

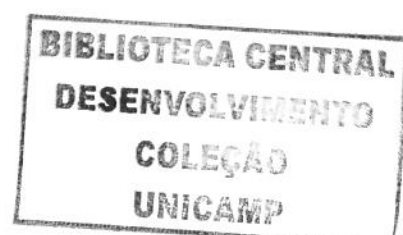
LUÍS FERNANDO WAIB

**RETIRADA DA TERAPIA DE MANUTENÇÃO PARA
RETINITE POR CITOMEGALOVÍRUS EM PACIENTES
COM AIDS E RESPOSTA IMUNOLÓGICA À TERAPIA
ANTI-RETROVIRAL ALTAMENTE EFICAZ (HAART)**

CAMPINAS

2003

i



LUÍS FERNANDO WAIB

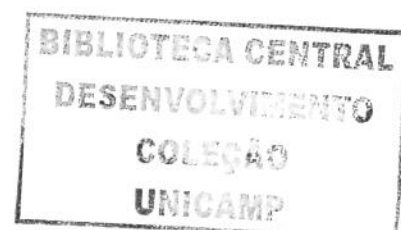
**RETIRADA DA TERAPIA DE MANUTENÇÃO PARA
RETINITE POR CITOMEGALOVÍRUS EM PACIENTES
COM AIDS E RESPOSTA IMUNOLÓGICA À TERAPIA
ANTI-RETROVIRAL ALTAMENTE EFICAZ (HAART)**

**Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre
em Clínica Médica, área de Concentração em
Clínica Médica.**

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Cecília Botelho Costa

CAMPINAS

2003



UNIDADE	ABRIL
Nº CHAMADA	W131r
V	EX
TOMBO BC	65507
PROC.	16-86-05
C	☐
D	☒
PREÇO	11.00
DATA	31-8-05
Nº CPD	

bibid 363921

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

W131r

Waib, Luís Fernando

Retirada da terapia de manutenção para retinite por citomegalovírus em pacientes com aids e resposta imunológica à terapia antiretroviral altamente eficaz (HAART) / Luís Fernando Waib. Campinas, SP : [s.n.], 2003.

Orientador : Sandra Cecília Botelho Costa

**Dissertação : (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.**

1. HIV (Vírus) . I. Sandra Cecília Botelho Costa. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Banca Examinadora da Defesa de Tese de Mestrado

Orientador(a): *Profa Dra. Sandra Cecília Botelho Costa*

Membros:

1. Prof(a). Dr(a). Sandra Cecília Botelho Costa _____
 2. Prof(a). Dr(a). Fernando Lopes Gonçalves Júnior _____
 3. Prof(a). Dr(a). Benedito Antônio Lopes da Fonseca _____
-

Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica, área de concentração Clínica Médica, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 22/05/2003

À professora Sandra Costa, pela inspiração e apoio em todos os momentos.

Ao professor Cláudio Pannuti, pelas valorosas e indispensáveis colaborações, tanto materiais como intelectuais.

À amiga Sandra Bonom, pela didática e toda a ajuda dentro do laboratório.

Ao Dr. Nelson Machiaverni, pelas avaliações oftalmológicas.

Ao Dr. Augusto Cesar Penalva, pelas avaliações neurológicas e contribuições inestimáveis à interpretação dos resultados.

Ao Dr. Gil Bernard, pela realização dos testes de resposta linfoproliferativa.

À Marcina Garcia e Silvia Wenzel Garcia, pela realização dos testes de carga viral e contagem de subpopulações linfocitárias.

À Unicamp pelo estímulo à pesquisa.

Finalmente, a todas as instituições participantes do projeto, pelo apoio.

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, Felício e Hélia Waib,
sem os quais nada disso jamais teria
sido alcançado.*

	<i>Pág</i>
RESUMO	<i>xiii</i>
ABSTRACT	<i>xv</i>
1- INTRODUÇÃO	17
1.1- Síndrome da Imunodeficiência Adquirida	18
1.2- Citomegalovírus	23
1.2.1- Virologia.....	23
1.2.2- Epidemiologia.....	24
1.2.3- Quadro clínico no indivíduo imunocompetente.....	25
1.3- CMV e a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida	25
2- OBJETIVOS	29
3- CASUÍSTICA E MÉTODOS	31
3.1- Pacientes	32
3.2- Técnicas laboratoriais	32
3.2.1- Antigenemia (pp65)	33
3.2.2- Contagem de subpopulações linfocitárias.....	37
3.2.3- Carga viral para HIV-1.....	37
3.2.4- Teste de Resposta Linfoproliferativa.....	37
3.3- “Endpoints”	39
4- RESULTADOS	40
4.1- Recorrência da doença pelo CMV e outros eventos	43

4.2- Testes de antigenemia.....	44
4.3. Testes de resposta linfoproliferativa.....	44
5- DISCUSSÃO.....	46
6- CONCLUSÃO.....	50
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

AB, soro	Soro proveniente de doadores de grupo sanguíneo AB
AIDS/SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ALT	Alanina Aminotransferase
ARV	Anti-retrovirais
CD	Agrupamentos celulares de diferenciação
CMA	Candida Metabolic Antigen
CMV	Citomegalovírus
c.p.m./wells	Contagem por minuto / poço (na placa de cultura)
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EA	Antígenos precoces
ELISpot	“Enzyme-linked ImmunoSpot Assay”
HAART	Terapia anti-retroviral altamente eficaz
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IEA	Antígenos imediatamente precoces
IP	Inibidores de protease
ITR	Inibidores de transcriptase reversa
LCR	Líquido cefalorraquidiano
LPA	Testes de resposta linfoproliferativa
MHC-II	Complexo maior de histocompatibilidade – classe II
NASBA	Amplificação baseada na sequência de ácidos nucleicos
NITR	Inibidor de transcriptase reversa análogo nucleosídeo
NNITR	Inibidor de transcriptase reversa não-análogo nucleosídeo
PCR	Reação em cadeia de polimerase
PWM	“Pokeweed Mitogen”
RNA	Ácido ribonucleico

RPMI	Meio de cultivo celular “ <i>Roswell Park Memorial Institute</i> ”
SUS	Sistema Único de Saúde
TH2	“T-helper 2”
VRI	Vitrite da recuperação imune

	<i>Pág.</i>
Tabela 1- Contagem de células CD4+ e os índices de resposta linfoproliferativa.....	45

	<i>Pág.</i>
Figura 1- História natural da infecção pelo HIV.....	18
Figura 2- Associação entre as doenças oportunistas e a contagem de células CD4+.....	19
Figura 3- Ciclo de replicação do HIV e os pontos de ação dos principais anti-retrovirais.....	21
Figura 4- Citomegalovírus humano.....	23
Figura 5- Retinite por citomegalovírus.....	26
Figura 6A e 6B- Antigenemia (pp65) para CMV.....	34

	<i>Pág.</i>
Quadro 1- Anti-retrovirais disponíveis para uso clínico.....	22
Quadro 2- Técnica de antigenemia “in-house”	35
Quadro 3- Protocolo para realização de teste de resposta linfoproliferativa.....	38
Quadro 4- Centros de acompanhamento e características dos pacientes.....	42

RESUMO

A fim de determinar a segurança da retirada da terapia de manutenção para retinite por CMV em pacientes com AIDS com resposta imunológica decorrente da terapia anti-retroviral altamente eficaz (HAART), 35 pacientes com retinite por CMV tratada, em terapia supressiva, com CD4+ maior ou igual a 100 células/mm³ por ao menos três meses e carga viral menor que 30.000 cópias/mm³, foram estudados prospectivamente quanto à recorrência da doença pelo CMV. A terapia de manutenção foi retirada à inclusão, e os pacientes foram monitorizados por ao menos 48 semanas, através de exames clínicos e oftalmológicos, e pela determinação de marcadores de viremia para CMV (antigenemia - pp65), contagem de células CD4+/CD8+ e determinação de carga viral plasmática do HIV. Estudos de resposta linfoproliferativa foram realizados em 26 dos 35 pacientes. Dos pacientes incluídos no estudo, apenas um teve reativação da retinite pelo CMV (retinite) no dia 120 do seguimento. Nenhum paciente apresentou antigenemias positivas, mesmo na presença de doença pelo CMV. Não foi observada correlação entre os resultados de estudos linfoproliferativos e a contagem de CD4+. A partir destes resultados e, de acordo com a literatura, pode-se concluir que a retirada da terapia supressiva é segura nos pacientes com resposta imunológica quantitativa após HAART.

ABSTRACT

To determine the safety of CMV maintenance therapy withdrawal in patients with immune recovery after HAART, 35 patients with treated CMV retinitis, on maintenance therapy, with CD4+ cell count greater than 100 cells/mm³ for at least three months and viral load <30000 copies, were prospectively evaluated for the recurrence of CMV disease. Maintenance therapy was withdrawn at inclusion, and patients were monitored for at least 48 weeks by clinical and ophthalmological evaluations, and by determination of CMV viremia markers (antigenemia-pp65), CD4+/CD8+ counts and plasma HIV RNA levels. Lymphoproliferative assays were performed on 26/35 patients. From 35 patients included, only one had confirmed reactivation of CMV retinitis, at day 120 of follow-up. No patient returned positive antigenemia tests, even in presence of CMV disease. No correlation between lymphoproliferative assays and CD4+ counts was observed. CMV maintenance therapy discontinuation is safe for those patients with quantitative immune recovery after HAART.

1- INTRODUÇÃO

1.1- Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA/AIDS)

A infecção pelo HIV foi um dos eventos de maior impacto socioeconômico e cultural do século XX. Estima-se que, atualmente, 42 milhões de pessoas estejam infectadas pelo HIV, sendo 1.5 milhão de pessoas apenas na América Latina (UNAIDS, 2002).

A infecção pelo HIV determina uma série de eventos que culminam com a deterioração do sistema imune do hospedeiro a partir da depleção de linfócitos CD4+, e conseqüentemente com o aparecimento de doenças determinadas por agentes oportunistas, potencialmente graves, no período médio de 8 a 10 anos (VERGIS e MELLORS, 2000) (Figura 1).

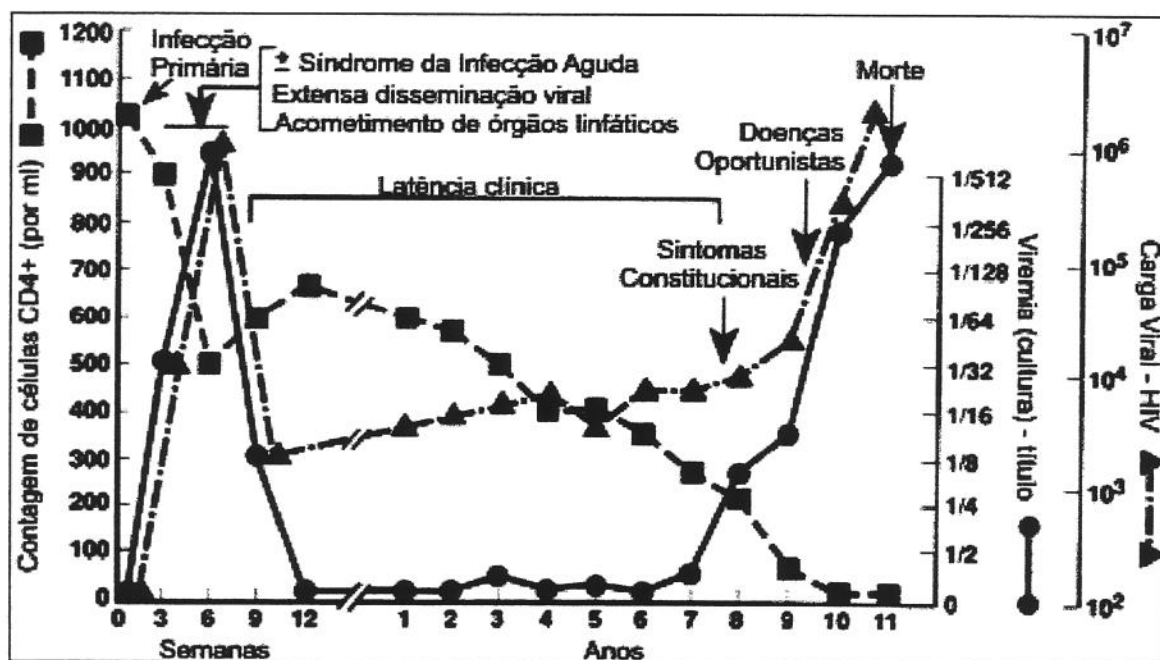


Figura 1- História natural da infecção pelo HIV-1 (Adaptado de: FAUCI, AS; PANTALEO, G; STANLEY, S; WEISSMAN, D. Immunopathogenic mechanisms of HIV infection. *Ann Intern Med.*:124:654-63, 1996.)

Os mecanismos pelos quais o HIV determina a depleção de CD4+ não são completamente compreendidos, mas incluem: lise da célula CD4+ causada pelo brotamento viral e/ou inserção de glicoproteína ENV; efeito citopático da ligação gp120/CD4 no citoplasma; lise da célula infectada por ação da resposta imune ao HIV; inibição da maturação dos linfócitos no timo; apoptose induzida pela gp120 solúvel; bloqueio da interação entre células CD4+ e os MHC-II das células apresentadoras de antígenos; dano às células T de memória e desvio para padrão T_H2 de diferenciação (ABBAS et al., 1997).

Os agentes oportunistas que são capazes de infectar um indivíduo com AIDS dependem essencialmente da extensão do dano ao “pool” de células CD4+ (CLUMECK e DE WIT, 1999) (Figura 2).

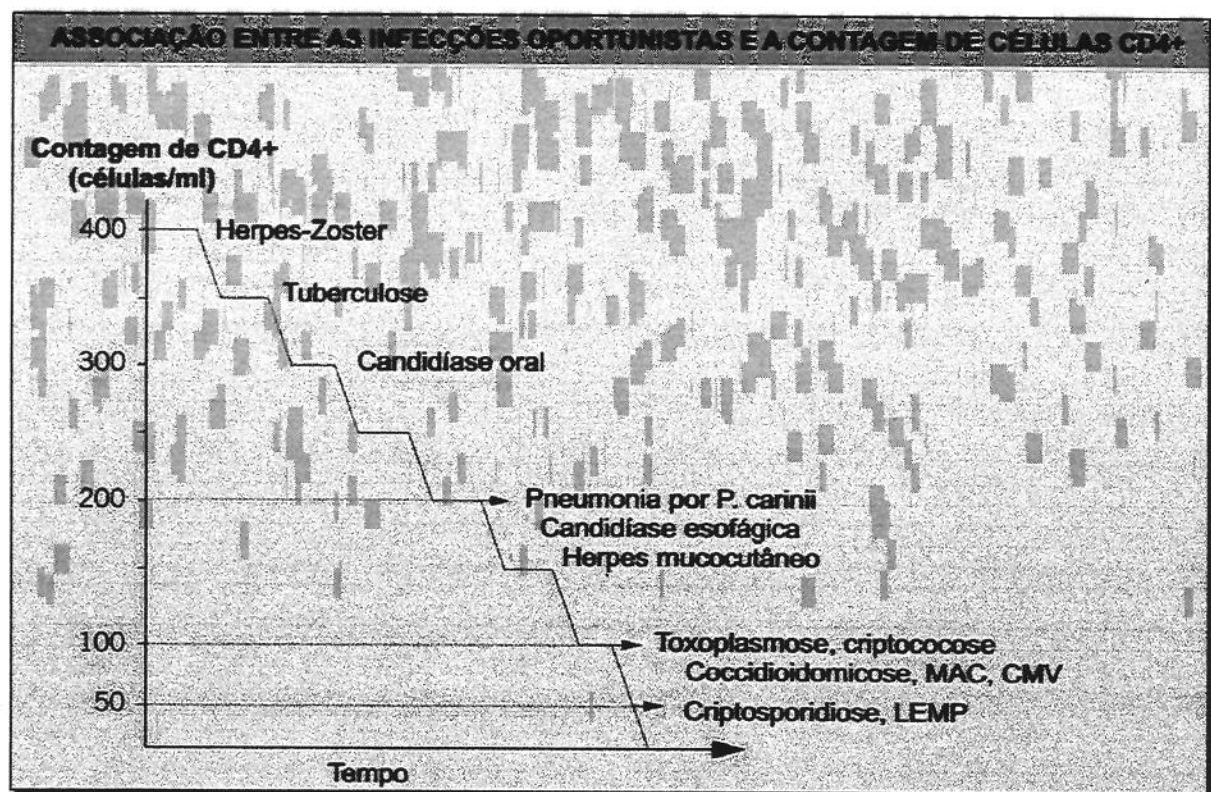


Figura 2- Associação entre as doenças oportunistas e a contagem de células CD4+
(Adaptado de ARMSTRONG, D. *In Infectious Diseases*, 1999, Mosby)

A estratégia disponível para tratamento da infecção pelo HIV é baseada em intervenção nos passos do ciclo do vírus, particularmente no bloqueio da fusão, da transcrição reversa, da ação das proteases e integrases (Quadro 1). O bloqueio da fusão ocorre através do bloqueio dos pontos de ancoragem do HIV na célula CD4⁺; o bloqueio à transcrição reversa ocorre após a entrada do HIV na célula CD4⁺, durante o processo de conversão do RNA viral para DNA. O bloqueio da integrase se dá após o transporte do DNA para o núcleo da célula, impedindo a integração do DNA viral no cromossoma da célula infectada através das integrases virais – até o presente momento, não há inibidores de integrase à disposição no mercado, mas apenas como objeto de pesquisa. A clivagem de proteínas virais produzidas a partir do DNA integrado é interrompida através do bloqueio das proteases, que impede a transformação final das longas moléculas protéicas em enzimas, proteínas estruturais e funcionais; o HIV deixa, portanto, de se tornar infectante para as novas células (HANNA e HIRSCH, 2000) (Figura 3).

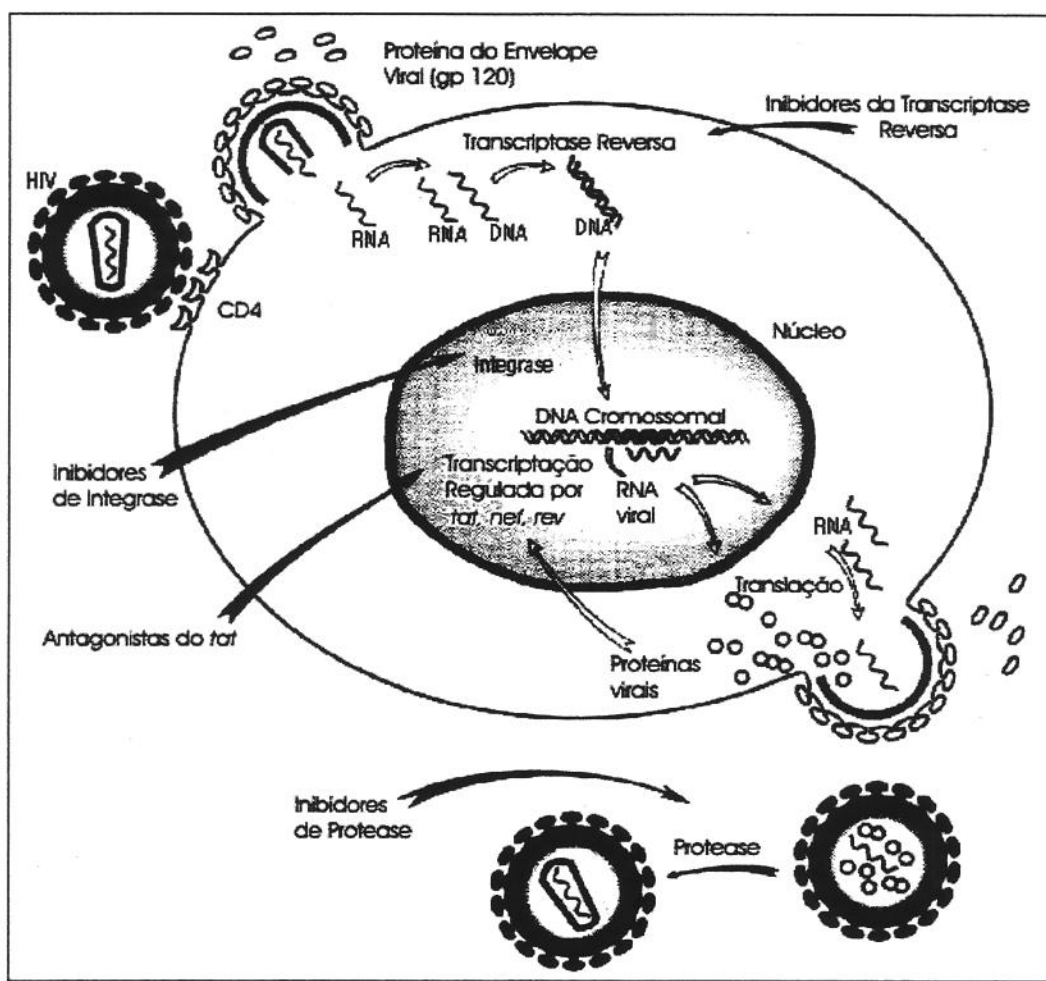


Figura 3- Ciclo de replicação do HIV e pontos de ação dos principais anti-retrovirais (Fonte: MCDONALD, C., KURITZKES, D.R. Human Immunodeficiency Virus Type 1 Protease Inhibitors, *Arch Intern Med.*: 157:951-9, 1997)

Considera-se que um esquema anti-retroviral seja “altamente eficaz”, quando a combinação destes agentes resulta em supressão viral prolongada, ou seja, redução da carga viral para níveis indetectáveis pelos testes convencionais (inicialmente abaixo de 400 cópias/mm³, hoje abaixo de 50 cópias/mm³). Os primeiros esquemas a atingir este patamar de resultado incluíam dois inibidores de transcriptase reversa (ITR) e um ou dois inibidores de protease (IP). Atualmente, é possível conseguir supressão viral satisfatória com esquemas contendo apenas ITRs (DHHS/KAISER, 2002).

A supressão viral prolongada mostrou-se capaz de permitir a recuperação das células depletadas durante o processo patológico, com impacto na recuperação imunológica, e conseqüentemente, na sobrevida (PORTER, 2000).

A expectativa de vida de um paciente com AIDS em tratamento com um esquema altamente eficaz é atualmente indeterminada.

Quadro 1- Anti-retrovirais disponíveis para uso clínico.

Inibidores de transcriptase reversa (análogos nucleosídeos)	
Análogos da Timidina	Zidovudina (AZT)
	Estavudina (D4T)
Não análogos da Timidina	Didanosina (DDI)
	Zalcitabina (DDC)*
	Lamivudina (3TC)
	Tenofovir
	Abacavir (ABC)
	Emtricitabina
Inibidores de transcriptase reversa (não-análogos nucleosídeos)	
	Efavirenz
	Delavirdina*
	Nevirapina
Inibidores de protease	
	Indinavir
	Saquinavir
	Ritonavir
	Nelfinavir
	Lopinavir/Ritonavir
	Amprenavir
Inibidores de fusão	T-20

1.2- Citomegalovirus

1.2.1- Virologia

O CMV é um vírus do grupo herpes (família *Herpesviridae*, subfamília *Bethaherpesviridae*), classificado como Herpes-vírus humano 5, (HANSEN et al., 1994) estando entre os oito tipos de herpes-vírus que são patogênicos para o homem. Trata-se de um DNA-vírus, bastante termolábil, tendo vida média de 45 minutos a 37°C (PANNUTI, C. S., 1996), e de 10 minutos a 56°C. É sensível a baixos pH, éter e ciclos de congelamento e descongelamento (Figura 4).

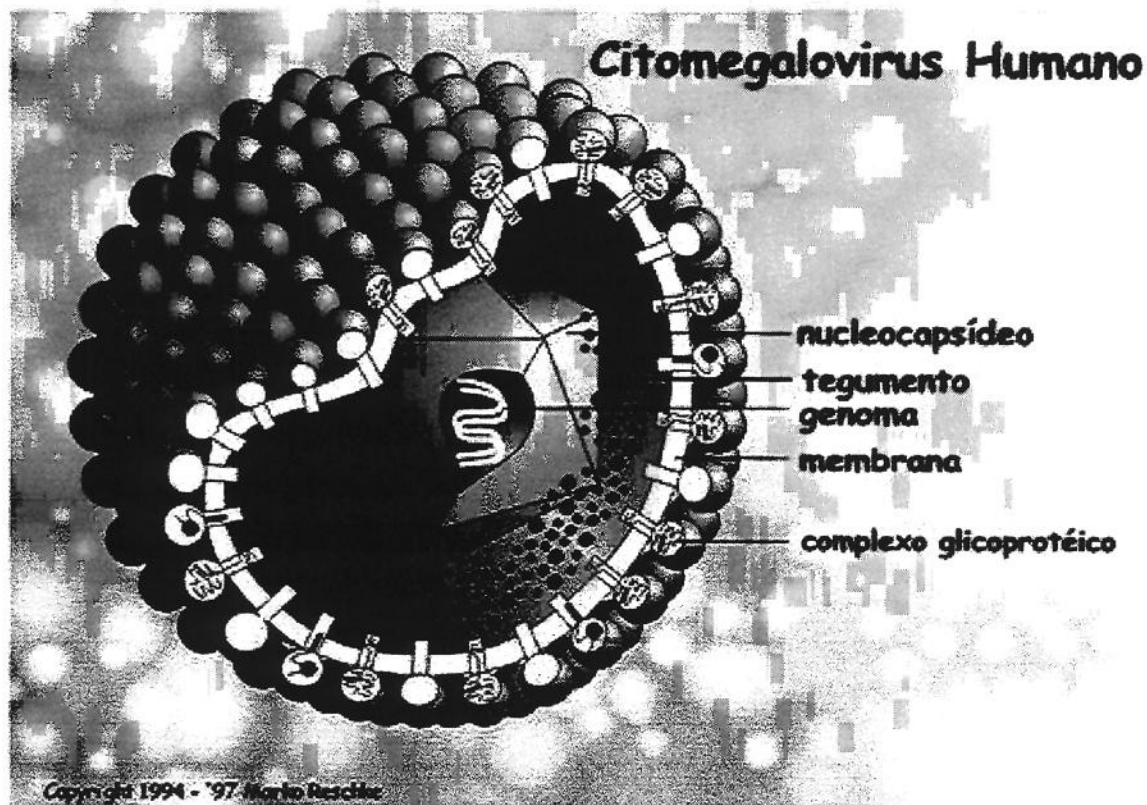


Figura 4- Citomegalovírus humano (adaptado com permissão de Dr. Marko Reschke, Biografix Projekt, Alemanha)

O CMV é encontrado na natureza como agente infectante de outros animais como macacos, cobaias e camundongos, mas tais cepas são espécie-específicas e não infectam o homem.

Tem ciclo replicativo semelhante aos demais herpes-vírus, com transcrição de alguns genes após a infecção, que vão codificar proteínas capazes de regular a expressão do material genético incorporado (IEA – antígenos imediatamente precoces), e a conseqüente produção dos antígenos precoces (EA), que são expressos nas membranas celular e nuclear, nesta ordem. A expressão dos antígenos tardios se relaciona com a replicação do DNA e tem função constitucional.

1.2.2- Epidemiologia

A infecção pelo CMV é bastante comum, sendo a prevalência entre recém-nascidos de 0,2 a 2,2% nos EUA (PANNUTI, C S, 1983), taxa que aumenta na medida em que o contato social permite a transmissão (DE JONG et al., 1998; DE MELLO et al., 1996; MACHADO et al., 1991). A transmissão do CMV parece acontecer principalmente nos primeiros 25 anos de vida, mas encontra dois momentos em que é mais intensa. O primeiro é o período neonatal, por meio do contato com o vírus no muco cervical (REYNOLDS et al., 1973) e com o leite materno (STAGNO et al., 1980). Na infância, as principais vias de infecção são o contato com outras crianças em berçários e no próprio domicílio (BALE et al., 1999; DE MELLO et al., 1996; PASS et al., 1982). Crianças infectadas podem carrear o vírus no trato respiratório e urinário por anos, ao passo que, em adultos saudáveis, dificilmente eliminam quantidades consideráveis de partículas virais. (KUMAR et al., 1973) Exceções são os pacientes com AIDS soropositivos para CMV, com contagem de células CD4+ inferior a 50 células por mm³ (GALLANT et al., 1992; PERTEL et al., 1992), que mantêm excreção viral.

A taxa de infecção cresce então lentamente nos primeiros anos de vida e, particularmente naqueles países onde há baixa soroprevalência, pode-se observar um novo pico no início do período reprodutivo, quando, presumidamente, a transmissão por via sexual ganha importância. A prevalência nos países desenvolvidos varia entre 40 e 60%, mas nos países subdesenvolvidos se situa entre 80 e 100% (PANNUTI, C S, 1983).

1.2.3- Quadro clínico no indivíduo imunocompetente

À entrada no hospedeiro, o CMV infecta linfócitos, monócitos, macrófagos, sendo disseminado por todo o organismo por estas células.

O CMV, assim como os demais herpes-vírus, possui a capacidade de disseminar-se célula a célula na presença de anticorpos circulantes, permanecer em estado latente no hospedeiro, reativar-se em condições de imunossupressão, e induzir imunossupressão no hospedeiro. (CASTRO, 2001)

Quando é percebido clinicamente, o quadro é semelhante à mononucleose, com febre prolongada, linfadenopatia e linfocitose. Podem ocorrer hepatoesplenomegalia e faringoamigdalite, embora sejam muito mais comuns à mononucleose infecciosa causada pelo vírus de Epstein-Barr (EBV). Complicações da infecção pelo CMV podem ocorrer, associadas às manifestações iniciais: pneumonia intersticial, hepatite com elevação de enzimas hepáticas, síndrome de Guillain-Barré, meningoencefalite, miocardite, anemia hemolítica, púrpura trombocitopênica imunológica e erupções de pele (CRUMPACKER, 2000).

O tratamento das formas graves de doença pelo CMV em imunocompetentes é feita com Ganciclovir, um agente análogo nucleosídeo (guanosina) e homólogo do aciclovir, e as doses e duração do tratamento variam conforme o órgão acometido e a situação clínica do paciente.

1.3- CMV e a Síndrome da Imunodeficiência adquirida

A doença pelo Citomegalovírus (CMV) é uma importante causa de morbimortalidade em pacientes com AIDS. A retinite por CMV, presente em 85% dos casos, está entre as doenças oportunistas mais incapacitantes, levando à perda da visão no olho acometido em virtualmente todos os casos não tratados (Figura 5). A retinite por CMV tem uma alta taxa de recidiva a curto prazo, e está fortemente associada com aumento da mortalidade (GALLANT et al., 1992; HOOVER et al., 1996; SMITH e BRENNESSEL,

1994; TAY-KEARNEY e JABS, 1996). A incidência da doença pelo CMV está entre 21 e 44% dos pacientes com AIDS, apresentando contagem de CD4+ menor que 50 células/mm³ (JACOBSON, 1997).



Figura 5- Retinite por Citomegalovírus (Fonte: Armstrong, D. In "Infectious Diseases", 1999, Mosby)

A introdução da profilaxia secundária com Ganciclovir teve grande impacto na história natural da doença pelo CMV, entretanto, a efetiva redução no tempo de progressão da doença só veio a acontecer após a introdução da terapia anti-retroviral altamente eficaz (HAART) na década de 90, e a caracterização da recuperação imunológica sustentada. Os dados da literatura mostram que o tempo estimado para progressão da doença pelo CMV, após o tratamento com Ganciclovir, era de 56 a 113 dias, mesmo com terapia supressiva.

A mortalidade associada à doença pelo CMV também foi bem caracterizada na era pré-HAART. A doença pelo CMV foi associada a um aumento de mortalidade, e a sobrevida média após um episódio de doença por CMV era de 6-9 meses. (ACTG, 1992; DEAYTON, J. R. et al., 2000)

Após o desenvolvimento da terapia anti-retroviral altamente eficaz (HAART), e o subseqüentes sucessos tanto na supressão da replicação do HIV quanto aumento sustentado nos níveis de CD4+ circulantes, estudos caracterizando os efeitos da recuperação imune na história natural das doenças oportunistas foram iniciados. Os primeiros estudos sobre recuperação da imunidade específica contra CMV foram publicados em 1998 (MACDONALD et al., 2000; POWDERLY et al., 1998; WEINBERG et al., 2001), enfocando tanto a resposta humoral (DEAYTON, J. et al., 1999), quanto celular (LI et al., 1998). Os estudos clínicos publicados a seguir demonstraram a baixa incidência de recorrência após a retirada da terapia supressiva em pequenas amostras. (CASSOUX et al., 1999; CURI et al., 2001; JOUAN, M. et al., 2001; JOUAN, M et al., 1999; LI et al., 1998; MACDONALD et al., 1998; POSTELMANS et al., 1999; RUHSWURM et al., 1999; SORIANO et al., 2000; TURAL et al., 1998; VRABEC et al., 1998; WHITCUP et al., 1999).

Mais recentemente, uma nova síndrome foi descrita nos pacientes com retinite por CMV tratada que experimentaram recuperação imunológica após HAART: a Vitrite da Recuperação Imune ("Immune Recovery Vitritis" – VRI). O quadro, descrito pela primeira vez em 1998, consiste de uma perda de acuidade visual progressiva, indolor, acompanhada de vitrite, papilite e envolvimento macular com edema macular cistóide ou membranas epiretinianas.

De patogênese incerta, a Vitrite da Recuperação Imune provavelmente se deve à resposta imune a antígenos de CMV remanescentes no olho. Os dados da literatura mostram que a VRI ocorre apenas em indivíduos que responderam à HAART, indicando recuperação da função imune.

O tratamento da VRI é feito basicamente com corticosteróides, geralmente não há reativação da retinite por CMV e a recuperação visual é satisfatória (KARAVELLAS et al., 2001).

No Brasil, era marcante a ausência de dados provenientes de estudos locais sobre a recuperação imunológica pós-HAART, o que estimulou a elaboração do presente estudo.

2- OBJETIVOS

O objetivo primário deste estudo prospectivo, multicêntrico, não-randomizado, foi o de avaliar a segurança da retirada da terapia supressiva para CMV em pacientes com AIDS e retinite por CMV tratada, exibindo resposta imunológica sustentada à HAART (CD4+ >100 células/mm³ e Carga Viral <30.000 cópias/mm³), bem como antigenemias negativas por pelo menos três meses consecutivos.

O objetivo secundário deste estudo é o de avaliar a utilidade da antigenemia para monitorizar a recorrência de retinite pelo CMV, comparando o teste com dados provenientes de exames clínicos e oftalmológicos.

O protocolo foi desenvolvido de acordo com as normas para pesquisas envolvendo seres-humanos, e aprovada pelos comitês de ética em pesquisa de cada instituição participante.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1- Pacientes

Os pacientes incluídos neste protocolo foram acompanhados nas seguintes Instituições: 1. Leito-dia do Hospital das Clínicas da Unicamp - Universidade Estadual de Campinas (Campinas, Brasil); 2. AMDA - Ambulatório Municipal de DST/AIDS de Campinas (Campinas, Brasil) e 3. Hospital-dia do Instituto de Infectologia Dr. Emílio Ribas (IIER) (São Paulo, Brasil).

Os critérios de inclusão foram: pacientes com AIDS, com história de retinite por CMV tratada, recebendo profilaxia secundária para CMV, com resposta imunológica (quantitativa) sustentada, caracterizada por CD4+ maior que 100 células/mm³ por ao menos três meses antes da inclusão, com carga viral estável e abaixo de 30.000 cópias/mm³.

Os critérios de exclusão foram:

- presença de implante de Ganciclovir ocular;
- presença de qualquer doença retiniana (ou catarata), que impedisse a correta avaliação oftalmológica, como retinite por *Toxoplasma gondii*;
- localização perimacular ou peripapilar da infecção prévia por CMV, devido ao risco de rápida perda visual;
- necessidade de quimio ou radioterapia
- alto risco de morte durante os primeiros 2 meses do estudo;
- necessidade de terapia para doença pelo CMV em outros órgãos;
- incapacidade de compreender os termos da Carta de Consentimento Informado.

3.2- Técnicas Laboratoriais

3.2.1- Antigenemia para CMV (PP65)

Os testes de antigenemia (pp65) foram realizados a cada 15 dias, nos primeiros dois meses após a retirada do Ganciclovir, e, mensalmente, após este período.

Os mesmos reagentes e protocolos “in-house” foram utilizados em todos os laboratórios participantes, a fim de obter resultados comparáveis em todos os pacientes. A sequência descrita por van der Bij (VAN DER BIJ et al., 1989) foi seguida, com as seguintes modificações: (a) as células foram fixadas com acetona, no lugar do paraformaldeído; (b) foram contadas ao todo 3×10^5 células, e o resultado expresso em células positivas/ 3×10^5 . (HALWACHS et al., 1993; PANNUTI, C. S. et al., 1996) (Quadro 2)

Qualquer resultado positivo seria considerado, para fins de exclusão do protocolo e “endpoints” laboratoriais, a despeito do número de células positivas. Dois testes positivos consecutivos seriam interpretados como viremia persistente e, portanto, como “endpoint” laboratorial (Figuras 6A e 6B).

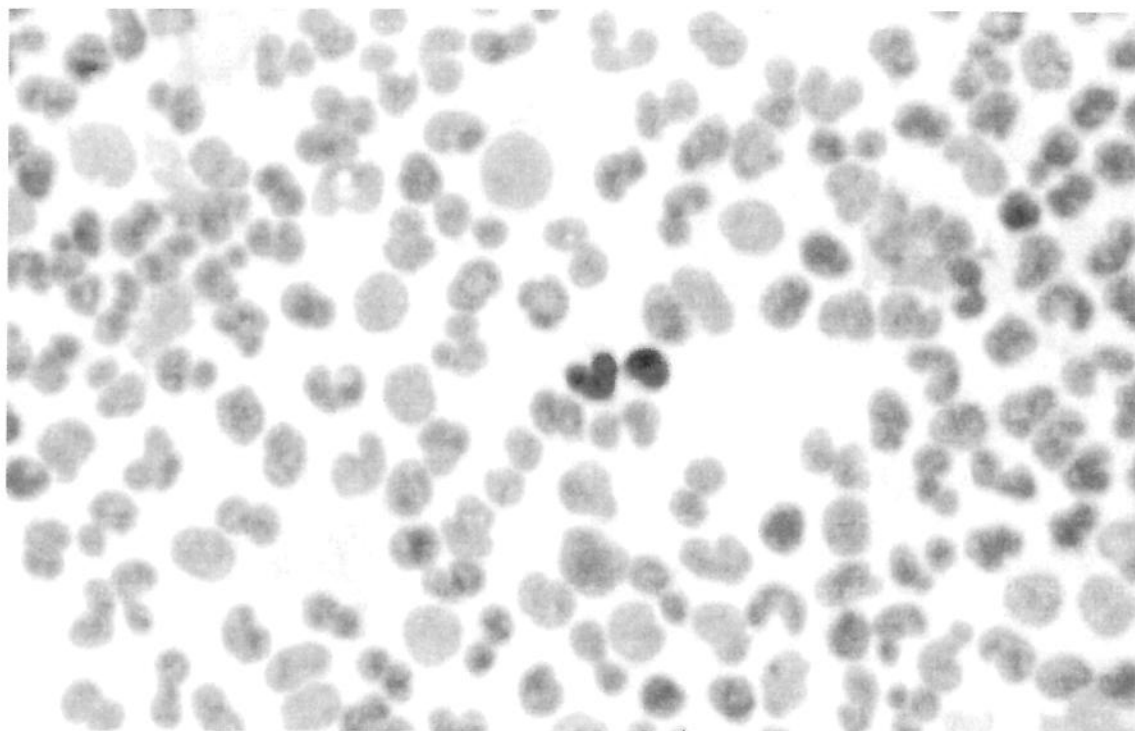


Figura 6A- Antigenemia para CMV (pp65) – células positivas com núcleo avermelhado

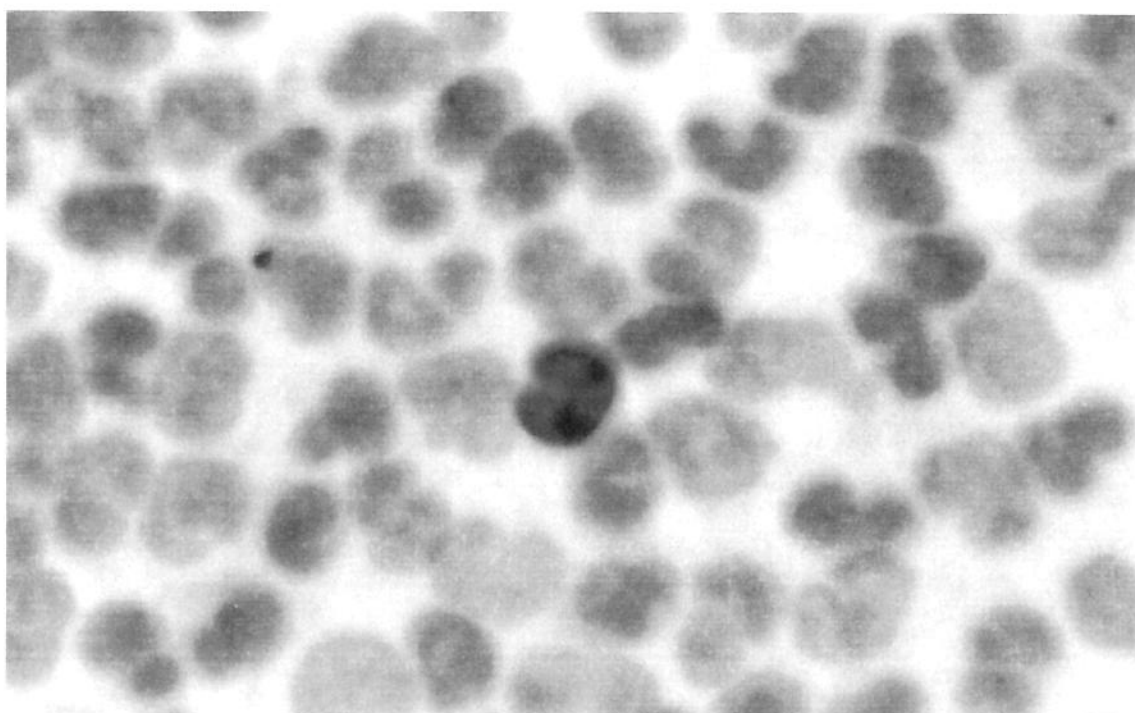


Figura 6B- Antigenemia para CMV (pp65) – detalhe

Quadro 2- Técnica de antigenemia “in-house”

1. Extração de polimorfonucleares do sangue periférico

- a. coleta e imediato processamento da amostra (8 ml de sangue em tubo com EDTA).
- b. transferência para tubo “Falcon”, seguida da adição de 2ml de Dextran 5% (em PBS), pH 7.4
- c. homogeneização por inversão e repouso em estante inclinada a 45° por 30’ em estufa a 37° C
- d. transferência do sobrenadante para novo tubo “Falcon” seguida de centrifugação por 10’ a 1200rpm
- e. desprezado o sobrenadante, o sedimento é homogeneizado em vórtex
- f. para eliminação de hemácias persistentes, ressuspensão em 10ml de cloreto de amônio, pH 7.4, por 10’ a 4° C
- g. centrifugação por 10’ a 1200rpm
- h. desprezado o sobrenadante e homogeneizado o sedimento é lavado por 3 vezes em PBS
- i. ressuspensão em 200 a 2000µl de PBS (dependendo da quantidade de sedimento)

2. Preparação das lâminas

- a. preparação de uma suspensão com $1,5 \times 10^6$ células/ml, colocado 200µl desta solução por funil da citocentrífuga
- b. centrifugação por 5 minutos a 970 rpm (as lâminas foram feitas em duplicata)
- c. secagem das lâminas e fixação com acetona

Quadro 2 (continuação): Técnica de antigenemia “in-house”

3. Coloração das lâminas

- d. aplicação de 35µl de anticorpo monoclonal (Clonab HCMV - Biotest AG) diluído a 1:10 em PBS por área de reação
- e. incubação por 45' em câmara úmida, à temperatura ambiente
- f. lavagem das lâminas com PBS por 3 vezes de 5' cada
- g. aplicação de 35µl de conjugado anti-mouse/peroxidase (Biotest AG) 1:40 em PBS na área de reação
- h. lavagem das lâminas com PBS por 3 vezes de 5' cada
- i. cobertura das lâminas com solução de amino-etil-carbazol (AEC – Sigma) recém preparada* por 8' no escuro
- j. lavagem das lâminas por 10' com tampão de acetato de sódio 0,1M, pH4.9
- k. lavagem em água destilada a 1', 2' e 5'
- l. lâminas coradas com Hematoxilina de Mayer (Merck) a 1:10 por 30-60'' e lavadas em água destilada
- m. cobertura com lamínula sobre glicerina tamponada

3. Leitura das lâminas

- a. observação de dois “spots” totalizando 3×10^5 células
- b. células positivas quando núcleo adquire coloração vermelha escura
- c. contagem de células expressa em “células positivas por 3×10^5 ”

*(20 mg de AEC dissolvida em 5 ml de dimetilformamida - Sigma e 100 ml de tampão acetato de sódio 0,1 M, pH 4.9 - filtrado, se necessário, e adicionado 50 µl de H₂O₂ a 30% - mantido no escuro até o uso)

3.2.2- Contagem de Subpopulações Linfocitárias CD4+/CD8+

A contagem de subpopulações linfocitárias foi realizada em laboratório de referência (SUS) de acordo com as recomendações vigentes no Brasil, a cada 3-4 meses. Testes adicionais foram realizados sempre que necessário. Foram utilizados kits da Beckton-Dickins em aparelhos FacsCount para este fim.

3.2.3- Carga Viral para HIV-1

A carga viral para HIV-1 foi realizada em laboratório de referência (SUS) a cada 3-4 meses, de acordo com as recomendações vigentes no Brasil. Testes adicionais foram realizados sempre que necessário. Para este teste, foi utilizado técnica NASBA (Nuclisense Biolab®) com limite inferior de detecção de 40 cópias/mm³.

3.2.4- Testes de resposta Linfoproliferativa

Os testes de resposta linfoproliferativa foram realizados pelo Laboratório de Alergia e Imunologia Clínica e Experimental da FM-USP (São Paulo), uma vez durante o estudo. Como tal procedimento não fazia parte do protocolo inicial, esta análise não foi realizada em todos os pacientes. Foi utilizado um protocolo “in-house” para este fim (Quadro 3). Índices de proliferação maiores ou iguais a 3,0 foram considerados positivos.

Nos pacientes com resultados negativos, um novo teste foi realizado em no mínimo três meses após o primeiro.

Protocolo para realização de Teste de Resposta Linfoproliferativa

1. Isolamento de células mononucleares do sangue periférico heparinizado por centrifugação em gradiente de densidade Ficoll-Hypaque (Pharmacia, Sweden) e ressuspensão em meio RPMI suplementado com gentamicina (40µ g/mL) e 10% soro AB (Sigma, USA) como previamente descrito (KALLAS et al., 1998).
2. Cultivo das células ($2,0 \times 10^5$ /well) por 5 dias em placas de cultura de 96 alvéolos em triplicata (Corning- Costar, Cambridge, MA) à 37° C com 5% de CO₂ na presença de meio, Candida Metabolic Antigen 5 µg/mL (CMA, Sanofi-Pasteur, França), Pokeweed Mitogen (PWM, 5.0 µ g/mL) e antígeno CMV.
3. O CMV antígeno (CMV-Ag) foi preparado de sobrenadantes de fibroblastos de pele humana AD169 como descrito (MENDES et al., 2001) e usado na diluição final de 1:25.
4. Avaliação da resposta proliferativa pela incorporação de timidina triciada (1,0 µ Ci/well Radiochemical Center, Amersham, NEN, UK) adicionada 18 h antes do fim do cultivo e a radioatividade medida em contador beta (1205 Betaplate Wallac Oi, Turku, Finland). Os resultados foram expressos como índice de estimulação (IE) obtido pela divisão da média de c.p.m / wells estimuladas com CMA, PWM ou antígeno CMV pela c.p.m / wells com o meio sozinho ou sobrenadante de cultura de fibroblastos humanos não infectados, respectivamente.

3.3- “Endpoints”

Os “endpoints” laboratoriais foram caracterizados por duas antigenemias positivas consecutivas e/ou queda da contagem de células CD4+ para menos de 100 células/mm³.

Os “endpoints” clínicos consistiram de doença pelo CMV ou forte suspeita de doença pelo CMV, que levasse ao tratamento específico ou empírico com Ganciclovir ou Foscarnet, a despeito dos resultados dos testes de antigenemia; ou Vitrite da Recuperação Imune (VRI), se a corticoterapia não fosse possível ou não houvesse resultado em melhora clínica.

4- RESULTADOS

Trinta e cinco pacientes foram incluídos neste estudo, sendo 12 provenientes do Hospital de Clínicas da Unicamp, 18 do Instituto de Infectologia Dr. Emilio Ribas, e cinco do Ambulatório Municipal de DST/AIDS de Campinas. Vinte e seis (74%) eram do sexo masculino. A média de idade era de 37,2 anos ("range" 27-57, mediana 36 anos). A média de tempo decorrido entre a recuperação de CD4+ até a inclusão no protocolo foi de 454,3 dias ("range" 92-1038, mediana 307 dias) (Quadro 4).

A mediana de seguimento foi de 386,5 dias ("range" 96-504). Nenhum seguimento foi inferior a 360 dias, exceto nos casos em que os critérios de "endpoint" foram estabelecidos. Os dados de CD4+ prévios à HAART estavam disponíveis para 29 dos 35 pacientes. Destes, a média de CD4+ ao início do protocolo foi de 278 células/mm³ ("range" 112-684). Ao final do seguimento, a média de CD4+ era de 342 células/mm³ ("range" 113-755). O aumento médio na contagem de CD4+ durante o período de retirada do Ganciclovir foi de 62 cells/mm³.

Quadro 4- Centros de acompanhamento e características pessoais dos pacientes

<i>Instituição</i>	<i>Iniciais</i>	<i>Idade</i>	<i>Sexo</i>	<i>CD4+ pré-HAART[#]</i>	<i>CD4+>100[*]</i>
AMDA	OOS	36	M	48	224
	JP	37	M	48	659
	MJM	27	F	92	124
	MLM	42	F	343	434
	OAS	57	M	9	926
HC	JLC	38	M	34	615
	JBCS	44	M	48	175
	WRA	43	M	26	307
	MSIG	27	M	ND	290
	SFB	41	M	103	181
	JCOB	43	M	52	770
	AMSM	32	F	ND	160
	PMS	46	F	38	92
	ECRJ	38	F	96	93
	ER	44	M	96	741
	VAB	27	M	ND	96
	ARM	27	M	32	254
IIER	RFF	34	M	33	1038
	RTOC	34	F	ND	209
	GPS	34	M	54	1018
	FON	36	M	33	884
	ARP	31	M	16	716
	ABS	36	M	22	513
	CAC	30	M	16	823
	ECSM	33	F	240	696
	LAS	33	M	123	846
	DM	27	M	ND	826
	JFC	41	M	51	175
	JLP	32	M	41	358
	MSS	44	F	19	92
	SLO	43	M	25	292
	NCSM	35	M	120	730
	HAO	34	M	24	153
	JMRS	43	M	2	164
	YHB	53	F	126	227

ND: Não disponível

#: CD4+ basal pré-HAART (exclui monoterapias e terapias duplas)

*: Período de tempo com CD4+>100 células/mm³ no início do protocolo (dias)

4.1- Recorrência da doença pelo CMV e outros eventos

Dois pacientes (JFC e AMSM) apresentaram doença neurológica progressiva com CD4+ maior que 100 células/mm³, como descrito abaixo:

No dia 120 do seguimento, o paciente JFC apresentou polirradiculopatia progressiva e típica retinite por CMV, levando ao diagnóstico clínico de doença pelo CMV, a despeito das antigenemias e PCR para CMV negativas no líquido. Após o tratamento com Ganciclovir, houve recuperação completa das funções neurológicas, e não houve progressão para perda visual. Os testes de resposta linfoproliferativa eram negativos, indicando a ausência de resposta específica para CMV. A contagem de células CD4+, no momento da recorrência, era de 195 células/mm³.

O paciente AMSM apresentou febre e polirradiculopatia progressiva a partir do dia 96 do seguimento. Tratamento empírico com Ganciclovir foi iniciado prontamente, a despeito das antigenemias negativas. Foi realizada PCR para CMV no líquido duas semanas após a avaliação inicial (em material coletado no início do quadro clínico), com resultado negativo. Os testes de resposta linfoproliferativa foram negativos, e a contagem de linfócitos CD4+ no início do quadro era de 181 células/mm³. A despeito do tratamento agressivo, o paciente faleceu antes que um diagnóstico etiológico pudesse ser estabelecido. Os familiares, no entanto, não consentiram com a realização da autópsia.

Um paciente (YHB) apresentou, no dia 322 do seguimento, quadro clínico compatível com vitrite da recuperação imune (VRI) - 739 dias após início da HAART, mas evoluiu com resolução completa em duas semanas, sem necessidade do uso de corticosteróides. A contagem de células CD4+ ao início dos sintomas era de 336 células/mm³, e os testes de resposta linfoproliferativa feitos no dia 14 do seguimento eram positivos (índice=3,0).

Um paciente apresentou diminuição sustentada da contagem de CD4+, abaixo de 100 células/mm³, a partir do dia 237 do seguimento, e foi excluído do estudo. A partir deste momento, o paciente recebeu profilaxia secundária e não apresentou recidiva até o final do estudo. Os testes de resposta linfoproliferativa foram negativos (índice=2,0) no

momento da exclusão. A contagem de linfócitos CD4+ ao final do seguimento era de 159 células/mm³.

4.2- Testes de Antigenemia (PP65)

Nenhum paciente apresentou antigenemias positivas durante este estudo, incluindo os dois pacientes que necessitaram de Ganciclovir endovenoso (um deles com diagnóstico clínico estabelecido).

4.3- Testes de resposta Linfoproliferativa (LPA)

Os testes de resposta linfoproliferativa foram realizados em apenas 26 dos 35 pacientes. O índice de proliferação foi maior ou igual a 3,0 em quinze pacientes (57%) e menor que este valor em onze pacientes. Nos pacientes positivos, a média dos índices de proliferação era de 22.8 ("range" 3.0-154.9).

Não houve correlação com os resultados de LPA e qualquer outro parâmetro imunológico medido no estudo, incluindo contagem de células CD4+ e CD8+ antes da HAART, ao início do protocolo, no momento do LPA e ao final do seguimento. Também se compararam os resultados de LPA com a razão CD4+/CD8+ nestes períodos, e não se encontrou correlação entre os dados. Por fim, compararam-se os dados de LPA com as razões CD4+ (ao final do seguimento)/CD4+ (pré-HAART) e CD8+ (ao final do seguimento)/CD8+ (pré-HAART), e tempo entre CD4+>100 e o momento da realização do LPA, sem que qualquer correlação fosse encontrada. (Tabela 1)

Tabela 1- Contagem de células CD4+ e índices de resposta linfoproliferativa

<i>Iniciais</i>	<i>CD4+ basal (pré-HAART)</i>	<i>CD4+ ao início do seguimento</i>	<i>CD4+ no momento do LPA</i>	<i>TCD4</i>	<i>TCD4RS</i>	<i>Índice de resposta linfoproliferativa</i>	
JLC	34	153	321	981	615	0,4	
JBCS	48	254	218	454	175	0,9	
GPS	54	212	222	1332	1018	11,6	+
FON	33	353	471	1158	884	154,9	+
ARP	16	116	99	981	716	2,0	
ABS	22	200	167	778	513	3,6	+
CAC	16	149	135	1115	823	22,8	+
ECSM	240	398	666	1045	696	15,6	+
LAS	123	581	685	1137	846	30,4	+
WRA	26	161	228	673	307	1,6	
MSIG	ND	329	480	358	290	3,9	+
JFC	51	184	175	367	175	0,9	
MSS	19	187	199	388	92	4,0	+
SFB	103	204	353	611	181	4,0	+
JCOB	52	257	221	1197	770	20,6	+
AMSM	ND	192	181	256	160	0,3	
PMS	38	169	252	169	92	3,2	+
ECRJ	96	275	275	288	93	0,4	
ER	96	191	144	844	741	28,4	+
VAB	ND	165	165	220	96	2,0	
MLM	343	495	495	616	434	2,9	
OAS	9	684	660	1365	926	14,7	+
SLO	25	254	254	467	292	1,2	
NCSM	120	380	386	1037	730	21,0	+
YHB	126	2271	227	493	227	3,0	+
ARM	32	259	240	582	254	0,9	

TCD4: tempo decorrido com CD4+ acima de 100 células/mm³ até o final do seguimento

TCD4RS: tempo entre o primeiro CD4+ acima de 100 células/mm³ e a retirada da terapia supressiva

ND: Não disponível

(+): Teste de resposta linfoproliferativa positivo ($i \geq 3,0$)

5- DISCUSSÃO

Até há poucos anos, pacientes com AIDS que apresentavam doenças oportunistas como pneumonia por *P. carinii* ou retinite por Citomegalovírus tinham indicação de profilaxia secundária vitalícia. As consequências desta abordagem sempre foram desastrosas do ponto de vista clínico: a sobreposição de doenças oportunistas e o acúmulo de drogas gerava aumento da toxicidade em vários órgãos e tecidos, tais como medula óssea e sistema nervoso central e periférico. A soma de medicações e a interação medicamentosa fazem da prescrição médica um labirinto que o paciente com AIDS freqüentemente não está preparado para enfrentar.

A complexidade do esquema de tratamento da AIDS está inversamente relacionado à adesão do paciente ao tratamento anti-retroviral, o que compromete a perspectiva de controle da carga viral a médio e longo prazos (BARTLETT et al., 2001).

Com isso, a busca pela simplificação de esquemas de tratamento visa não somente a humanização do tratamento do paciente com AIDS, mas também a viabilização do objetivo final do tratamento, ou seja, controle da replicação do HIV plasmático e a recuperação imune. Esta simplificação pode ser conseguida tanto pela simplificação posológica, quanto pela observação de medicamentos de uso contínuo que passam a ser desnecessários dentro do esquema.

A retirada da profilaxia secundária para CMV implicou na necessidade de um seguimento clínico rigoroso, no qual os dados laboratoriais não são úteis na detecção precoce da recidiva. Entretanto, este seguimento não foi mais dispendioso do que o seguimento necessário para qualquer paciente com o mesmo grau de imunossupressão. Não foi utilizado, no acompanhamento dos pacientes incluídos no estudo, nenhuma técnica, exame ou rotina que não estivesse disponível para os demais pacientes; a intervenção, na maior parte das vezes, se resumiu às avaliações médicas e à coleta de exames de rotina.

Não se encontrou, neste estudo, qualquer evidência de que a antigenemia possa prever a reativação da retinite pelo CMV. O único paciente com recorrência de retinite por CMV não apresentou nenhuma antigenemia positiva durante o período de seguimento. A doença pelo CMV neste paciente pode ter sido causada apenas por reativação local, e não por disseminação sistêmica (TUFAIL et al., 1999). Este mecanismo de reativação, ainda

não bem compreendido, pode se dever à impermeabilidade do endotélio vascular do olho às células imunoefetoras (JACOBSON et al., 1997). Além disso, a ativação imune decorrente da infecção por outros patógenos pode desencadear a reativação do CMV. (SODERBERG-NAUCLER e NELSON, 1999)

Dos 35 pacientes estudados, 57% eram respondedores em testes de resposta linfoproliferativa. Estes resultados são semelhantes aos descritos por Gerna (GERNA et al., 2001). No entanto, entre os 11 não-respondedores (43%), apenas um apresentou recidiva comprovada da retinite pelo CMV durante o seguimento. Em conformidade com os dados previamente publicados na literatura, não se encontrou correlação entre os testes de resposta linfoproliferativa (LPA) e as contagens de CD4+ e CD8+ pré-HAART, à inclusão no protocolo, no momento do LPA, e ao final do seguimento. Também não se encontrou correlação entre os dados de LPA e o tempo decorrido com CD4+ maior que 100 células/mm³. Entretanto, julga-se importante ressaltar que a ausência de um grupo-controle e o tamanho da amostra limitaram o valor desta análise.

A discrepância entre a resposta CD4+ específica e o LPA foi descrita previamente em dois estudos. Piccinini relatou concordância de apenas 80,7% entre a resposta linfoproliferativa e a citometria de fluxo (para detecção de células CD4+ específicas para CMV) em pacientes com AIDS (PICCININI et al., 2001). Keane, comparando LPA e a produção de IFN-gama por técnica de ELISpot, encontrou produção de resposta específica mesmo em alguns pacientes sem resposta linfoproliferativa positiva. Outra vantagem relatada da detecção da IFN-gama por técnica de ELISpot é a possibilidade de usar células congeladas, o que facilitaria a dinâmica de coleta e processamento de amostras em instituições com poucos pacientes (KEANE et al., 2000). Nenhuma destas técnicas, citometria de fluxo ou ELISpot, foram utilizadas na detecção de pacientes sob risco de recidiva para CMV até o presente momento. No entanto, representam objeto de estudo para estratificação de pacientes com risco de recidiva da doença pelo CMV no futuro.

Encontrou-se, neste estudo, apenas um caso de VRI, em contraste com os dados relatados por Karavellas (KARAVELLAS et al., 1999). Neste paciente, houve um importante aumento na contagem de CD4+ (126 células/mm³ antes da HAART para 336

células/mm³ na apresentação da VRI), conforme descrito por Jabs (JABS et al., 2002). Este caso de VRI, ocorreu mais tardiamente no curso da recuperação imune do que previamente descrito (HENDERSON e MITCHELL, 1999; KARAVELLAS et al., 1999), sugerindo que este evento pode ocorrer mesmo após longo período do início da recuperação imune.

Em razão da baixa recorrência de retinite pelo CMV, e conforme sugerido pelos dados publicados previamente, (BERENGUER et al., 2002; CURI et al., 2001; JOUAN, M. et al., 2001; MACDONALD et al., 1998; MARGOLIS, 2000; POSTELMANS et al., 1999; SORIANO et al., 2000; TURAL et al., 1998; TURAL et al., 1999; VRABEC et al., 1998; WHITCUP et al., 1999) conclui-se que a retirada da profilaxia para retinite por CMV é um procedimento seguro em pacientes com recuperação imune quantitativa após HAART, com contagens de CD4+ estáveis e acima de 100 células/mm³.

A demonstração clínica do impacto da HAART na história natural da AIDS tem sido um dos passos significativos em direção a uma compreensão mais completa desta doença.

Na era pós-HAART, observa-se um importante decréscimo na incidência de doença pelo CMV em pacientes com AIDS. (CASSOUX et al., 1999; DEGREZIA e ROBINSON, 2001; MITCHELL et al., 1999; SALMON-CERON, 2001) No entanto, a infecção pelo CMV permanece como um evento fortemente associado com alta morbidade e mortalidade, principalmente nos casos em que a infecção oportunista abre o quadro clínico definidor de AIDS e nos casos de falência terapêutica.

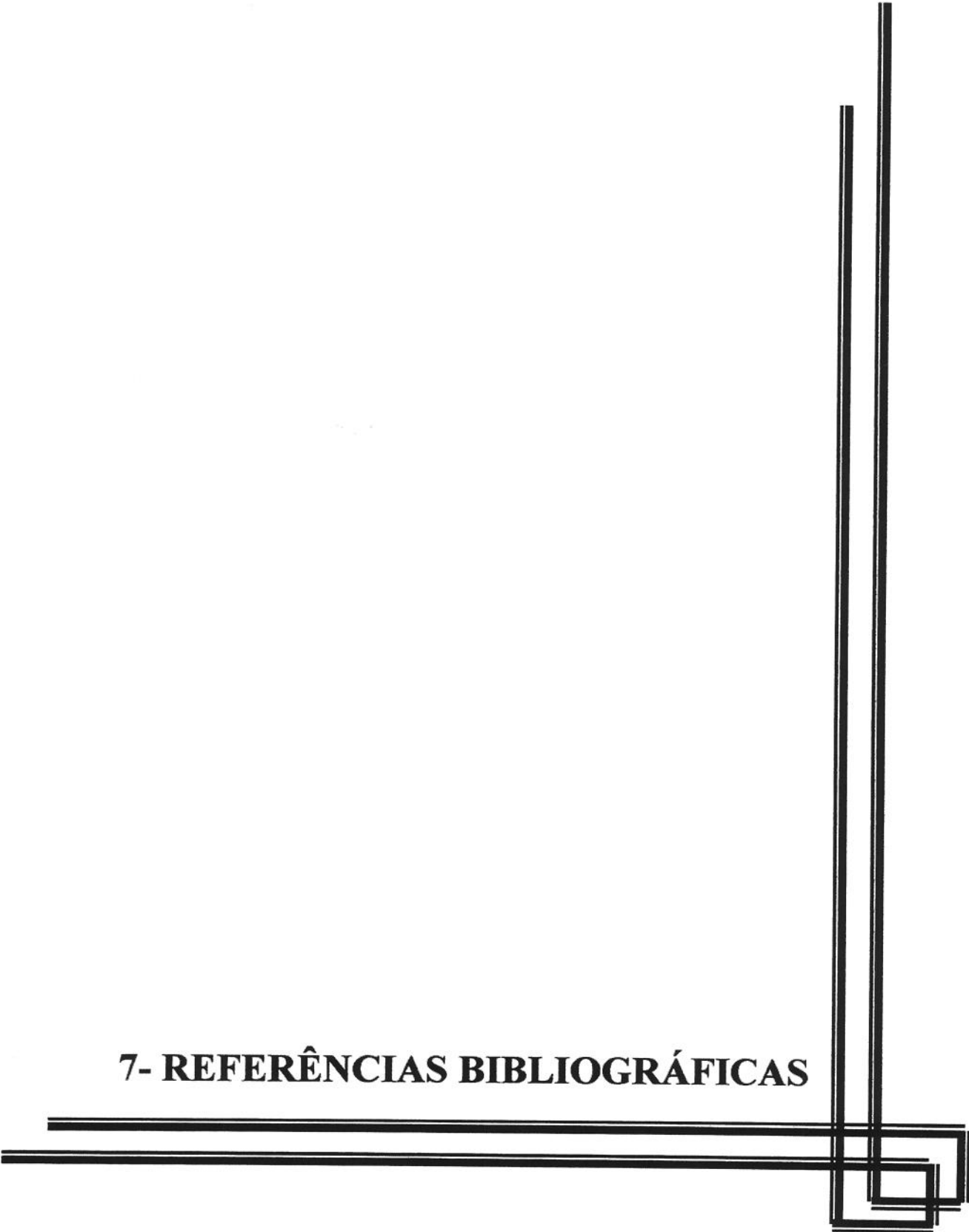
Novos esforços devem ser direcionados para a elucidação dos mecanismos de reativação viral, o papel das imunidades celular e humoral no controle da viremia e os mecanismos envolvidos na recuperação imune pós-HAART.

6- CONCLUSÃO

Conclui-se que a retirada da terapia supressiva para retinite por CMV é segura no contexto estudado.

Não há evidência de que a realização de testes periódicos de antigenemia permita evidenciar pacientes com possibilidade de reativação da retinite por CMV, razão pela qual um cuidadoso seguimento clínico e oftalmológico parece ser suficiente nestes casos.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. Human Immunodeficiency Virus and the Acquired Immunodeficiency Syndrome In: SCHMITT, W. **Cellular and Molecular Immunology**. 3rd W.B. Saunders Company, 1997. 450-9.

ACTG Mortality in patients with the acquired immunodeficiency syndrome treated with either foscarnet or ganciclovir for cytomegalovirus retinitis. Studies of Ocular Complications of AIDS Research Group, in collaboration with the AIDS Clinical Trials Group **N Engl J Med** 326(4): 213-20.,1992

BALE, J.F., JR.; ZIMMERMAN, B.; DAWSON, J.D.; SOUZA, I.E.; PETHERAM, S.J.; MURPH, J.R. Cytomegalovirus transmission in child care homes **Arch Pediatr Adolesc Med** 153(1): 75-9,1999

BARTLETT, J.A.; DEMASI, R.; QUINN, J.; MOXHAM, C.; ROUSSEAU, F. Overview of the effectiveness of triple combination therapy in antiretroviral-naive HIV-1 infected adults **Aids** 15(11): 1369-77.,2001

BERENGUER, J.GONZALEZ, J.PULIDO, F.PADILLA, B.CASADO, J.L.RUBIO, R. et al. Discontinuation of secondary prophylaxis in patients with cytomegalovirus retinitis who have responded to highly active antiretroviral therapy **Clin Infect Dis** 34(3): 394-7.,2002

CASSOUX, N.; BODAGHI, B.; KATLAMA, C.; LEHOANG, P. CMV retinitis in the era of HAART **Ocul Immunol Inflamm** 7(3-4): 231-5,1999

CASTRO, S.M. Subpopulações linfocitárias durante a doença por Citomegalovirus em transplantados renais Campinas, 2001. (Mestrado - UNICAMP)

CLUMECK, N.; DE WIT, S. Prevention of Opportunistic Infections in the Presence of HIV Infection In: ARMSTRONG, D. e COHEN, J. **Infectious Diseases**. 1st Harcourt Publishers Ltd, 1999. 5/10.1-4.

CRUMPACKER, C.S. Cytomegalovirus In: MANDELL, G.L., BENNET, J.E. e DOLIN, R. **Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases**. 5th Philadelphia:Churchill-Livingstone, 2000. 1586-99.

CURI, A.L.; MURALHA, A.; MURALHA, L.; PAVESIO, C. Suspension of anticytomegalovirus maintenance therapy following immune recovery due to highly active antiretroviral therapy **Br J Ophthalmol** 85(4): 471-3.,2001

DE JONG, M.D.GALASSO, G.J.GAZZARD, B.GRIFFITHS, P.D.JABS, D.A.KERN, E.R. et al. Summary of the II International Symposium on Cytomegalovirus **Antiviral Res** 39(3): 141-62,1998

DE MELLO, A.L.; FERREIRA, E.C.; VILAS BOAS, L.S.; PANNUTI, C.S. Cytomegalovirus infection in a day-care center in the municipality of Sao Paulo **Rev Inst Med Trop Sao Paulo** 38(3): 165-9,1996

DEAYTON, J.; MOCROFT, A.; WILSON, P.; EMERY, V.C.; JOHNSON, M.A.; GRIFFITHS, P.D. Loss of cytomegalovirus (CMV) viraemia following highly active antiretroviral therapy in the absence of specific anti-CMV therapy **Aids** 13(10): 1203-6,1999

DEAYTON, J.R.WILSON, P.SABIN, C.A.DAVEY, C.C.JOHNSON, M.A.EMERY, V.C. et al. Changes in the natural history of cytomegalovirus retinitis following the introduction of highly active antiretroviral therapy **Aids** 14(9): 1163-70.,2000

DEGREZIA, M.G.; ROBINSON, M. Ophthalmic manifestations of HIV: an update **J Assoc Nurses AIDS Care** 12(3): 22-32.,2001

DHHS/KAISER Guidelines for using antiretroviral agents among HIV-infected adults and adolescents. Recommendations of the Panel on Clinical Practices for Treatment of HIV **MMWR Recomm Rep** 51(RR-7): 1-55.,2002

GALLANT, J.E.; MOORE, R.D.; RICHMAN, D.D.; KERULY, J.; CHAISSON, R.E. Incidence and natural history of cytomegalovirus disease in patients with advanced human immunodeficiency virus disease treated with zidovudine. The Zidovudine Epidemiology Study Group [see comments] **J Infect Dis** 166(6): 1223-7,1992

GERNA, G.PICCININI, G.GENINI, E.PERCIVALLE, E.ZAVATTONI, M.LILLERI, D. et al. Declining levels of rescued lymphoproliferative response to human cytomegalovirus (HCMV) in AIDS patients with or without HCMV disease following long-term HAART **J Acquir Immune Defic Syndr** 28(4): 320-31.,2001

HALWACHS, G.ZACH, R.POGGLITSCH, H.HOLZER, H.TIRAN, A.IBERER, F. et al. A rapid immunocytochemical assay for CMV detection in peripheral blood of organ-transplanted patients in clinical practice **Transplantation** 56(2): 338-42.,1993

HANNA, G.J.; HIRSCH, M.S. Antiretroviral Therapy of Human Immunodeficiency Virus Infection In: MANDELL, G.L., BENNETT, J.E. e DOLIN, R. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Churchill Livingstone, 2000. 1479-500.

HANSEN, K.K.; BACKER, V.; SKINHOJ, P. [Cytomegalovirus infection--a review] **Nord Med** 109(1): 9-12,1994

HENDERSON, H.W.; MITCHELL, S.M. Treatment of immune recovery vitritis with local steroids **Br J Ophthalmol** 83(5): 540-5,1999

HOOVER, D.R.PENG, Y.SAAH, A.SEMBA, R.DETELS, R.R.RINALDO, C.R., JR. et al. Occurrence of cytomegalovirus retinitis after human immunodeficiency virus immunosuppression **Arch Ophthalmol** 114(7): 821-7,1996

JABS, D.A.VAN NATTA, M.L.KEMPEN, J.H.REED PAVAN, P.LIM, J.I.MURPHY, R.L. et al. Characteristics of patients with cytomegalovirus retinitis in the era of highly active antiretroviral therapy **Am J Ophthalmol** 133(1): 48-61.,2002

JACOBSON, M.A. Treatment of cytomegalovirus retinitis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome **N Engl J Med** 337(2): 105-14.,1997

JACOBSON, M.A.ZEGANS, M.PAVAN, P.R.O'DONNELL, J.J.SATTTLER, F.RAO, N. et al. Cytomegalovirus retinitis after initiation of highly active antiretroviral therapy [see comments] **Lancet** 349(9063): 1443-5,1997

JOUAN, M.SAVES, M.TUBIANA, R.CARCELAIN, G.CASSOUX, N.AUBRON-OLIVIER, C. et al. Discontinuation of maintenance therapy for cytomegalovirus retinitis in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy **Aids** 15(1): 23-31.,2001

KARAVELLAS, M.P.AZEN, S.P.MACDONALD, J.C.SHUFELT, C.L.LOWDER, C.Y.PLUMMER, D.J. et al. Immune recovery vitritis and uveitis in AIDS: clinical predictors, sequelae, and treatment outcomes **Retina** 21(1): 1-9,2001

KARAVELLAS, M.P.PLUMMER, D.J.MACDONALD, J.C.TORRIANI, F.J.SHUFELT, C.L.AZEN, S.P. et al. Incidence of immune recovery vitritis in cytomegalovirus retinitis patients following institution of successful highly active antiretroviral therapy **J Infect Dis** 179(3): 697-700,1999

KEANE, N.M.; PRICE, P.; STONE, S.F.; JOHN, M.; MURRAY, R.J.; FRENCH, M.A. Assessment of immune function by lymphoproliferation underestimates lymphocyte functional capacity in HIV patients treated with highly active antiretroviral therapy **AIDS Res Hum Retroviruses** 16(18): 1991-6.,2000

KUMAR, M.L.; NANKERVIS, G.A.; GOLD, E. Inapparent congenital cytomegalovirus infection. A follow-up study **N Engl J Med** 288(26): 1370-2,1973

LI, T.S.; TUBIANA, R.; KATLAMA, C.; CALVEZ, V.; AIT MOHAND, H.; AUTRAN, B. Long-lasting recovery in CD4 T-cell function and viral-load reduction after highly active antiretroviral therapy in advanced HIV-1 disease [see comments] **Lancet** 351(9117): 1682-6,1998

MACDONALD, J.C.KARAVELLAS, M.P.TORRIANI, F.J.MORSE, L.S.SMITH, I.L.REED, J.B. et al. Highly active antiretroviral therapy-related immune recovery in AIDS patients with cytomegalovirus retinitis **Ophthalmology** 107(5): 877-81; discussion 81-3,2000

MACDONALD, J.C.; TORRIANI, F.J.; MORSE, L.S.; KARAVELLAS, M.P.; REED, J.B.; FREEMAN, W.R. Lack of reactivation of cytomegalovirus (CMV) retinitis after stopping CMV maintenance therapy in AIDS patients with sustained elevations in CD4 T cells in response to highly active antiretroviral therapy **J Infect Dis** 177(5): 1182-7,1998

MACHADO, C.M.FINK, M.C.BOAS, L.S.SUMITA, L.M.WEINBERG, A.SHIGUEMATSU, K. et al. [Perinatal infection due to cytomegaloviruses in a public hospital of the municipality of Sao Paulo: a prospective study] **Rev Inst Med Trop Sao Paulo** 33(2): 159-66,1991

MARGOLIS, T.P. Discontinuation of anticytomegalovirus therapy in patients with HIV infection and cytomegalovirus retinitis **Surv Ophthalmol** 44(5): 455,2000

MITCHELL, S.M.; MEMBREY, W.L.; YOULE, M.S.; OBI, A.; WORRELL, S.; GAZZARD, B.G. Cytomegalovirus retinitis after the initiation of highly active antiretroviral therapy: a 2 year prospective study **Br J Ophthalmol** 83(6): 652-5,1999

PANNUTI, C.S. Infecção congênita pelo Citomegalovirus. Estudo em dois hospitais públicos no município de São Paulo São Paulo, 1983. (Tese de Doutorado - Universidade de São Paulo)

PANNUTI, C.S. Citomegalia In: VERONESI, R. e FOCCACIA, R. Tratado de Infectologia. São Paulo:Ed. Atheneu, 1996. 187-94.

PANNUTI, C.S.KALLAS, E.G.MUCCIOLI, C.ROLAND, R.K.FERREIRA, E.C.BUENO, S.M. et al. Cytomegalovirus antigenemia in acquired immunodeficiency syndrome patients with untreated cytomegalovirus retinitis **Am J Ophthalmol** 122(6): 847-52,1996

PASS, R.F.; AUGUST, A.M.; DWORSKY, M.; REYNOLDS, D.W. Cytomegalovirus infection in day-care center **N Engl J Med** 307(8): 477-9,1982

- PERTEL, P.; HIRSCHTICK, R.; PHAIR, J.; CHMIEL, J.; POGGENSEE, L.; MURPHY, R. Risk of developing cytomegalovirus retinitis in persons infected with the human immunodeficiency virus **J Acquir Immune Defic Syndr** 5(11): 1069-74,1992
- PICCININI, G.COMOLLI, G.GENINI, E.LILLERI, D.GULMINETTI, R.MACCARIO, R. et al. Comparative analysis of human cytomegalovirus-specific CD4(+) T-cell frequency and lymphoproliferative response in human immunodeficiency virus-positive patients **Clin Diagn Lab Immunol** 8(6): 1225-30.,2001
- PORTER, K. Survival after introduction of HAART in people with known duration of HIV-1 infection. The CASCADE Collaboration. Concerted Action on SeroConversion to AIDS and Death in Europe **Lancet** 355(9210): 1158-9.,2000
- POSTELMANS, L.; GERARD, M.; SOMMEREIJNS, B.; CASPERS-VELU, L. Discontinuation of maintenance therapy for CMV retinitis in AIDS patients on highly active antiretroviral therapy **Ocul Immunol Inflamm** 7(3-4): 199-203,1999
- POWDERLY, W.G.; LANDAY, A.; LEDERMAN, M.M. Recovery of the immune system with antiretroviral therapy: the end of opportunism? **Jama** 280(1): 72-7,1998
- REYNOLDS, D.W.; STAGNO, S.; HOSTY, T.S.; TILLER, M.; ALFORD, C.A., JR. Maternal cytomegalovirus excretion and perinatal infection **N Engl J Med** 289(1): 1-5,1973
- RUHSWURM, I.RIES, E.KREPLER, K.DERBOLAV, A.RIEGER, A.ARMBRUSTER, C. et al. Control of cytomegalovirus retinitis after combination antiretroviral therapy **Acta Ophthalmol Scand** 77(4): 471-3,1999
- SALMON-CERON, D. Cytomegalovirus infection: the point in 2001 **HIV Med** 2(4): 255-9.,2001
- SMITH, M.A.; BRENNESSEL, D.J. Cytomegalovirus **Infect Dis Clin North Am** 8(2): 427-38,1994

SODERBERG-NAUCLER, C.; NELSON, J.Y. Human cytomegalovirus latency and reactivation - a delicate balance between the virus and its host's immune system **Intervirology** 42(5-6): 314-21,1999

SORIANO, V.; DONA, C.; RODRIGUEZ-ROSADO, R.; BARREIRO, P.; GONZALEZ-LAHOZ, J. Discontinuation of secondary prophylaxis for opportunistic infections in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy **Aids** 14(4): 383-6,2000

STAGNO, S.; REYNOLDS, D.W.; PASS, R.F.; ALFORD, C.A. Breast milk and the risk of cytomegalovirus infection **N Engl J Med** 302(19): 1073-6,1980

TAY-KEARNEY, M.L.; JABS, D.A. Ophthalmic complications of HIV infection **Med Clin North Am** 80(6): 1471-92,1996

TUFAIL, A.; MOE, A.A.; MILLER, M.J.; WAGAR, E.A.; BRUCKNER, D.A.; HOLLAND, G.N. Quantitative cytomegalovirus DNA level in the blood and its relationship to cytomegalovirus retinitis in patients with acquired immune deficiency syndrome **Ophthalmology** 106(1): 133-41,1999

TURAL, C.ROMEU, J.SIRERA, G.ANDREU, D.CONEJERO, M.RUIZ, S. et al. Long-lasting remission of cytomegalovirus retinitis without maintenance therapy in human immunodeficiency virus-infected patients **J Infect Dis** 177(4): 1080-3,1998

UNAIDS. AIDS Epidemic Update: December 2002. World Health Organization, 2002. Disponível em: <http://www.who.int/hiv/facts/epiupdate_en.pdf>

VAN DER BIJ, W.; VAN SON, W.J.; VAN DER BERG, A.P.; TEGZESS, A.M.; TORENSMA, R.; THE, T.H. Cytomegalovirus (CMV) antigenemia: rapid diagnosis and relationship with CMV-associated clinical syndromes in renal allograft recipients **Transplant Proc** 21(1 Pt 2): 2061-4,1989

VERGIS, E.N.; MELLORS, J.W. Natural history of HIV-1 infection **Infect Dis Clin North Am** 14(4): 809-25, v-vi.,2000

VRABEC, T.R.; BALDASSANO, V.F.; WHITCUP, S.M. Discontinuation of maintenance therapy in patients with quiescent cytomegalovirus retinitis and elevated CD4+ counts **Ophthalmology** 105(7): 1259-64,1998

WEINBERG, A.; WOHL, D.A.; BARRETT, R.J.; VAN DER HORST, C. Inconsistent reconstitution of cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity in human immunodeficiency virus-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy **J Infect Dis** 184(6): 707-12.,2001

WHITCUP, S.M.FORTIN, E.LINDBLAD, A.S.GRIFFITHS, P.METCALF, J.A.ROBINSON, M.R. et al. Discontinuation of anticytomegalovirus therapy in patients with HIV infection and cytomegalovirus retinitis [see comments] **Jama** 282(17): 1633-7,1999