6%). Dos 75 indivíduos (82,4%) em que se conhece uma data aproximada para a vinda para Portugal, a data mediana é 1998, com o primeiro indivíduo a vir para Portugal em 1958 e o último em 2011.

DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Relativamente ao ano de diagnóstico de infeção por VIH-2, verifica-se que a data mediana de diagnóstico se situa perto do ano 2001, com o primeiro diagnóstico em 1989 e o último diagnóstico em 2010. Para os indivíduos provenientes de países africanos (n=91; 66,4%) a data mediana de diagnóstico situou-se no ano 2002, enquanto que para os indivíduos naturais de Portugal (n=36; 26,3%) a data mediana de diagnóstico situou-se no ano 1996 e para os indivíduos naturais de Guiné-Bissau (n=72; 52,6%) a data mediana de diagnóstico situou-se no ano 2003.

Na Figura 6 é possível observar a distribuição de diagnósticos da infeção por VIH-2 ao longo dos anos, discriminando para os três países com maior incidência de diagnóstico, Portugal, Guiné-Bissau e Cabo Verde, agrupando os restantes países com uma percentagem de diagnósticos igual ou menor a 10% do total e ainda representando os diagnósticos de indivíduos cuja naturalidade é desconhecida. Na Figura 7 é possível observar a distribuição de diagnósticos da infeção por VIH-2 ao longo dos anos, apenas representando os diagnósticos de indivíduos com origem em Portugal e Guiné-Bissau.

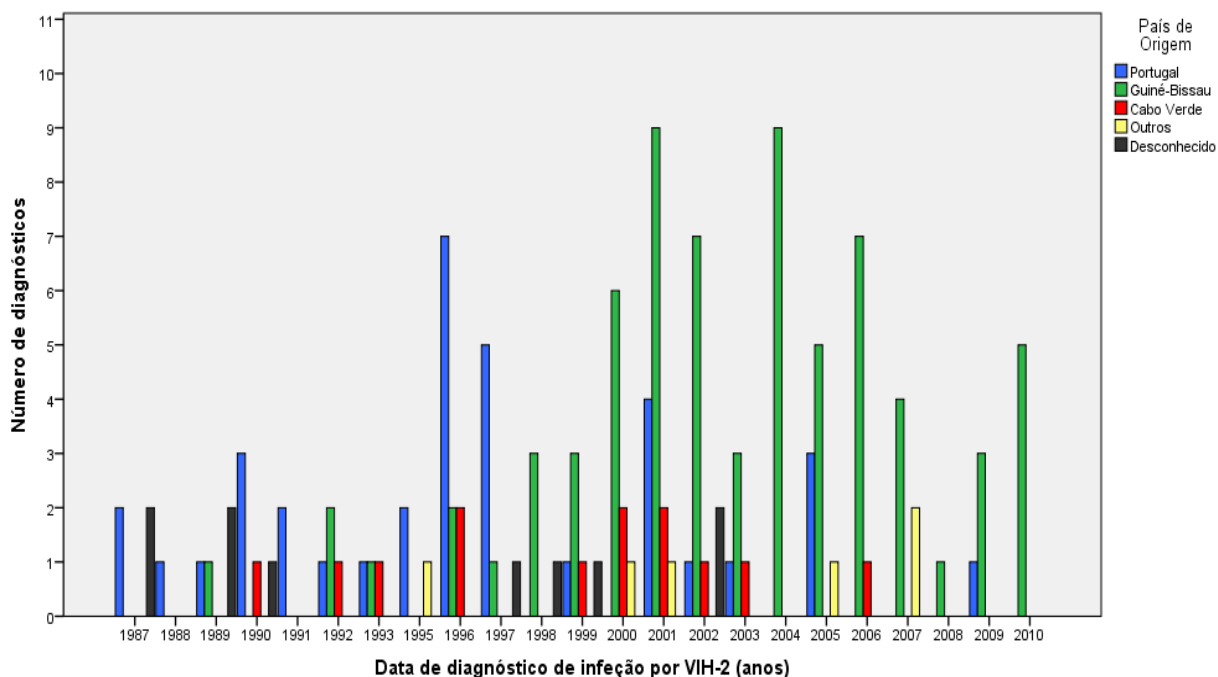


Figura 6 - Distribuição temporal de diagnósticos de infeções por VIH-2 por ano e por país de origem.

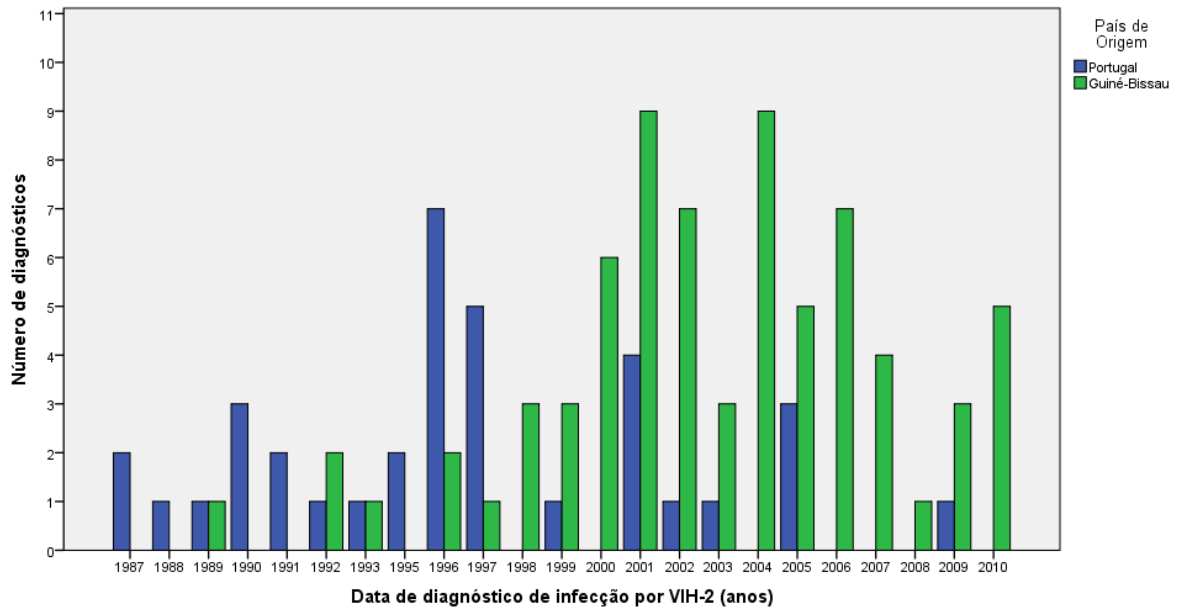


Figura 7 - Distribuição temporal de diagnósticos de infeções por VIH-2 por ano de indivíduos naturais de Portugal e Guiné-Bissau.

Procurou-se, ainda, avaliar a mais provável via de transmissão da infeção, tendo sido possível estabelecer uma causa provável em 106 indivíduos. A forma mais comum de transmissão foi por contacto heterossexual, com 90 indivíduos (65,7%), seguindo-se as transfusões não relacionadas com hemofilia, com nove indivíduos (6,6%) e a transmissão vertical, com três indivíduos (2,2%). (Figura 8)

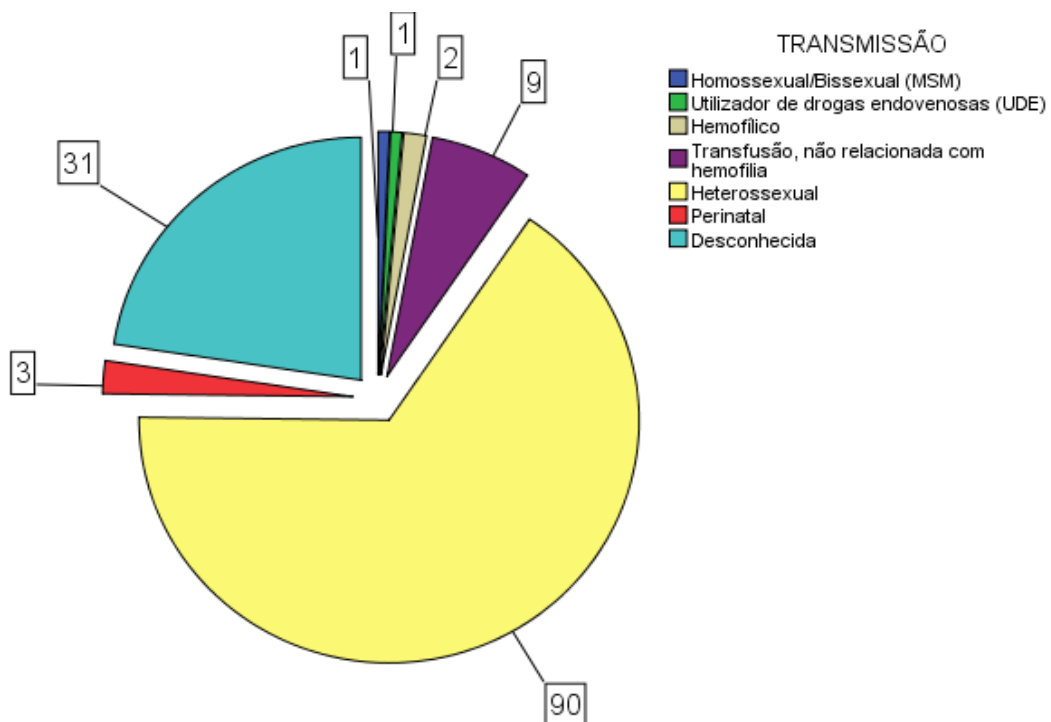


Figura 8 - Via de transmissão mais provável, nos indivíduos infetados por VIH-2.

Outras causas menos comuns foram: transfusões não relacionadas com doentes hemofílicos, com dois indivíduos (1,5%), contacto homossexual/bissexual (*men who have sex with men*, MSM) com apenas um indivíduo (0,7%) e transmissão em utilizador de drogas por via endovenosa (UDE), com apenas um indivíduo (0,7%) (Figura 8). Em 31 indivíduos (22,6%) a via de transmissão da infeção por VIH-2 é desconhecida.

Muitas das infeções foram diagnosticadas após avaliações de rotina (23 indivíduos, 16,8%), por gravidez (18 mulheres, 13,1%) ou pela seropositividade de cônjuge/parceiro(a) (17 indivíduos, 12,4%). Entre outros motivos para o diagnóstico incluem-se: tuberculose (oito indivíduos, 5,8%), dádiva de sangue (sete indivíduos, 5,1%), trombocitopenia (cinco indivíduos, 3,6%), anemia (três indivíduos, 2,2%) e transfusão sanguínea (três indivíduos, 2,2%).

Os restantes motivos perfazem um total de 19,7% dos casos (27 indivíduos), desconhecendo-se o motivo de teste em 26 indivíduos (19,0 %). Na Tabela 4 observa-se a listagem de motivos para a realização de teste de diagnóstico para a infeção por VIH-2, contabilizando-se o número correspondente de indivíduos.

Tabela 4 - Motivo para realização de teste de diagnóstico para infecção por VIH-2.

Motivo do teste	Frequências	
	N	%
Adenopatias	1	0,7%
Anemia	3	2,2%
Acidente vascular cerebral	1	0,7%
Cônjuge/parceiro(a) positivo(a)	17	12,4%
Dádiva sangue	7	5,1%
Desconhecido	26	19,0%
Diarreia	2	1,5%
Gravidez	18	13,1%
Hemofilia	2	1,5%
Herpes <i>simplex</i> disseminado	1	0,7%
Zona	1	0,7%
Infeção urinária	1	0,7%
Interrupção voluntária da gravidez	1	0,7%
Lesões cutâneas	1	0,7%
Leucopenia	2	1,5%
Meningite	1	0,7%
Progenitor infetado por VIH-2	2	1,5%
Pancitopenia	1	0,7%
Pneumonia	1	0,7%
Cirurgia	1	0,7%
Prostituição	1	0,7%
Rotina	23	16,8%
Síndrome de Loeffler	1	0,7%
Sarcoma células dendríticas	1	0,7%
Sífilis	1	0,7%
Síndrome febril	1	0,7%
Toxoplasmose cerebral	1	0,7%
Transfusão	3	2,2%
Trombocitopenia	5	3,6%
Tuberculose	8	5,8%
Uveíte	1	0,7%
Violação	1	0,7%

Em relação à presença de coinfeções, avaliou-se a presença ou não de infecção por vírus de hepatites, não sendo possível obter essa informação em cerca de 71 indivíduos (51,8%). Dos restantes 66 indivíduos (48,2% do total), 25 (37,9%) não apresentavam qualquer coinfeção, 29 (43,9%) apresentavam infecção pelo vírus de hepatite B e 12 (18,2%) apresentavam infecção pelo vírus de hepatite C.

DADOS DE SEGUIMENTO

O tempo de seguimento dos indivíduos infetados por VIH-2 e introduzidos neste estudo variou entre 12 meses (um ano) e 295 meses (24 anos e sete meses), com uma média de $122,6 \pm 1,6$ meses, um desvio padrão de 74,3 meses (seis anos e dois meses), uma mediana de 114 meses (nove anos e seis meses) e uma amplitude interquartil de 64 a 169 meses (cinco anos e quatro meses a 14 anos e um mês).

Em relação aos 40 indivíduos do género masculino, o seu tempo de seguimento variou entre os 12 meses (um ano) e os 291 meses (24 anos e três meses), com uma média de $110,7 \pm 23$ meses, com um desvio padrão de 71,9 meses (cinco anos e 11 meses) e uma mediana de 90 meses (sete anos e seis meses). Relativamente aos 97 indivíduos do género feminino, o seu tempo de seguimento variou entre os 12 meses (um ano) e os 295 meses (24 anos e sete meses), com uma média de $127,5 \pm 15,1$ meses, com um desvio padrão de 75,1 meses (seis anos e três meses) e uma mediana de 118 meses (nove anos e 10 meses). Pelo teste de Mann-Whitney conclui-se que não há diferença estatística significativa entre o tempo de seguimento dos indivíduos do género feminino com o género masculino ($U = 1692$; $p = 0,240371$)

Em relação ao estado atual de seguimento, 71 indivíduos (51,8%) encontravam-se em *follow up*, 51 indivíduos (37,2%) apresentavam o seu último registo clínico previamente a 2014 e, portanto, foram considerados como *lost to follow up*, e 15 indivíduos (10,9%) haviam falecido.

Tabela 5 - Frequência do estado atual de seguimento dos 137 indivíduos infetados com VIH-2, discriminando para o género.

		Género		Total	
		Masculino	Feminino		
Estado atual de seguimento	Follow up	N	12	59	71
		%	30,0%	60,8%	51,8%
	Lost to follow up	N	19	32	51
		%	47,5%	33,0%	37,2%
	Falecido	N	9	6	15
		%	22,5%	6,2%	10,9%

Discriminando para o género dos indivíduos (tabela 5), dos 40 homens, 12 (30%) encontravam-se em *follow up*, 19 (47,5%) encontravam-se em *lost to follow up*, e nove (22,5%) haviam falecido. Das 97 mulheres, 59 (60,8%) encontravam-se em *follow up*, 32 (33%) encontravam-se em *lost to follow up*, e seis (6,2%) haviam falecido (Tabela 5).

Para análise por teste de Qui-Quadrado de Pearson comparou-se o estado atual de seguimento (considerando os indivíduos mortos como *lost to follow up*) com o género dos indivíduos e verificou-se que o género do indivíduo e o estado atual de seguimento são duas variáveis correlacionadas entre si com significância estatística ($p = 0,001027$). Comparou-se ainda (pelo mesmo teste estatístico) a mortalidade com o género dos indivíduos verificando-se, igualmente, uma correlação estatisticamente significativa ($p = 0,005428$).

Dos indivíduos falecidos apenas se conhecia, com algum grau de certeza, a causa de morte em quatro indivíduos (2,9%): três faleceram por complicações de patologia oncológica em estadio terminal e um faleceu por choque séptico com isolamentos bacterianos múltiplos.

DADOS CLÍNICOS

Dados gerais

A média da primeira contagem (*baseline*) de linfócitos T CD4⁺ foi de $544,7 \pm 65,7$ células/ μ L, com uma mediana de 471 células/ μ L, uma amplitude interquartil de 249,5 a 767 células/ μ L, um desvio padrão de 388,9 células/ μ L, um mínimo de 13 células/ μ L e um máximo de 1925 células/ μ L.

Agrupando estes dados em função do género do indivíduo verificamos que o género masculino apresenta uma média na *baseline* de linfócitos T CD4⁺ de $398,4 \pm 101,1$ células/ μ L, com uma mediana de 312 células/ μ L, uma amplitude interquartil de 162,8 a 609,8 células/ μ L, um desvio padrão de 316 células/ μ L, um mínimo de 15 células/ μ L e um máximo de 1440 células/ μ L. Já para o género feminino, verificamos uma média na *baseline* de linfócitos T CD4⁺ de $605 \pm 80,9$ células/ μ L, com uma mediana de 520

células/ μL , uma amplitude interquartil de 289,5 a 829 células/ μL , um desvio padrão de 401,3 células/ μL , um mínimo de 13 células/ μL e um máximo de 1925 células/ μL .

Pelo teste de Mann-Whitney conclui-se com significância estatística que a primeira contagem de linfócitos T CD4⁺ é mais elevada nos indivíduos do género feminino do que nos indivíduos do género masculino ($p = 0,002447$).

Estratificando os 137 indivíduos a partir da contagem de linfócitos T CD4⁺ na *baseline* verifica-se que a maioria relativa, 64 indivíduos (46,7%), apresenta valor superior a 500 células/ μL , 48 indivíduos (35%) apresenta valor entre 200 e 500 células/ μL , e 25 indivíduos (18,5%) apresenta valor inferior a 200 células/ μL (Tabela 6).

Pelo teste de Qui-Quadrado de Pearson, verifica-se que existe uma associação estatisticamente significativa entre o género do indivíduo e a sua estratificação por contagem de linfócitos T CD4⁺ na *baseline* ($p = 0,003790$) (Anexo 2).

Tabela 6 - Estratificação dos indivíduos infetados por VIH-2 por contagem de linfócitos T CD4⁺ na *baseline* e por género.

		Género		Total	
		Masculino	Feminino		
Contagem Linfócitos T CD4 ⁺ (<i>baseline</i>)	≥ 500 células/ μL	N	11	53	64
		%	8,0%	38,7%	46,7%
	200 a 499 células/ μL	N	16	32	48
		%	11,7%	23,4%	35%
	≤ 199 células/ μL	N	13	12	25
		%	9,5%	8,8%	18,2%

Avaliando os registos clínicos dos indivíduos em estudo e aplicando o sistema de classificação do CDC para a infeção por VIH, já acima referido, foi possível saber o estadio de infeção por VIH-2, aquando do diagnóstico da mesma, em apenas 47 indivíduos (29,9%) dos 137 incluídos neste estudo. A frequência de distribuição pelos vários estádios e a respetiva percentagem pode ser lida na Tabela 7.

Tabela 7 - Estadio de infeção por VIH-2 aquando do diagnóstico com base no sistema de classifica o do CDC ¹⁰⁴.

	Frequências	
	N	%
A1	18	13,1%
A2	5	3,6%
A3	1	0,7%
B1	0	0%
B2	6	4,4%
B3	3	2,2%
C1	1	0,7%
C2	3	2,2%
C3	4	2,9%
Desconhecido	96	70,1%
	137	100,0%

Destes 137 indivíduos incluídos no estudo, 76 (55,5%) foram agrupados no grupo submetido a TARV e 61 (44,5%) foram agrupados no grupo não submetido a TARV (*treatment-naive*). No grupo *treatment-naive* incluíram-se 11 mulheres (18%) que realizaram TARV por um período de tempo inferior a um ano no contexto de gravidez.

Evolu o imunológica

Para avaliar a história natural da doença do ponto de vista imunológico procedeu-se   observa o dos dados de contagens de linfócitos T CD4⁺ dos indivíduos submetidos a terapêutica antirretroviral (desde a data de início de seguimento até   data de início da terapêutica) e dos indivíduos considerados *treatment-naive*. Analisaram-se, assim, os dados de 105 indivíduos (excluindo-se aqueles que iniciaram imediatamente TARV), com um total de 1818 observa es (Figura 9).

O tempo mediano de seguimento sem terapêutica destes 105 indivíduos nesta análise foi de 86,8 meses, com uma amplitude interquartil de 25 a 152,1 meses. Se analisarmos unicamente os 61 indivíduos *treatment-naive* verificamos que estes têm um tempo mediano de seguimento de 105,7 meses, com uma amplitude interquartil de 58,7 a 173,6 meses. Já os 44 indivíduos que eventualmente realizaram TARV, tiveram um tempo, tempo mediano de seguimento de 32,5 meses, com uma amplitude interquartil de 10,3 a 99,3 meses até início de terapêutica. Por recurso a teste de Mann-Whitney verifica-se que

o tempo de seguimento estatisticamente e significativamente maior nos indivíduos *treatment-naive* ($U = 697$; $p = 0,000028$).

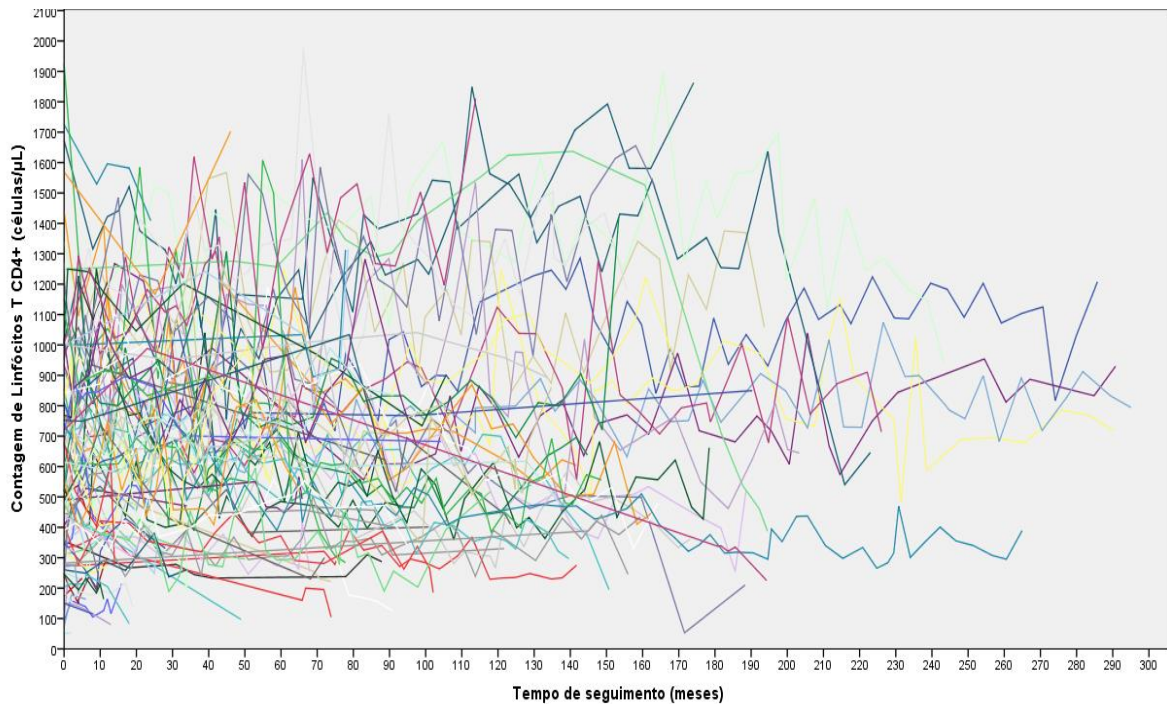


Figura 9 - Evolução das contagens de linfócitos T CD4+ ao longo do tempo de seguimento sem realizar terapêutica antirretroviral. Cada linha representa um indivíduo.

Na Tabela 8 compara-se a contagem de linfócitos T CD4⁺ destes 105 indivíduos, durante o seu seguimento sem TARV, na *baseline*, com o valor mais baixo de contagem de linfócitos T CD4⁺ (*nadir*) atingido e o último valor registado (*endline*), discriminando para o género dos indivíduos. Por teste T de Wilcoxon (Anexo 3) verifica-se que:

- 63 indivíduos (60%) têm um valor de *baseline* superior ao valor de *endline*, 40 (38,1%) têm um valor de *baseline* inferior ao valor de *endline* e dois (1,9%) têm contagens semelhantes. Existe uma descida estatisticamente significativa entre o valor de *baseline* e o valor de *endline* ($Z = -2,298 / p = 0,021561$);
- Quase a totalidade dos indivíduos (83,7%) tem um valor de *baseline* superior ao valor de *nadir*, sendo que em 15 (14,3%) o valor de *baseline* corresponde ao seu valor de *nadir*;
- 70 indivíduos (66,7%) têm um valor *endline* superior ao valor de *nadir* e 35 (33,3%) o seu valor de *endline* corresponde ao seu valor de *nadir*.

Tabela 8 - Análise descritiva e comparativa entre o valor de baseline, de nadir e de endline dos 105 indivíduos que durante o seu seguimento estiveram treatment-naive, discriminando para o género.

		Baseline (células/ μ L)	Nadir (células/ μ L)	Endline (células/ μ L)
Masculino	N	27	27	27
	Média	489,1	331	442,3
	Mediana	438	276	370
	Desvio Padrão	332,5	203,1	269
	Mínimo	43	43	43
	Máximo	1440	847	1058
Feminino	N	78	78	78
	Média	692,8	449,9	608,3
	Mediana	608,5	388,3	479,7
	Desvio Padrão	393,7	288	437,1
	Mínimo	61	50	54
	Máximo	1925	1409	1862,6
Total	N	105	105	105
	Média	640,4	419,3	565,6
	Desvio Padrão	387,8	272,9	406
	Mínimo	43	43	43
	Quartil 25	334	226	268
	Mediana	567	360	468
	Quartil 75	861,5	567,2	781,2
	Máximo	1925	1409	1862,6

Discriminando para os dois grupos de indivíduos (*treatment-naive* e sob TARV), e por recurso a teste de Mann-Whitney, verifica-se que os valores de contagens de linfócitos T CD4⁺ são mais elevados nos indivíduos *treatment-naive* do que nos indivíduos que irão iniciar TARV, na *baseline* ($U = 608,5$; $p = 0,000002$), *nadir* ($U = 385,5$; $p = 0,000000$) e *endline* ($U = 295$; $p = 0,000000$), com significância estatística.

Pela avaliação dos dados da Tabela 8, e por recurso a teste de Mann-Whitney, verifica-se que os valores de contagens de linfócitos T CD4⁺ são, de uma forma geral, mais elevados nos indivíduos do género feminino por comparação ao género masculino, na *baseline* ($U = 702,5$; $p = 0,010175$), *nadir* ($U = 807$; $p = 0,071288$) e *endline* ($U = 856$; $p = 0,148635$). Porém, apenas a diferença observada na *baseline* é estatisticamente significativa.

Avaliação de efeitos imunológicos de TARV

Para avaliação do efeito da terapêutica antirretroviral sob a evolução imunológica procedeu-se à observação dos dados de contagens de linfócitos T CD4⁺ dos indivíduos submetidos a terapêutica antirretroviral desde o momento em que a iniciaram até ao final do seu seguimento, não discriminando para o esquema terapêutico utilizado. Considerou-se, assim, os dados de 76 indivíduos, com um total de 1867 observações (Figura 10).

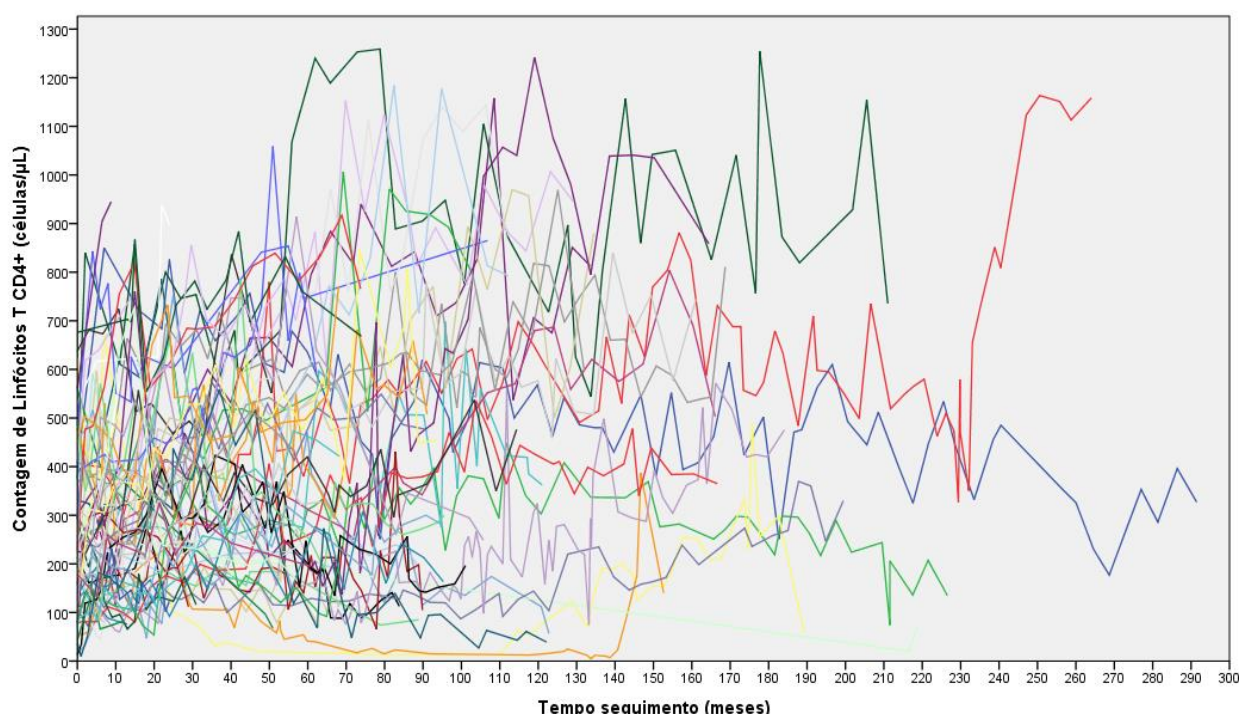


Figura 10 - Evolução das contagens de linfócitos T CD4⁺ ao longo do tempo de seguimento após início de terapêutica antirretroviral. Cada linha representa um indivíduo.

Na Tabela 9 compara-se a contagem de linfócitos T CD4⁺ destes 76 indivíduos, durante o seu seguimento a partir do momento em que iniciaram TARV. Considerou-se como *baseline* o primeiro valor obtido imediatamente antes do início de TARV, como *nadir* o valor mais baixo de contagem de linfócitos T CD4⁺ atingido, e como *endline* o último valor registado discriminando para o género dos indivíduos. Por teste T de Wilcoxon (Anexo 4) verifica-se que:

- 52 indivíduos (68,4%) têm um valor de *endline* superior ao valor de *baseline* e 24 (31,6%) têm um valor de *baseline* superior ao valor de *endline*. Existe uma subida estatisticamente significativa entre o valor de *baseline* e o valor de *endline* ($Z = -4,308 / p = 0,000017$);

- 57 indivíduos (75%) têm um valor de *baseline* superior ao valor de *nadir*, sendo que para 19 (25%) o valor de *baseline* corresponde ao seu valor de *nadir*;
- 67 (88,2%) indivíduos têm um valor *endline* superior ao valor de *nadir* e, para 9 (11,8%) o seu valor de *endline* corresponde ao seu valor de *nadir*.

Tabela 9 - Análise descritiva e comparativa entre o valor de *baseline*, de *nadir* e de *endline* dos 76 indivíduos submetidos a terapêutica antirretroviral, discriminando para o gênero.

		Baseline (células/ μ L)	Nadir (células/ μ L)	Endline (células/ μ L)
Masculino	N	24	24	24
	Média	207,0	127,2	269,5
	Mediana	178	99,5	194,4
	Desvio Padrão	137,8	88,8	240,4
	Mínimo	15	13	57
	Máximo	624	376	879,8
Feminino	N	52	52	52
	Média	291	207,7	488,2
	Mediana	253,5	175,3	476,7
	Desvio Padrão	162,8	148,1	286,9
	Mínimo	13	5	39
	Máximo	676	561	1158,4
Total	N	76	76	76
	Média	264,5	182,3	419,1
	Desvio Padrão	159,3	136,9	290,1
	Mínimo	13	5	39
	Quartil 25	144	76,5	155,6
	Mediana	232	164	363,7
	Quartil 75	374,5	239,3	703,2
Máximo	676	561	1158,4	

Pela avaliação dos dados da Tabela 9 e por recurso a teste de Mann-Whitney verifica-se que os valores de contagens de linfócitos T CD4⁺ são, de uma forma estatisticamente significativa, mais elevados nos indivíduos do gênero feminino por comparação ao gênero masculino, na *baseline* ($U = 424,5$; $p = 0,025779$), *nadir* ($U = 419,5$; $p = 0,022289$) e *endline* ($U = 340$; $p = 0,001505$).

Entre os 76 indivíduos introduzidos no grupo terapêutico, o tempo de seguimento, mediano, desde o início de seguimento até ao início de TARV foi de 4,5 meses, com um mínimo de 0 meses, um máximo de 194 meses, quartil 25 de 0 meses e quartil 75 de 47,25 meses. Verifica-se que 32 indivíduos (42,1%) iniciaram TARV aquando do início do seu seguimento. Pelo teste de Mann-Whitney verifica-se que não existe diferença estatisticamente significativa do tempo de seguimento até início de TARV entre os indivíduos do género masculino e feminino ($p = 0,086618$).

Carga viral

Dos 137 indivíduos introduzidos neste estudo, 113 (82,5%) apresentavam pelo menos um registo de carga viral de VIH-2 num total de 781 determinações. Registou-se uma mediana de cinco determinações por doente, com mínimo de uma determinação e máximo de 21 determinações. Na Tabela 11 encontra-se descrita a distribuição da quantidade de requisições de quantificação da carga viral por indivíduo.

Tabela 100 - Quantificação de registos de cargas virais por indivíduo infetado pelo VIH-2 incluído no estudo.

Registos de cargas virais	Frequências	
	N	%
0	24	17,5%
1	17	12,4%
2-5	40	29,2%
6-10	31	22,6%
11-15	18	13,1%
16-20	6	4,4%
>20	1	0,7%
	137	100,0%

Verifica-se que das 781 determinações de CV de VIH-2, 621 (79,5%) eram indetetáveis e 65 (8,3%) acima de 2000 cópias/mL. Quando detetáveis, as determinações de CV's apresentaram uma mediana de 1194,5 cópias/mL, um mínimo de 50 cópias/mL, um máximo de 252292 cópias/mL e uma amplitude interquartil de 234 a 5484 cópias/mL.

Doenças definidoras de SIDA

Dos 137 indivíduos incluídos no estudo, 57 (41,6%) progrediram para SIDA. Destes, 39 (68,4%) desenvolveram, pelo menos, uma doença definidora de SIDA, sendo que alguns indivíduos desenvolveram mais do que uma doença definidora de SIDA durante o seu seguimento. Verifica-se que os eventos definidores de SIDA mais frequentes foram a tuberculose extrapulmonar e linfomas, seguido da tuberculose pulmonar e de cancro do colo do útero (Tabela 10).

Tabela 111 - Doenças definidoras de SIDA que se registaram durante o seguimento dos 137 indivíduos incluídos no estudo.

Doença definidora de SIDA	N	%
Tuberculose pulmonar	8	16,0
Tuberculose extrapulmonar	9	18,0
Linfoma	9	18,0
Sarcoma de Kaposi	1	2,0
Critosporidiose, microsporidiose ou histoplasmose	2	4,0
Isosporidose	1	2,0
Toxoplasmose do sistema nervoso central	4	8,0
Candidose esofágica	4	8,0
Leucoencefalopatia multifocal progressiva	3	6,0
Herpes <i>simplex</i> disseminado	1	2,0
Pneumonia a <i>Pneumocystis jirovecii</i>	2	4,0
Pneumonia bacteriana recorrente	1	2,0
Cancro do colo do útero	5	10,0
TOTAL	50	100%

Grupos de progressão clínica

Procurou-se dividir os 137 indivíduos incluídos neste estudo em vários grupos de progressão clínica, nomeadamente: Progressão normal de doença (*progressors*), LTNP-NC, LTNP-VC e LTNP-EC. Como na literatura se verifica alguma variabilidade nas definições destes grupos, decidiu-se avaliar a distribuição dos 137 indivíduos usando quer

os critérios mais conservadores para definição de LTNP (que assumem a necessidade de um tempo mínimo de seguimento de 10 anos e contagem de linfócitos T CD4⁺ não inferior a 500 células/ μ L), quer os critérios mais inclusivos (que definem um tempo mínimo de seguimento de sete anos e contagem de linfócitos T CD4⁺ não inferior a 300 células/ μ L).

Como tal, consideraram-se como *progressors* todos os indivíduos que antes de completarem 10 anos de seguimento (ou, com os critérios mais inclusivos, sete anos) desenvolveram uma doença definidora de SIDA e/ou iniciaram TARV e/ou apresentaram pelo menos um valor de contagem de linfócitos T CD4⁺ inferior a 500 células/ μ L (ou, com os critérios mais inclusivos, inferior a 350 células/ μ L) e/ou apresentaram pelo menos uma determinação de CV superior a 2000 cópias/mL. Os restantes grupos foram definidos na introdução teórica deste trabalho (página 19). Aqueles indivíduos com um tempo de seguimento inferior a 10 anos (ou, com os critérios mais inclusivos, sete anos) e sem nenhum dos critérios definidores de progressão de doença acima referidos foram considerados como tendo uma progressão clínica indeterminada, bem como os indivíduos sem nenhuma determinação de carga viral após 10 anos de seguimento (ou, com os critérios mais inclusivos, sete anos) e sem nenhum outro critério para serem considerados *progressors*.

Na Tabela 12 é possível observar a distribuição dos 137 indivíduos pelos cinco grupos de progressão clínica, aplicando critérios conservadores e critérios mais inclusivos.

Tabela 12 - Frequências de distribuição por tipos de progressão clínica dos 137 indivíduos incluídos no estudo, por aplicação de critérios conservadores (Cut-offs: 10 anos de seguimento e 500 células/ μ L) e inclusivos (Cut-offs: sete anos de seguimento e 350 células/ μ L)

Tipo de progressão clínica	CUT-OFFS			
	DEZ ANOS / 500 CD4 ⁺		SETE ANOS / 350 CD4 ⁺	
	N	%	N	%
<i>Progressors</i>	102	74,5%	79	57,7%
LTNP-NC	0	0 %	1	0,7%
LTNP-VC	1	0,7 %	2	1,5%
LTNP-EC	17	12,4 %	42	30,7%
Indeterminada	17	12,4 %	13	9,5%
	137	100,0%	137	100,0%

Quando aplicados os critérios mais conservadores, verifica-se que a maioria, 102 indivíduos (74,5%), podem ser classificados como *progressors* e 18 indivíduos (13,1%) como LTNP (*long term non progressors*), com quase a totalidade desses indivíduos (n=17; 12,4% do total) a enquadrarem-se no grupo de LTNP-EC (*elite controllers*). Dos indivíduos com uma progressão clínica indeterminada, oito (5,8% do total) foram assim classificados apenas por não terem atingido o tempo de seguimento mínimo de 10 anos, um (0,8% do total), foi assim classificado por não apresentar nenhum registo de CV, e oito (5,8% do total) não apresentavam nenhum registou de CV nem atingiram o tempo de seguimento mínimo de 10 anos.

Com a aplicação de critérios mais inclusivos, verifica-se que um menor número de indivíduos (n= 79; 57,7%), podem ser classificados como *progressors*, 45 indivíduos (30,7%) como LTNP (*long term non progressors*), com quase a totalidade desses indivíduos (n=42, 30,7% do total) a enquadrarem-se no grupo de LTNP-EC (*elite controllers*). Dos indivíduos com uma progressão clínica indeterminada, quatro (2,9% do total), foram assim classificados por não apresentarem nenhum registo de CV, e nove (6,6% do total) não apresentavam nenhum registou de CV nem atingiram o tempo de seguimento mínimo de sete anos.

Pelo teste de Qui-Quadrado de Pearson, verifica-se que não existe uma associação estatisticamente significativa entre o género do indivíduo e o grupo de progressão clínica, independentemente dos critérios aplicados. ($p = 0,151089$; $p = 0,069087$) (Anexo 5 e 6).

DISCUSSÃO

Procurou-se, com este estudo retrospectivo, caracterizar os indivíduos infetados por VIH-2 seguidos na consulta de Imunodepressão do HSM, em Lisboa.

Do total de 166 indivíduos, 137 foram incluídos neste estudo. Foi, assim, possível obter uma amostra de tamanho considerável, tendo em conta a existência, até 31 de Dezembro de 2014, de apenas 1735 casos reportados de infeção por VIH-2 em Portugal²⁸, e com dados suficientes para uma avaliação detalhada destes indivíduos, durante um longo período de tempo.

Dados demográficos

Verifica-se que a maioria dos 137 indivíduos pertence ao género feminino (70,8%) com razão mulher/homem superior a dois.

A maior proporção de mulheres, neste estudo, não parece estar de acordo com os dados oficiais, a 31 de Dezembro de 2014, que referiam uma proporção semelhante entre os dois géneros (apesar destes dados incluírem também as infeções duplas por VIH-2 e VIH-1)²⁸. Ainda que alguns estudos refiram que a população feminina aparenta ter maior probabilidade para adquirir infeção por VIH-2⁴⁰, não é de excluir a possibilidade de algum viés no recrutamento de indivíduos para este estudo ou de uma menor taxa de adesão ao seguimento por parte dos indivíduos do género masculino. Em Portugal parece existir alguma diferença no padrão demográfico da infeção por VIH-2 consoante a região, já que na região do Porto observa-se maior proporção de indivíduos portugueses (95%) e do género masculino (60%)¹¹⁹, algo que também poderá explicar a diferença entre os dados deste estudo e apresentados nos dados oficiais de Portugal.

A idade (mediana) à data de realização deste estudo situava-se nos 56 anos, com uma diferença, estatisticamente significativa, entre os dois géneros ($p = 0,014$), com homens a apresentarem uma idade mediana superior (63,5 anos) do que as mulheres, que apresentavam uma idade mediana de 54 anos.

Verifica-se que a mediana, na altura do diagnóstico, era de 40 anos, mantendo-se a diferença, estatisticamente significativa, entre os dois géneros ($p = 0,038$). Os homens obtiveram o diagnóstico aos 45,5 anos e as mulheres aos 38 anos.

A idade, mediana, dos indivíduos aqui estudados, bem como a diferença observada entre os dois géneros (com uma idade superior no género masculino), é concordante com outros estudos^{12,19}.

A idade dos indivíduos, à data do diagnóstico da infeção, é um parâmetro que pode funcionar como medida indireta para estimar a possível idade de transmissão da infeção por VIH-2 ou para avaliar diferenças no recurso aos cuidados de saúde (e conseqüente diagnóstico da infeção). Como tal, o facto de os indivíduos do género masculino serem mais velhos aquando do diagnóstico pode dever-se a uma transmissão da infeção mais tardia nos homens (visto não existirem, aparentemente, diferenças significativas na progressão da infeção entre os dois géneros³⁴) ou a um recurso aos cuidados de saúde mais tardio, o que pode explicar o facto de os homens se apresentarem em estadios mais tardios da infeção⁴⁰.

Em relação à naturalidade dos 137 indivíduos, verifica-se que a maioria provém de países da África Ocidental com os quais Portugal tem relações histórico-culturais próximas e que apresentam uma distribuição endémica da infeção por VIH-2^{7,17} nomeadamente, Guiné-Bissau, Cabo Verde e Moçambique. Guiné-Bissau, sendo local da origem geográfica de VIH-2^{9,13,14}, é a principal fonte de diagnósticos, com mais de 50% dos casos. Por outro lado, apenas 36 indivíduos (26,3%) eram de naturalidade portuguesa, sendo que um terço dos mesmos apresentava algum tipo de relação com a região da África Ocidental ou com indivíduos naturais dessa região. Todos estes dados parecem estar em concordância com o padrão epidemiológico da infeção por VIH-2, com origem na região de África Ocidental, sendo os casos observados na região de Lisboa resultados, na sua maioria, de importação.

Dados epidemiológicos

O ano em que houve mais diagnósticos foi o de 2001. Verifica-se que, a partir de 1987 (ano em que ocorrem os primeiros diagnósticos) e anos imediatamente seguintes, a maioria dos diagnósticos de infeção por VIH-2 corresponde a indivíduos naturais de Portugal ou de naturalidade desconhecida. Observa-se um claro pico de incidência de diagnósticos de indivíduos portugueses nos anos 1996 e 1997 (sete e cinco,

respetivamente). Não parece existir um motivo claro que justifique este pico de incidência de diagnósticos em indivíduos de naturalidade portuguesa, porém, não se pode excluir a ocorrência de um potencial fluxo migratório de países africanos para Portugal de indivíduos que estivessem a viver nessa região e que tivessem naturalidade portuguesa.

Os diagnósticos de indivíduos provenientes de Cabo-Verde e dos restantes países africanos, com exceção de Guiné-Bissau, parecem apenas corresponder a casos esporádicos de diagnóstico.

Já em relação a indivíduos naturais de Guiné-Bissau, exceto alguns casos isolados de diagnóstico em 1989, 1992 e 1993 (um, dois e um diagnóstico, respetivamente), a partir de 1996 observa-se um crescimento rápido do número de diagnósticos de indivíduos originários deste país, atingindo o seu máximo em 2003 e passando este país a ser a principal fonte de diagnósticos de infeção por VIH-2 até à data atual.

O aumento de diagnósticos de indivíduos de origem africana (principalmente daqueles provenientes da Guiné-Bissau) a partir de 1996, parece poder ser explicado por um maior fluxo migratório desses países para Portugal. Muito provavelmente tal ocorreu devido à instabilidade política aí observada, podendo-se considerar como exemplo o período de guerra civil na Guiné-Bissau com início no ano de 1998.

A data mediana de chegada a Portugal de indivíduos de origem africana corresponde ao ano de 1998 e a data mediana de diagnóstico desses mesmos indivíduos corresponde ao ano de 2002. Este pequeno diferencial de quatro anos pode eventualmente ser explicado pelo tempo necessário para estes indivíduos, após chegarem a Portugal, recorrerem ou entrarem em contacto com os cuidados de saúde e, conseqüentemente, serem diagnosticados com infeção por VIH-2.

Verifica-se que, em condordância com outros estudos^{7,10,28}, que a via mais comum de transmissão de infeção por VIH-2 é a via por contacto heterossexual, com 90 indivíduos (65,7%), seguindo-se as transmissões por transfusão de sangue e/ou derivados (com 11 indivíduos, 8,1%, se forem agrupadas todas as transfusões impendemente da presença ou não de hemofilia) e a transmissão vertical, com três indivíduos (2,2%). Por outro lado, parece existir uma clara diferença no padrão de vias transmissão daquele que é apresentado pelas infeções por VIH-1. O relatório²⁸ de 31 de Dezembro de 2014 do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (que engloba quase na sua totalidade infeções por VIH-1, 94,9%) refere que a via de transmissão heterossexual corresponde

apenas a 45,4% dos casos reportados, com as vias de UDE, de MSM, transfusão de sangue e/ou derivados e transmissão vertical a representar 34,5%, 15,7%, 0,9% e 0,8%, respectivamente. Analisando estes dados, parece existir uma clara e superior prevalência das vias de transmissão de UDE e MSM na infecção por VIH-1 por comparação a VIH-2.

Os dados relativos à presença de infecção com vírus de hepatites parecem revelar que nos indivíduos infetados por VIH-2 pode existir risco mais elevado para a existência de coinfeções sexualmente transmissíveis. No entanto, como na maioria dos indivíduos (51,8%) não era possível saber se havia a existência de coinfeção com vírus de hepatites, não é possível obter conclusões muito fortes a partir dos dados disponíveis. A presença dessas coinfeções aparenta, também, ser fator de risco para a aquisição de infecção por VIH-2¹⁹. Esta relação é compreensível sabendo que para ambos os tipos de infecção (por VIH e vírus de hepatites) existem vias de transmissão semelhantes e que a adoção de comportamentos de risco pode aumentar a probabilidade de aquisição de ambas as infeções.

Dados de seguimento

O tempo mediano de seguimento verificado neste estudo correspondeu a cerca de 114 meses (nove anos e seis meses), com um mínimo de 12 meses (estabelecido por critério de exclusão) e um máximo de 295 meses (24 anos e sete meses). Este tempo mediano de seguimento (pouco menos de 10 anos) pode-se considerar relativamente razoável, sendo que 75% dos indivíduos apresentavam um tempo de seguimento superior a 64 meses (cinco anos e quatro meses) e 25% apresentavam tempos de seguimento acima dos 169 meses (14 anos e um mês).

Apesar dos indivíduos do género feminino apresentarem um tempo mediano de seguimento superior aos indivíduos do género masculino (118 meses contra 90 meses) esta diferença não é estatisticamente significativa ($p = 0,240$). Avaliou-se a hipótese de a aplicação do critério de exclusão “Tempo de seguimento inferior a 12 meses” ter sido aplicado preferencialmente a um dos géneros em específico. Dos 27 indivíduos excluídos por esse critério, nove (33,3%) eram homens e 18 (66,7%) eram mulheres, pelo que se verificou na exclusão de indivíduos uma proporção entre homens e mulheres semelhante à proporção entre género observada na amostra final em estudo. Assim, rejeitou-se a

hipótese de influência deste critério de exclusão na avaliação do tempo de seguimento discriminado por gênero.

Por outro lado, ao analisar o estado atual de seguimento verifica-se que a maioria dos indivíduos (71, 51,8%) podem ser considerados em *follow up* e cerca de 10,9% (15 indivíduos) morreram após o início do seu seguimento na consulta de Imunodepressão do HSM. Discriminando estes dados para o gênero dos indivíduos verifica-se que há correlação estatisticamente significativa entre o gênero do indivíduo e o estado atual de seguimento ($p = 0,001$) e entre o gênero do indivíduo e a mortalidade ($p = 0,005$), com os indivíduos do gênero feminino a apresentarem uma maior probabilidade de se encontrarem atualmente em *follow up* e os indivíduos do gênero masculino a apresentarem maior taxa de mortalidade. Estes dados parecem estar em concordância com outros estudos^{40,66}.

Dos 15 indivíduos falecidos apenas se conhecia a causa de morte em quatro indivíduos (26,7%), sendo que três morreram por patologia oncológica e um morreu por choque séptico. Devido ao número baixo de casos de mortalidade e o desconhecimento de quase três quartos das causas de morte, não parece ser possível concluir até que ponto a morte destes indivíduos foi influenciada pela infecção por VIH-2 e respetivo estadió imunológico.

Dados clínicos

A mediana da primeira contagem de linfócitos T CD4⁺ dos 137 indivíduos incluídos neste estudo fornece uma imagem do estadió imunológico mediano dos indivíduos infetados por VIH-2 à data da sua apresentação na consulta de Imunodepressão do HSM. Com um valor mediano de 471 células/ μ L verifica-se um valor muito próximo de 500 células/ μ L limite acima do qual se tem associado um bom prognóstico na evolução da infecção por VIH-2, verificando-se inclusive uma maior taxa de sobrevivência para esses valores comparativamente à infecção por VIH-1^{12,78}. A amplitude interquartil de 249,5 a 767 células/ μ L observada revela, no entanto, alguma dispersão nos valores apresentados pelos 137 indivíduos, verificando-se, ainda assim, que pelo menos 75% dos mesmos estão acima do limiar de 200 células/ μ L, abaixo do qual se considerariam já com SIDA.

Discriminando para o género dos indivíduos verifica-se que as mulheres apresentam uma mediana de contagem de linfócitos T CD4⁺ superior de 520 células/ μ L, valor superior ao apresentado pelos homens, com uma mediana de 312 células/ μ L. Esta diferença mostrou-se estatisticamente significativa ($p = 0,002447$). Vários fatores podem eventualmente explicar este diferencial que foi observado, nomeadamente: uma evolução mais indolente da infeção no género feminino (apesar da maioria dos estudos não parecer encontrar diferença significativa entre os dois géneros³⁴), um recurso mais precoce aos cuidados de saúde por parte das mulheres e, eventualmente, um rastreio mais frequente e alargado neste género por fatores exclusivos ao mesmo, como são os casos de gravidez (motivo de teste de diagnóstico em 13,1% das situações que levaram ao diagnóstico de infeção por VIH-2).

Se os 137 indivíduos forem estratificados consoante o seu valor da primeira contagem de linfócitos T CD4⁺ verifica-se que praticamente metade dos 137 indivíduos (64, 46,7%) têm contagem ≥ 500 células/ μ L e que apenas 25 (18,2%) apresentam valores ≤ 199 células/ μ L, o que os diagnostica com SIDA aquando da sua apresentação ao seguimento. Por dificuldade em recolher os dados necessários não foi possível estratificar e classificar conveniente todos os indivíduos, à data de apresentação, consoante o sistema de classificação do CDC, verificando-se que 96 (70,1%) têm uma classificação indeterminada.

Evolução imunológica

A aplicação de critérios de exclusão permitiu incluir no estudo apenas indivíduos com um tempo de seguimento mínimo de um ano, o que permitiu uma melhor avaliação da história natural da infeção por VIH-2 ao longo do tempo após o diagnóstico e a evolução imunológica do doente infetado. Selecionaram-se 105 indivíduos em que seria possível fazer esta avaliação sem estes estarem sob a influência de terapêutica antirretroviral.

Observando a Figura 9, verifica-se, como assim também já foi previamente referido, uma grande dispersão de valores entre os vários indivíduos, o que dificulta a identificação *a priori* de uma tendência de evolução clara. Da mesma forma, não foi possível aplicar a estes dados um modelo de regressão apropriado e que representasse, de forma razoável, a evolução das contagens de linfócitos T CD4⁺ em função do tempo de seguimento de cada indivíduo.

Por forma a extrair algumas conclusões destes dados, foram identificados os valores das contagens de linfócitos T CD4⁺ na sua primeira determinação (*baseline*), última determinação (*endline*) e na determinação de valor mais baixo (*nadir*). Verificou-se que existe uma descida estatisticamente significativa no número de células CD4⁺ entre o valor de *baseline* e o valor de *endline* ($p = 0,02$), com uma descida mediana de 99 células/ μL , sendo que só cerca de 38,1% dos indivíduos apresentava um valor de *endline* superior à primeira determinação. Estes dados parecem estar de acordo com as características clínicas descritas para infeção por VIH-2, nomeadamente o declínio do número de linfócitos T CD4⁺ ^{10,13,19,69}.

Forem divididos os 105 indivíduos aqui analisados nos dois grupos previamente definidos (*treatment-naive* e sob TARV) verifica-se, com significância estatística, que no grupo *treatment-naive* há um tempo de seguimento e contagens de linfócitos T CD4⁺ (na *baseline*, *nadir* e *endline*) superiores ao grupo que irá iniciar TARV.

Verificou-se novamente que, neste grupo de indivíduos, os valores de contagens de linfócitos T CD4⁺ são, de uma forma geral, mais elevados nos indivíduos do género feminino por comparação ao género masculino. Porém, esta diferença observada (mediana de 608,5 células/ μL contra 438 células/ μL) só é estatisticamente significativa na *baseline* ($p = 0,01$).

Avaliação de efeitos imunológicos de TARV

Na Figura 10 observa-se a evolução nos valores de contagens de linfócitos T CD4⁺ de 76 indivíduos após início de toma de TARV e independentemente do esquema terapêutico utilizado, verificando-se novamente uma grande dispersão de valores entre os vários indivíduos. Existe uma subida mediana de 131,7 células/ μL entre o valor de *baseline* e o valor de *endline*, sendo esta estatisticamente significativa ($p = 0,00002$). Estes dados parecem suportar um benefício da TARV para controlo do declínio imunológico dos indivíduos infetados por VIH-2, notando-se, porém, que em 24 indivíduos (31,6%) o valor em *endline* foi inferior ao valor em *baseline*, o que dá indicação de possíveis casos de ineficácia ou falência no tratamento antirretroviral.

Novamente, verifica-se uma diferença estatisticamente significativa nos valores de contagens de linfócitos T CD4⁺ entre o género feminino e o género masculino, sendo que

estes são mais elevados aquando do início de TARV ($p = 0,03$), no seu valor de *nadir* ($p = 0,02$) e no último registo do seguimento ($p = 0,002$).

Verificou-se que o tempo mediano desde o início do seguimento até ao início da realização de TARV foi relativamente baixo, cerca de 4,5 meses, com 75% dos indivíduos a iniciar terapêutica ainda antes dos quatro anos de seguimento (47,25 meses). O valor mediano de contagem de linfócitos T CD4⁺ aquando do momento em que estes doentes iniciaram terapêutica foi de 232 células/ μ L (amplitude interquartil de 144 a 374,5 células/ μ L). Estes valores são baixos o suficiente para assumir que o tempo até início de TARV não foi, significativamente, influenciado por início precoce da mesma por decisão dos clínicos que seguem estes doentes (visto que tanto a OMS como as *guidelines* da British HIV Association sugerem início de TARV a partir de contagens < 350 células/ μ L^{104,116}).

A existência deste grupo de indivíduos com contagens medianas de linfócitos T CD4⁺ relativamente baixas no início do seu seguimento e submetidos precocemente a TARV contrasta com o grupo de indivíduos *treatment-naive* que apresentam um tempo mediano de seguimento sem realizar TARV de 105,7 meses. Esta disparidade pode, eventualmente, dever-se a um recurso aos cuidados de saúde mais tardio e em estadios da infeção mais avançados ou a uma progressão mais rápida da infeção nos doentes que são submetidos a terapêutica^{10,12,13,19,24,35}.

Carga viral

Por inexistência de um teste comercialmente disponível e de aplicação generalizada para quantificação de CV's de VIH-2^{7,24}, as determinações deste parâmetro laboratorial a nível da consulta de Imunodepressão de HSM são realizadas com recurso a um laboratório externo ao hospital e recorrendo a um teste "caseiro". Devido a este facto verificou-se que nem todos os 137 indivíduos incluídos neste estudo apresentavam registos de CV de VIH-2, sendo que 24 (17,5%) não apresentavam nenhum registo e 57 indivíduos (41,6%) apresentavam apenas entre um a cinco registos de CV.

Este facto limita, em parte, o próprio acompanhamento clínico dos doentes infetados por VIH-2, visto que a carga viral é considerada como um dos principais marcadores para seguimento da infeção^{66,104}. No entanto, é frequente observarem-se CV's de VIH-2

consistentemente indetectáveis noutros estudos, pelo que se tem considerado a contagem de linfócitos T CD4⁺ como o único marcador laboratorial nesses casos¹⁰⁴.

Verificou-se de facto, que a maioria das 781 determinações de CV's de VIH-2 se manteve indetectável (n=621; 79,5%) o que parece suportar a evidência já existente do bom controlo de replicação vírica estabelecido nos doentes infetados por VIH-2, inclusive por comparação a VIH-1^{10,27,51,64-68}.

Doenças definidoras de SIDA

À semelhança daquilo que já se encontra descrito na literatura²⁴, verifica-se uma percentagem, ainda significativa, de indivíduos infetados por VIH-2 (39, 28,5%) que desenvolve, pelo menos, uma doença que marcou a progressão para SIDA. Sendo que ocorreram, no total, 50 eventos definidores de SIDA pode-se concluir ainda que alguns dos indivíduos desenvolveram, necessariamente, mais do que uma doença ao longo do seu seguimento.

Verifica-se que a tuberculose pulmonar e extrapulmonar perfaz o maior grupo de doenças associadas, seguido dos linfomas, cancro do colo do útero (resultado potencialmente enviesado pela proporção mulher/homem deste estudo), toxoplasmose cerebral e candidose esofágica. Este parece ser o padrão habitual já previamente identificado na infeção por VIH-2^{90,91}, sendo bastante semelhante ao que é observado na infeção por VIH-1^{13,24,25}. Curiosamente, só foi observado um caso (2%) de sarcoma de Kaposi, patologia classicamente observada com alguma prevalência em doentes com SIDA por infeção a VIH-1, e cuja prevalência não parece ser muito elevada nos doentes neste estudo.

Grupos de progressão clínica

Alguns estudos referem que o período sintomático, antes da progressão para SIDA e/ou morte, parece ser mais prolongado na infeção por VIH-2 do que na infeção por VIH-1^{35,65}, apresentando os doentes frequentemente CV's virais indetectáveis^{12,74}.

Previamente já foi referido neste trabalho como a maioria das determinações de CV obtidas são indetectáveis e como os dois grupos de indivíduos criados (sob TARV e *treatment-naive*) aparentam ter padrões de evolução clínica e imunológica diferentes. Na

realidade o grupo *treatment-naive* parece comportar-se como LTNP, com tempos de seguimento e contagens de linfócitos T CD4⁺ elevados sem recurso a TARV, enquanto que o grupo terapêutico apresenta contagens de linfócitos T CD4⁺ mais baixas e permanece pouco tempo desde o início do seu seguimento até iniciar terapêutica.

Este padrão com possível existência de doentes LTNP já fora descrito para a infeção por VIH-1^{73,117} e mais tarde para a infeção com VIH-2, sendo que para esta última parece existir uma percentagem mais elevada de *non progressors*^{10,12,13,19,24,35}.

Após duas aplicações diferentes dos critérios definidos na página 19 deste trabalho e avaliando a divisão dos 137 indivíduos nos vários grupos de progressão clínica verificou-se que há uma diferença substancial, consoante os critérios aplicados, sendo que esta diferença parece fazer-se essencialmente à custa do limite de contagem de linfócitos T CD4⁺ estabelecido para se considerar um indivíduo como *progressor*. Verificou-se, assim, que entre 57,7% a 74,5% dos indivíduos analisados podiam ser considerados como *progressors*. Por outro lado, entre 14,1% a 32,9% podiam ser classificados com LTNP, sendo que quase a totalidade desses indivíduos pertencem ao grupo dos LTNP-EC.

Potencialmente, alguns indivíduos com progressão clínica indeterminada poderiam vir a ser também classificados como LTNP, apenas o não tendo sido por não apresentarem tempo de seguimento suficientemente longos.

A aparente existência de, aproximadamente, 14-33% de indivíduos infetados por VIH-2 que podem ser considerados como *long term non progressors* é importante, porque contrasta com aquilo que se observa nos indivíduos infetados por VIH-1 em que a proporção de indivíduos LTNP é muito menor^{117,118}. Para além disso, verifica-se que quase a totalidade destes indivíduos pode ser considerado *elite controller* devido ao aparente bom controlo da replicação viral de VIH-2 já previamente descrito neste trabalho. Estes dados suportam a evidência da maior indolência da infeção por VIH-2, comparativamente a VIH-1, observando-se uma proporção significativa de indivíduos com bom *status* clínico durante vários anos de seguimento. É importante referir que o tempo de seguimento nestes indivíduos se iniciou aquando do diagnóstico de infeção por VIH-2 e não por altura da transmissão da mesma (que pode ter ocorrido vários anos antes). Como tal, não é de excluir a possibilidade dos indivíduos infetados por VIH-2 se apresentarem sem declínio imunológico por um período de tempo superior ao observado com este estudo.

CONCLUSÃO

A população infetada por VIH-2 e seguida na Consulta de Imunodepressão de HSM apresenta ter características coincidentes com o padrão demográfico e epidemiológico já descrito na literatura, com maior prevalência de mulheres infetadas e de indivíduos provenientes da região da África Ocidental (ou com relação próxima à mesma), idades de diagnóstico mais tardias que na infeção por VIH-1 e preponderância do contacto heterossexual como via de transmissão do vírus.

Existe uma clara diferença entre o género feminino e masculino, com as mulheres a apresentarem idades mais baixas à data de diagnóstico, melhores taxas de *follow-up*, menor taxa de mortalidade e contagens de linfócitos T CD4⁺ mais elevadas que os homens (à data apresentação, aquando do início e fim da terapêutica e no *nadir*), não existindo, no entanto, diferenças observáveis nos grupos de progressão clínica. O género feminino parece, desta forma, abandonar menos o seguimento e iniciá-lo em estadios mais precoces da infeção, o que pode traduzir-se, inicialmente, num melhor controlo da infeção e atraso da fase de declínio imunológico por comparação ao género masculino.

A infeção por VIH-2 tem um carácter de evolução indolente, com uma percentagem significativa de indivíduos a poderem ser considerados como *long term non progressors* e *elite controllers*, verificando-se, mesmo, períodos superiores a dez anos sem significativo declínio imunológico ou clínico. Estes dados parecem conferir um melhor prognóstico à infeção por VIH-2 por comparação a VIH-1, sendo que uma melhor compreensão sobre o melhor controlo imunológico exercido contra VIH-2 poderá ajudar a criar, no futuro, melhores estratégias de combate à infeção por VIH, nomeadamente no que diz respeito a vacinas.

ANEXOS

ANEXO 1 - Condições que definem as várias categorias clínicas para estadiamento da infecção por VIH¹⁰⁵

Category B Symptomatic Conditions

Examples include, but are not limited to, the following:

- Bacillary angiomatosis
- Oropharyngeal candidiasis (thrush)
- Vulvovaginal candidiasis, persistent or resistant
- Pelvic inflammatory disease (PID)
- Cervical dysplasia (moderate or severe)/cervical carcinoma in situ
- Hairy leukoplakia, oral
- Herpes zoster (shingles), involving two or more episodes or at least one dermatome
- Idiopathic thrombocytopenic purpura
- Constitutional symptoms, such as fever ($>38.5^{\circ}\text{C}$) or diarrhea lasting >1 month
- Peripheral neuropathy

Category C AIDS-Indicator Conditions

- Bacterial pneumonia, recurrent (two or more episodes in 12 months)
- Candidiasis of the bronchi, trachea, or lungs
- Candidiasis, esophageal
- Cervical carcinoma, invasive, confirmed by biopsy
- Coccidioidomycosis, disseminated or extrapulmonary
- Cryptococcosis, extrapulmonary
- Cryptosporidiosis, chronic intestinal (>1 month in duration)
- Cytomegalovirus disease (other than liver, spleen, or nodes)
- Encephalopathy, HIV-related
- Herpes simplex: chronic ulcers (>1 month in duration), or bronchitis, pneumonitis, or esophagitis
- Histoplasmosis, disseminated or extrapulmonary
- Isosporiasis, chronic intestinal (>1 -month in duration)
- Kaposi sarcoma
- Lymphoma, Burkitt, immunoblastic, or primary central nervous system
- *Mycobacterium avium* complex (MAC) or *Mycobacterium kansasii*, disseminated or extrapulmonary
- *Mycobacterium tuberculosis*, pulmonary or extrapulmonary
- *Mycobacterium*, other species or unidentified species, disseminated or extrapulmonary
- *Pneumocystis jiroveci* (formerly *carinii*) pneumonia (PCP)
- Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML)
- *Salmonella* septicemia, recurrent (nontyphoid)
- Toxoplasmosis of brain
- Wasting syndrome caused by HIV (involuntary weight loss $>10\%$ of baseline body weight) associated with either chronic diarrhea (two or more loose stools per day for ≥ 1 month) or chronic weakness and documented fever for ≥ 1 month

ANEXO 2 – Tabela de correlação e teste Qui-Quadrado de Pearson entre o Género e Estratificação por Contagem de Linfócitos T CD4⁺ na *baseline*

Crosstabs

Estadimento_inicial * Género Crosstabulation

			Género		Total
			Masculino	Feminino	
Estadimento_inicial	≥ 500 células/uL	Count	11	53	64
		% within Estadimento_inicial	17,2%	82,8%	100,0%
		% within Género	27,5%	54,6%	46,7%
		% of Total	8,0%	38,7%	46,7%
200 a 499 células/uL		Count	16	32	48
		% within Estadimento_inicial	33,3%	66,7%	100,0%
		% within Género	40,0%	33,0%	35,0%
		% of Total	11,7%	23,4%	35,0%
≤ 199 células/uL		Count	13	12	25
		% within Estadimento_inicial	52,0%	48,0%	100,0%
		% within Género	32,5%	12,4%	18,2%
		% of Total	9,5%	8,8%	18,2%
Total		Count	40	97	137
		% within Estadimento_inicial	29,2%	70,8%	100,0%
		% within Género	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	29,2%	70,8%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-Square	11,151 ^a	2	,004
Likelihood Ratio	11,015	2	,004
Linear-by-Linear Association	11,047	1	,001
N of Valid Cases	137		

a. 0 cells (0,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 7,30.

ANEXO 3 – Teste T de Wilcoxon pareado – *Treatment-naive: Baseline, Nadir e Endline*

Wilcoxon Signed Ranks Test

		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nadir - Baseline	Negative Ranks	90 ^a	45,50	4095,00
	Positive Ranks	0 ^b	,00	,00
	Ties	15 ^c		
	Total	105		
Endline - Baseline	Negative Ranks	63 ^d	53,60	3376,50
	Positive Ranks	40 ^e	49,49	1979,50
	Ties	2 ^f		
	Total	105		
Endline - Nadir	Negative Ranks	0 ^g	,00	,00
	Positive Ranks	70 ^h	35,50	2485,00
	Ties	35 ⁱ		
	Total	105		

- a. Nadir < Baseline
- b. Nadir > Baseline
- c. Nadir = Baseline
- d. Endline < Baseline
- e. Endline > Baseline
- f. Endline = Baseline
- g. Endline < Nadir
- h. Endline > Nadir
- i. Endline = Nadir

Test Statistics ^a			
	Nadir - Baseline	Endline - Baseline	Endline - Nadir
Z	-8,239 ^b	-2,298 ^b	-7,271 ^c
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000	,022	,000

- a. Wilcoxon Signed Ranks Test
- b. Based on positive ranks.
- c. Based on negative ranks.

ANEXO 4 – Teste T de Wilcoxon pareado – Grupo terapêutico: *Baseline, Nadir e Endline*

Wilcoxon Signed Ranks Test

		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nadir - Baseline	Negative Ranks	57 ^a	29,00	1653,00
	Positive Ranks	0 ^b	,00	,00
	Ties	19 ^c		
	Total	76		
Endline - Baseline	Negative Ranks	24 ^d	26,29	631,00
	Positive Ranks	52 ^e	44,13	2295,00
	Ties	0 ^f		
	Total	76		
Endline - Nadir	Negative Ranks	0 ^g	,00	,00
	Positive Ranks	67 ^h	34,00	2278,00
	Ties	9 ⁱ		
	Total	76		

- a. Nadir < Baseline
- b. Nadir > Baseline
- c. Nadir = Baseline
- d. Endline < Baseline
- e. Endline > Baseline
- f. Endline = Baseline
- g. Endline < Nadir
- h. Endline > Nadir
- i. Endline = Nadir

Test Statistics ^a			
	Nadir - Baseline	Endline - Baseline	Endline - Nadir
Z	-6,567 ^b	-4,308 ^c	-7,115 ^c
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000	,000	,000

- a. Wilcoxon Signed Ranks Test
- b. Based on positive ranks.
- c. Based on negative ranks.

ANEXO 5 – Tabela de correlação e teste Qui-Quadrado de Pearson entre o Género e Grupo de Progressão Clínica (critérios conservadores)

			Género		Total
			Masculino	Feminino	
Grupo	Progressors	Count	35	67	102
		% within Grupo	34,3%	65,7%	100,0%
		% within Género	87,5%	69,1%	74,5%
		% of Total	25,5%	48,9%	74,5%
LTNP-VC		Count	0	1	1
		% within Grupo	0,0%	100,0%	100,0%
		% within Género	0,0%	1,0%	0,7%
		% of Total	0,0%	0,7%	0,7%
LTNP-EC		Count	3	14	17
		% within Grupo	17,6%	82,4%	100,0%
		% within Género	7,5%	14,4%	12,4%
		% of Total	2,2%	10,2%	12,4%
Indeterminado		Count	2	15	17
		% within Grupo	11,8%	88,2%	100,0%
		% within Género	5,0%	15,5%	12,4%
		% of Total	1,5%	10,9%	12,4%
Total		Count	40	97	137
		% within Grupo	29,2%	70,8%	100,0%
		% within Género	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	29,2%	70,8%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-Square	5,300 ^a	3	,151
Likelihood Ratio	6,120	3	,106
Linear-by-Linear Association	5,008	1	,025
N of Valid Cases	137		

a. 4 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,29.

ANEXO 6 – Tabela de correlação e teste Qui-Quadrado de Pearson entre o Género e Grupo de Progressão Clínica (critérios inclusivos)

			Género		Total
			Masculino	Feminino	
Grupo	Progressors	Count	29	50	79
		% within Grupo	36,7%	63,3%	100,0%
		% within Género	72,5%	51,5%	57,7%
		% of Total	21,2%	36,5%	57,7%
LTNP-NC		Count	1	0	1
		% within Grupo	100,0%	0,0%	100,0%
		% within Género	2,5%	0,0%	0,7%
		% of Total	0,7%	0,0%	0,7%
LTNP-VC		Count	0	2	2
		% within Grupo	0,0%	100,0%	100,0%
		% within Género	0,0%	2,1%	1,5%
		% of Total	0,0%	1,5%	1,5%
LTNP-EC		Count	8	34	42
		% within Grupo	19,0%	81,0%	100,0%
		% within Género	20,0%	35,1%	30,7%
		% of Total	5,8%	24,8%	30,7%
Indeterminado		Count	2	11	13
		% within Grupo	15,4%	84,6%	100,0%
		% within Género	5,0%	11,3%	9,5%
		% of Total	1,5%	8,0%	9,5%
Total		Count	40	97	137
		% within Grupo	29,2%	70,8%	100,0%
		% within Género	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	29,2%	70,8%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-Square	8,699 ^a	4	,069
Likelihood Ratio	9,540	4	,049
Linear-by-Linear Association	5,718	1	,017
N of Valid Cases	137		

a. 5 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,29.

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Sistema de classificação do CDC para infecção por VIH em adultos e adolescentes. Adaptado de 105.	27
Tabela 2 - Esquemas preferenciais, de primeira linha, para o tratamento da infecção por VIH-2. Deve escolher-se um fármaco de cada coluna. Adaptado de 104.	29
Tabela 3 - Esquemas preferenciais, de segunda linha, para o tratamento da infecção por VIH-2. Adaptado de 104.	29
Tabela 4 - Motivo para realização de teste de diagnóstico para infecção por VIH-2.....	39
Tabela 5 - Frequência do estado atual de seguimento dos 137 indivíduos infetados com VIH-2, discriminando para o género.	40
Tabela 6 - Estratificação dos indivíduos infetados por VIH-2 por contagem de linfócitos T CD4+ na baseline e por género.	42
Tabela 7 - Estadio de infecção por VIH-2 aquando do diagnóstico com base no sistema de classificação do CDC 104.	43
Tabela 8 - Análise descritiva e comparativa entre o valor de baseline, de nadir e de endline dos 105 indivíduos que durante o seu seguimento estiveram treatment-naïve, discriminando para o género.....	45
Tabela 9 - Análise descritiva e comparativa entre o valor de baseline, de nadir e de endline dos 76 indivíduos submetidos a terapêutica antirretroviral, discriminando para o género.	47
Tabela 100 - Quantificação de registos de cargas virais por indivíduo infetado pelo VIH-2 incluído no estudo.	48
Tabela 111 - Doenças definidoras de SIDA que se registaram durante o seguimento dos 137 indivíduos incluídos no estudo.....	49
Tabela 12 - Frequências de distribuição por tipos de progressão clínica dos 137 indivíduos incluídos no estudo, por aplicação de critérios conservadores (Cut-offs: 10 anos de seguimento e 500 células/ μ L) e inclusivos (Cut-offs: sete anos de seguimento e 350 células/ μ L).....	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Relação filogenética entre lentivírus de primatas a partir de sequenciação genética do gene que codifica a polimerase (pol) vírica de HIV-1, HIV-2 e SIVmac ¹⁰	9
Figura 2 - Organização genómica das linhagens de lentivírus de primatas. Adaptado de ⁴¹	14
Figura 3 - Frequências de idades à data de realização do estudo por faixas etárias	34
Figura 4 - Frequências de idades à data de diagnóstico de infeção por VIH-2 por faixas etárias	34
Figura 5 - País de origem dos indivíduos infetados por VIH-2.....	35
Figura 6 - Distribuição temporal de diagnósticos de infeções por VIH-2 por ano e por país de origem.	36
Figura 7 - Distribuição temporal de diagnósticos de infeções por VIH-2 por ano de indivíduos naturais de Portugal e Guiné-Bissau.....	37
Figura 8 - Via de transmissão mais provável, nos indivíduos infetados por VIH-2.....	37
Figura 9 - Evolução das contagens de linfócitos T CD4+ ao longo do tempo de seguimento sem realizar terapêutica antirretroviral. Cada linha representa um indivíduo.	44
Figura 10 - Evolução das contagens de linfócitos T CD4+ ao longo do tempo de seguimento após início de terapêutica antirretroviral. Cada linha representa um indivíduo.	46

BIBLIOGRAFIA

1. Levy JA. (2009) HIV pathogenesis: 25 years of progress and persistent challenges. *AIDS*; 23(2):147-60.
2. Barre-Sinoussi F, Chermann J-C, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, *et al.* (1983) Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*; 220:868-71.
3. Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, Shearer GM, Kaplan M, Haynes BF, *et al.* (1984) Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science*; 224:500-3.
4. Levy JA, Hoffman AD, Kramer SM, Landis JA, Shimabukuro JM, Oshiro LS. (1984). Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. *Science*; 225:840-2.
5. UNAIDS. (2015). AIDS by the numbers 2015. Disponível em http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/AIDS_by_the_numbers_2015_en.pdf. Acedido em 1 de Abril de 2016.
6. Bailes E, Beer BE, Gao F, Hahn BH, Hirsch VM, Sharp PM. (2000) Origins and evolution of AIDS viruses: estimating the time-scale. *Biochemical Society Trans.*; 28(2):275-82.
7. Campbell-Yesufu OT, Gandhi RT. (2011). Update on human immunodeficiency virus (HIV)-2 infection. *Clinical Infectious Diseases*, 52(6): 780–7.
8. Barin F, M'Boup S, Denis F, Kanki P, Allan JS, Lee TH, Essex M. (1985). Serological evidence for virus related to simian T-lymphotropic retrovirus III in residents of west Africa. *Lancet* 2: 1387–9.
9. Clavel F, Guetard D, Brun-Vezinet F, Chamaret S, Rey M A, Santos-Ferreira MO, *et al.* (1986). Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* 233: 343-6.
10. Reeves JD, Doms RW. (2002) Human immunodeficiency virus type 2. *Journal of General Virology*, 83:1253-65.
11. Clavel F, Guyader M, Guétard D, Sallé M, Montagnier L, Alizon M. (1986) Molecular cloning and polymorphism of the human immune deficiency virus type. *Nature*, 324(6098):691-5.
12. Silva TI, Cotten M, Rowland-Jones SL. (2008) HIV-2: the forgotten AIDS virus. *Trends in Microbiology*, 16(12):588-95.

13. Lemey P, Pybus OG, Wang B, Saksena NK, Salemi M, Vandamme AM (2003) Tracing the origin and history of the HIV-2 epidemic. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. U. S. A. 100: 6588–92.
14. Poulsen AG, Aaby P, Jensen H, Dias F. (2000) Risk factors for HIV-2 seropositivity among older people in Guinea-Bissau. A search for the early history of HIV-2 infection. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 32: 169-75.
15. Gomes P, Abecasis A, Almeida M, Camacho R, Mansinho K. (2003) Transmission of HIV-2. *Lancet Infectious Diseases*, 3(11):683-4.
16. Kanki, PJ, Travers KU, Mboup S, Hsieh CC, Marlink RG, Gueye-NDiaye A, *et al.* (1994) Slower heterosexual spread of HIV-2 than HIV-1. *Lancet*, 343: 943–46.
17. Centers for Disease Control. Factsheet HIV Type 2. Disponível em: <http://wonder.cdc.gov/wonder/prevguid/m0038078/m0038078.asp>. Acedido em 5 Março 2016.
18. Gottlieb GS, Eholie´ SP, Nkengasong J, Jallow S, Rowland-Jones S, Whittle HC, *et al.* A call for randomized controlled trials of antiretroviral therapy for HIV-2 infection in West Africa. *AIDS* 2008; 22:2069-72.
19. Schim van der Loeff MF, Aaby P. (1999) Towards a better understanding of the epidemiology of HIV-2. *AIDS*, 13 Suppl A: S69-84.
20. Valadas E, França L, Sousa S, Antunes F. (2009) 20 years of HIV-2 infection in Portugal: trends and changes in epidemiology. *Clinical Infectious Diseases*, 48(8):1166-7.
21. Barin F, Cazein F, Lot F, Pillonel J, Brunet S, Thierry D, *et al.* (2007) Prevalence of HIV-2 and HIV-1 group O infections among new HIV diagnoses in France: 2003-2006. *AIDS*, 21(17):2351-3.
22. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2011) HIV-2 Infection Surveillance-United States, 1987-2009. *MMWR Morbidity Mortality Weekly Report*, 60(29):985-8.
23. Rubsamen-Waigmann H, Briesen HV, Maniar JK, Rao PK, Scholz, C, Pfutzner A. (1991) Spread of HIV-2 in India. *Lancet*, 337:550-1.
24. Kannangai R, Sridharan G, David S. (2012) Human immunodeficiency virus type-2- A milder, kinder virus: An update. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 30(1): 6-15.

25. Smallman-Raynor M, Cliff A. (1991) The spread of human immunodeficiency virus type 2 into Europe: a geographical analysis. *International Journal of Epidemiology*, 20(2): 480-9.
26. Pedro ML, Marques HM, Sêco LM, Assunção AE, Kuan BN. (2004) Estudo seroepidemiológico do vírus da imunodeficiência humana tipo 2. *Acta Médica Portuguesa*, 17:281-90.
27. Soriano V1, Gomes P, Heneine W, Holguín A, Doruana M, Antunes R, *et al.* (2000) Human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) in Portugal: clinical spectrum, circulating subtypes, virus isolation, and plasma viral load. *Journal of Medical Virology* 61: 111–6.
28. Departamento de Doenças Infeciosas do INSA — Unidade de Referência e Vigilância Epidemiológica; Programa Nacional para a Infecção VIH/SIDA, Direção-Geral da Saúde. (2015) Infecção VIH/SIDA: a situação em Portugal a 31 de dezembro de 2014. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA, IP).
29. Silva ZJ, Oliveira I, Andersen A, Dias F, Rodrigues A, Holmgren B, *et al.* (2008) Changes in prevalence and incidence of HIV-1, HIV-2 and dual infections in urban areas of Bissau, Guinea-Bissau: is HIV-2 disappearing? *AIDS*, 22: 1195-202.
30. Månsson F, Biague A, Silva ZJ, Dias F, Nilsson LAF, Andersson S, *et al.* (2009) Prevalence and incidence of HIV-1 and HIV-2 before, during and after a civil war in an occupational cohort in Guinea-Bissau, West Africa. *AIDS*, 23: 1575-82.
31. Schmidt WP, Van der Loeff MS, Aaby P, Whittle H, Bakker R, Buckner M, *et al.* (2008) Behaviour change and competitive exclusion can explain the diverging HIV-1 and HIV-2 prevalence trends in Guinea–Bissau. *Epidemiology and Infection.*, 136: 551–61.
32. Hamel DJ, Sankalé JL, Eisen G, Meloni ST, Mullins C, Gueye-Ndiaye A, *et al.* (2007) Twenty years of prospective molecular epidemiology in Senegal: changes in HIV diversity. *AIDS Research and Human Retroviruses* 23: 1189–96.
33. Poulsen AG, Aaby P, Jensen H and Dias F. (2000) Risk factors for HIV-2 seropositivity among older people in Guinea-Bissau. A search for the early history of HIV-2 infection. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 32(2):169-75.
34. Norrgren H, Da Silva ZJ, Andersson S, Biague AJ, Dias F, Biberfeld G, Naucclér A. (1998) Clinical features, immunological changes and mortality in a cohort of HIV-2-infected individuals in Bissau, Guinea-Bissau. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 30(4):323-9.

35. Azevedo-Pereira JM, Santos-Costa Q, Moniz-Pereira J. (2005) HIV-2 infection and chemokine receptors usage – clues to reduced virulence of HIV-2. *Current HIV Research*, 3(1):3-16.
36. Azevedo-Pereira JM, Santos-Costa Q, Mansinho K, Moniz-Pereira J (2003) Identification and characterization of HIV-2 strains obtained from asymptomatic patients that do not use CCR5 or CXCR4 coreceptors. *Virology*, 313(1):136-46.
37. O'Donovan D, Ariyoshi K, Milligan P, Ota M, Yamuah L, Sarge-Njie R, *et al.* (2000) Maternal plasma viral RNA levels determine marked differences in mother-to-child transmission rates of HIV-1 and HIV-2 in The Gambia. MRC/Gambia Government/University College London Medical School working group on mother-child transmission of HIV. *AIDS* 14: 441–8.
38. Gottlieb GS, Hawes SE, Agne HD, Stern JE, Critchlow CW, Kiviat NB, *et al.* (2006) Lower levels of HIV RNA in semen in HIV-2 compared with HIV-1 infection: implications for differences in transmission. *AIDS* 20: 895–900.
39. Adjorlolo-Johnson G, De Cock KM, Ekpini E, Vetter KM, Sibailly T, Brattegaard K, *et al.* (1994) Prospective comparison of mother-to-child transmission of HIV-1 and HIV-2 in Abidjan, Ivory Coast. *The Journal of the American Medical Association* 272: 462–6.
40. Jespersen S, Hønge BL, Esbjornsson J, Medina C, Té Dd, Correia FG, *et al.* (2016). Differential effects of sex in a West African cohort of HIV-1, HIV-2 and HIV-1/2 dually infected patients: men are worse off. *Tropical Medicine and International Health* 21(2): 253-62.
41. Beer B E, Bailes E, Sharp P M, Hirsch V M. (2010) Diversity and evolution of primate lentiviruses. Los Alamos, Los Alamos National Laboratory. Disponível em: <http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/REVIEWS/Beer99/Beer.html> Acedido em 7 Março 2016.
42. Guyader M, Emerman M, Sonigo P, Clavel F, Montagnier L, Alizon M. (1987) Genome organization and transactivation of the human immunodeficiency virus type 2. *Nature* 326: 662–9.
43. Levy JA. (1998) HIV and the pathogenesis of AIDS. *Washington: AMS Press.*
44. Fujita M, Otsuka M, Nomaguchi M, Adachi A. (2010) Multifaceted activity of HIV Vpr/Vpx proteins: the current view of their virological functions. *Reviews in Medical Virology*, 20(2):68-76.

45. Tristem M, Marshall C, Karpas K, Hill F. (1992). Evolution of the primate lentiviruses: evidence from vpx and vpr. *The EMBO Journal*. 11:3405–12.
46. Sharp PM, Bailes E, Stevenson M, Emerman M, Hahn BH. (1996). Gene acquisition in HIV and SIV. *Nature* 383:586–7.
47. Bjorling E, Broliden K, Bernardi D, Utter G, Thorstensson R, Chiodi F, *et al.* (1991) Hyperimmune antisera against synthetic peptides representing the glycoprotein of human immuno-deficiency virus type 2 can mediate neutralization and anti-body-dependent cytotoxic activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 88:6082-6.
48. Sankale JL, de la Tour RS, Renjifo B, Siby T, Mboup S, Marlink RG, *et al.* (1995) Inpatient variability of the human immunodeficiency virus type 2 envelope V3 loop. *AIDS Research and Human Retroviruses*; 11:617-23.
49. Esteves A, Parreira R, Piedade J, Venenno T, Canas-Ferreira WF. (2000) Genetic characterization of HIV type 1 and type 2 from Bissau, Guinea-Bissau (West Africa). *Virus Research*, 68(1):51-61.
50. Santiago ML, Range F, Keele F, Li Y, Bailes E, Bibollet-Ruche F, *et al.* (2005) Simian immunodeficiency virus infection in free-ranging Sooty Mangabeys (*Cercocebus atys atys*) from the Taï Forest, Côte d’Ivoire: Implications for the origin of epidemic human immunodeficiency virus type 2. *Journal of Virology*, 79: 12515-27.
51. Azevedo-Pereira JM, Santos-Costa Q. (2008) Os recetores das quimiocinas e a sua importância no ciclo replicativo do vírus da imunodeficiência humana: Implicações clínicas e terapêuticas. *Acta Medica Portuguesa.*, 21(5): 497-504.
52. Santos-Costa Q, Parreira R, Moniz-Pereira J, Azevedo-Pereira JM. (2009) Molecular characterization of the env gene of two CCR5/CXCR4-independent human immunodeficiency 2 primary isolates. *Journal of Medical Virology*, 81(11): 1869-81.
53. Simmons G, Reeves JD, Hibbitts S, Stine JT, Gray PW, Proudfoot AE, *et al.* (2000). Co-receptor use by HIV and inhibition of HIV infection by chemokine receptor ligands. *Immunological Reviews* 177: 112-26.
54. Santos-Costa Q, Mansinho K, Moniz-Pereira J, Azevedo-Pereira JM. (2009) Characterization of HIV-2 chimeric viruses unable to use CCR5 and CXCR4 coreceptors. *Virus Research*, 142(1-2):41-50.
55. Samson M, Libert F, Doranz BJ, Rucker J, Liesnard C, Farber CM, *et al.* (1996). Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature* 382: 722-5.

56. Liu R, Paxton WA, Choe S, Ceradini D, Martin SR, Horuk R, *et al.* (1996). Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell* 86: 367-77.
57. Connor RI, Sheridan KE, Ceradini D, Choe S, Landau NR. (1997). Change in coreceptor use correlates with disease progression in HIV-1 infected individuals. *Journal of Experimental Medicine* 185: 621-8.
58. Tersmette M, de Goede RE, Al BJ, Winkel IN, Gruters RA, Cuypers HT, *et al.* (1988). Differential syncytium-inducing capacity of human immunodeficiency virus isolates: frequent detection of syncytium-inducing isolates in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and AIDS-related complex. *Journal of Virology* 62: 2026-32.
59. Shi Y, Brandin E, Vincic E, Jansson M, Blaxhult A, Gyllensten K, *et al.* (2005) Evolution of human immunodeficiency virus type 2 coreceptor usage, autologous neutralization, envelope sequence and glycosylation. *The Journal of General Virology*, 86:3385-96.
60. Reeves JD, Hibbitts S, Simmons G, McKnight A, Azevedo-Pereira JM, Moniz-Pereira J, *et al.* (1999). Primary human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) isolates infect CD4- negative cells via CCR5 and CXCR4: comparison with HIV-1 and simian immunodeficiency virus and relevance to cell tropism in vivo. *Journal of Virology* 73: 7795-804.
61. Guillemain G, Croitoru J, Boussin FD, Le Grand R, Franck-Duchenne M, Dormont D. (1998). Astrocytes and lentivirus infection in an experimental model of macaque infected with SIVmac₂₅₁. *Comptes Rendus des Seances de la Societe UteU de Biologie et de Ses Filiales* 192: 179-86.
62. Brun-Vezinet F, Rey MA, Katlama C, Girard PM, Roulot D, Yeni P, *et al.* (1987). Lymphadenopathy-associated virus type 2 in AIDS and AIDS-related complex. Clinical and virological features in four patients. *Lancet* 1: 128-32.
63. Drylewicz J, Matheron S, Lazaro E, Damond F, Bonnet F, Simon F, *et al.* (2008) Comparison of viro-immunological marker changes between HIV-1 and HIV-2-infected patients in France. *AIDS*, 22 (4): 457–68.
64. Holmgren B, da Silva Z, Vastrup P, Larsen O, Andersson S, Ravn H, *et al.* (2007) Mortality associated with HIV-1, HIV-2, and HTLV-I single and dual infections in a middle-aged and older population in Guinea-Bissau. *Retrovirology*, 4:85.

65. Damond F, Gueudin M, Pueyo S, Farfara I, Robertson DL, Descamps D, *et al.* (2002) Plasma RNA viral load in human immunodeficiency virus type 2 subtype A and subtype B infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(10):3654-9.
66. Andersson S, Norrgren H, da Silva Z, Biague A, Bamba S, Kwok S, *et al.* (2000). Plasma viral load in HIV-1 and HIV-2 singly and dually infected individuals in Guinea-Bissau, West Africa: significantly lower plasma virus set point in HIV-2 infection than in HIV-1 infection. *Archives of Internal Medicine* 160, 3286-93.
67. Berry N, Ariyoshi K, Jaffar S, Sabally S, Corrah T, Tedder R, *et al.* (1998). Low peripheral blood viral HIV-2 RNA in individuals with high CD4 percentage differentiates HIV-2 from HIV-1 infection. *Journal of Human Virology* 1: 457±68.
68. Simon F, Matheron S, Tamalet C, Loussert-Ajaka I, Bartczak S, Pépin JM, *et al.* (1993). Cellular and plasma virus load in patients infected with HIV-2. *AIDS* 7: 1411-7.
69. van der Loeff MF, Larke N, Kaye S, Berry N, Ariyoshi K, Alabi A, *et al.* (2010) Undetectable plasma viral load predicts normal survival in HIV-2-infected people in a West African village. *Retrovirology*, 7:46.
70. Whittle H, Morris J, Todd J, Corrah T, Sabally S, Bangali J, *et al.* (1994). HIV-2-infected patients survive longer than HIV-1-infected patients. *AIDS*, 8:1617-20.
71. Fauci AS. (1993) Immunopathogenesis of HIV infection. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 6:655-62.
72. Poulsen AG, Aaby P, Larsen O, Jensen H, Naucler A, Lisse IM, *et al.* (1997). 9-year HIV-2-associated mortality in an urban community in Bissau, west Africa. *Lancet*, 349:911-4.
73. Grabar S, Selinger-Leneman H, Abgrall S, Pialoux G, Weiss L, Costagliola D. (2009) Prevalence and comparative characteristics of long-term nonprogressors and HIV controller patients in the French Hospital Database on HIV. *AIDS*, 23:1163–9.
74. Ariyoshi K, Jaffar S, Alabi AS, Berry N, Schim van der Loeff M, Sabally S, *et al.* (2000) Plasma RNA viral load predicts the rate of CD4 T cell decline and death in HIV-2-infected patients in West Africa. *AIDS*, 14:339-44.
75. Whittle H, Egboga A, Todd J, Corrah T, Wilkins A, Demba E, *et al.* (1992). Clinical and laboratory predictors of survival in Gambian patients with symptomatic HIV-1 or HIV-2 infection. *AIDS*, 6:685-9.

76. Pepin J, Morgan G, Dunn D, Gevao S, Mendy M, Gaye I, *et al.* (1991). HIV-2-induced immunosuppression among asymptomatic West African prostitutes: evidence that HIV-2 is pathogenic, but less so than HIV-1. *AIDS*, 5:1165–72.
77. Marlink R, Kanki P, Thior I, Travers K, Eisen G, Siby T, *et al.* (1994). Reduced rate of disease development after HIV-2 infection as compared to HIV-1. *Science*, 265:1587–90.
78. Martinez-Steele E, Awasana AA, Corrah T, Sabally S, van der Sande M, Jaye A, *et al.* (2007) Is HIV-2- induced AIDS different from HIV-1-associated AIDS? Data from a West African clinic. *AIDS*, 21(3):317-24.
79. Popper SJ, Sarr AD, Gueye-Ndiaye A, Mboup S, Essex ME, Kanki PJ. (2000). Low plasma human immunodeficiency virus type 2 virus load is independent of provirus load: low virus production in vivo. *Journal of Virology*, 74: 1554-7.
80. Barroso H, Taveira N. (2005) Evidence for negative selective pressure in HIV-2 evolution in vivo. *Infection Genetics and Evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 5(3):239-46.
81. Duvall MG, Jaye A, Dong T, Brenchley JM, Alabi AS, Jeffries DJ, *et al.* (2006) Maintenance of HIV-Specific CD4+ T cell help distinguishes HIV-2 from HIV-1 infection. *Journal of Immunology*, 176:6973-81.
82. Duvall MG1, Precopio ML, Ambrozak DA, Jaye A, McMichael AJ, Whittle HC, *et al.* (2008) Polyfunctional T cell responses are a hallmark of HIV-2 infection. *European Journal of immunology* 38: 350–63.
83. Alatrakchi N1, Damond F, Matheron S, Beretta-Tempelhoff S, Campa P, Carcelain G, *et al* (2006) Proliferative, IFN γ and IL-2- producing T-cell responses to HIV-2 in untreated HIV-2 infection. *AIDS* 20: 29–34.
84. Albuquerque AS, Cortesão CS, Foxall RB, Soares RS, Victorino RM, Sousa AE. (2007) Rate of increase in circulating IL-7 and loss of IL-7 alpha expression differ in HIV-1 and HIV-2 infections: two lymphopenic diseases with similar hyperimmune activation but distinct outcomes. *Journal of Immunology*, 178(5):3252-9.
85. Rowland-Jones, S. (2006) Protective immunity against HIV infection: lessons from HIV-2 infection. *Future Microbiology* 1: 427–33.
86. Cavaleiro R, Sousa AE, Loureiro A, Victorino RM. (2000) Marked immunosuppressive effects of the HIV-2 envelope protein in spite of the lower HIV-2 pathogenicity. *AIDS* 14: 2679-86.

87. Marcelino JM, Nilsson C, Barroso H, Gomes P, Borrego P, Maltez F, *et al.* (2008) Envelope-specific antibody response in HIV-2 infection: C2V3C3-specific IgG response is associated with disease progression. *AIDS*: 22(17):2257-65.
88. Weiss RA, Clapham PR, Weber JN, Whitby D, Tedder RS, O'Connor T, *et al.* (1988) HIV-2 antisera cross-neutralize HIV-1. *AIDS* 2: 95–100.
89. Rodriguez SK1, Sarr AD, MacNeil A, Thakore-Meloni S, Gueye-Ndiaye A, Traoré I, *et al.* (2007) Comparison of heterologous neutralizing antibody responses between HIV-1 and HIV-2 infected Senegalese patients: Distinct patterns of breadth and magnitude distinguish HIV-1 and HIV-2. *Journal of Virology* 81: 5331-8.
90. Matheron S1, Pueyo S, Damond F, Simon F, Leprêtre A, Campa P, *et al.* (2003) Factors associated with clinical progression in HIV-2 infected patients: the French ANRS cohort. *AIDS* 17:2593–601.
91. Bienaime A, Colson P, Moreau J, Zandotti C, Pellissier J-F, Brouqui P. (2006) Progressive multifocal leukoencephalopathy in HIV-2 infected patient. *AIDS* 20:1342–43.
92. Shahinian V, Rajaraman S, Borucki M, Grady J, Hollander WM, Ahuja TS. (2000) Prevalence of HIV-associated nephropathy in autopsies of HIV-infected patients. *American Journal of Kidney Diseases* 35:884–8.
93. Moulignier A, Lascoux C, Bourgarit A. (2006) HIV type 2 demyelinating encephalomyelitis. *Clinical Infectious Diseases* 42: e89–91.
94. Nisole S, Stoye JP, Saïb A. (2005) TRIM family proteins: retroviral restriction and antiviral defence. *Natural Reviews Microbiology* 3: 799–808.
95. Ylinen LM, Keckesova Z, Wilson SJ, Ranasinghe S, Towers GJ. (2005) Differential restriction of human immunodeficiency virus type 2 and simian immunodeficiency virus SIVmac by TRIM5alpha alleles. *Journal of Virology* 79: 11580–7.
96. Landman R, Damond F, Gerbe J, Brun-Vezinet F, Yeni P, Matheron S. (2009) Immunovirological and therapeutic follow-up of HIV-1/HIV-2-dually seropositive patients. *AIDS* 23(3):426-8.
97. Travers K, Mboup S, Marlink R, Guèye-Nidaye A, Siby T, Thior I, *et al.* (1995). Natural protection against HIV-1 infection provided by HIV-2. *Science* 268(5217): 1612–5.
98. Greenberg AE. (2001) Possible protective effect of HIV-2 against incident HIV-1 infection: review of available epidemiological and in vitro data. *AIDS* 15: 2319–21.

99. Rowland-Jones SL, Whittle HC. (2007) Out of Africa: what can we learn from HIV-2 about protective immunity to HIV-1? *Nature Immunology* 8(4):329-31.
100. Koblavi-Dème S, Kestens L, Hanson D, Otten RA, Borget MY, Bilé C, *et al.* (2004) Differences in HIV-2 plasma viral load and immune activation in HIV-1 and HIV-2 dually infected persons and those infected with HIV-2 only in Abidjan, Côte D'Ivoire. *AIDS* 18(3):413-9.
101. Centers for Disease Control and Prevention and Association of Public Health Laboratories. (2004) Laboratory Testing for the Diagnosis of HIV Infection: Updated Recommendations. Disponível em <http://dx.doi.org/10.15620/cdc.23447>. Acedido a 17 de Março de 2016.
102. Mullins C, Eisen G, Popper S, Dieng Sarr A, Sankale JL, Berger JJ, *et al.* (2004) Highly active antiretroviral therapy and viral response in HIV type 2 infection. *Clinical Infectious Diseases*, 38(12):1771-9.
103. Smith NA, Shaw T, Berry N, Vella C, Okorafor L, Taylor D, *et al.* (2001) Antiretroviral therapy for HIV-2 infected patients. *The Journal of Infection* 42(2):126-33.
104. Gilleece Y, Chadwick DR, Breuer J, Hawkins D, Smit E, McCrae LX, Pillay D, Smith N, Anderson J; BHIVA Guidelines Subcommittee. (2010) British HIV Association guidelines for antiretroviral treatment of HIV-2-positive individuals 2010. *HIV Medicine* 11(10):611-9.
105. Centers for Disease Control and Prevention. (1992) 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MMWR Recommendations and Reports* 41(RR-17):1-19. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00018871.htm>. Acedido a 19 de Março de 2016.
106. World Health Organization. WHO Case Definitions of HIV for Surveillance and Revised Clinical Staging and Immunological Classification of HIV-Related Disease in Adults and Children (2007). Disponível em: <http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/HIVstaging150307.pdf>. Acedido a 19 de Março de 2016.
107. Jallow S, Alabi A, Sarge-Njie R, Peterson K, Whittle H, Corrah T, *et al.* (2009) Virological response to highly active antiretroviral therapy in patients infected with human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) and in patients dually infected with

- HIV-1 and HIV-2 in the Gambia and emergence of drug-resistant variants. *Journal of Clinical Microbiology* 47(7):2200-8.
108. Ekouevi DK, Tchounga BK, Coffie PA, Tegbe J, Anderson AM, Gottlieb GS, *et al.* (2014) Antiretroviral therapy response among HIV-2 infected patients: a systematic review. *BMC Infectious Diseases* 14(1):461.
 109. Ntemgwa M, Brenner BG, Oliveira M, Moisi D, Wainberg MA. (2007) Natural polymorphisms in the human immunodeficiency virus type 2 protease can accelerate time to development of resistance to protease inhibitors. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(2):604-10.
 110. Ntemgwa ML, d'Aquin Toni T, Brenner BG, Camacho RJ, Wainberg MA. (2009). Antiretroviral drug resistance in human immunodeficiency virus type 2. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(9):3611-9.
 111. Witvrouw M, Pannecouque C, Van Laethem K, Desmyter J, De Clercq E, Vandamme AM. (1999) Activity of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors against HIV-2 and SIV. *AIDS* 13, 1477–83.
 112. Isaka Y, Miki S, Kawauchi S, Suyama A, Sugimoto H, Adachi A, *et al.* (2001) A single amino acid change at Leu-188 in the reverse transcriptase of HIV-2 and SIV renders them sensitive to non- nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Archives of Virology* 146, 743–55.
 113. Desbois D, Roquebert B, Peytavin G, Damond F, Collin G, Bénard A, *et al.* (2008) In vitro phenotypic susceptibility of human immunodeficiency virus type 2 clinical isolates to protease inhibitors. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 52, 1545–8.
 114. Benard A, van Sighem A, Taieb A, Valadas E, Ruelle J, Soriano V, *et al.* (2011) Immunovirological response to triple nucleotide reverse-transcriptase inhibitors and ritonavir-boosted protease inhibitors in treatment-naive HIV-2-infected patients: the ACHI(E)V(2E) collaboration study group. *Clinical Infectious Diseases*, 52(10):1257–66.
 115. COHERE in EuroCoord and ACHIeV2e study team writing committee. CD4 cell count response to first-line combination antiretroviral treatment in HIV-2 and HIV-1 positive patients: A Multinational Multicohort Study. (2016) Sessão de poster apresentado em: Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI); 22-25 Fevereiro 2016; Boston (EUA).

116. NAIDS/WHO working group on global HIV/AIDS and STI surveillance (2015) Guideline on when to start antiretroviral therapy and on pre-exposure prophylaxis for HIV. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/186275/1/9789241509565_eng.pdf?ua=1. Acedido a 19 de Março de 2016.
117. Casado C, Colombo S, Rauch A, Martinez R, Gunthard HF, Garcia S, *et al.* (2010) Host and viral genetic correlates of clinical definitions of HIV-1 disease progression. *PLoS One* 5: e11079.
118. Gaardbo JC, Hartling HJ, Gerstoft J, Nielsen SD. (2012) Thirty years with HIV infection—Nonprogression is still puzzling: lessons to be learned from controllers and long-term nonprogressors, *AIDS Research and Treatment* 2012, Article ID 161584, 14 pages. doi:10.1155/2012/161584
119. Mota-Miranda A, Gomes H, Serrão R, Araújo F. (2004) Transmission of HIV-2: another perspective. *Lancet Infectious Diseases*, 4(5):265-6.