

AUBANEIDE BATISTA GUERRA

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DE AGENTES VIRAIS (HIV, HTLV, VHB E CMV)
IDENTIFICADOS EM ADOLESCENTES GRÁVIDAS ATENDIDAS EM UM CENTRO
DE REFERÊNCIA DO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE DE BELÉM, PARÁ

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará como pré-requisito para a obtenção do grau de Doutor em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Almeida Machado
Laboratório de Virologia, ICB, UFPA

Banca Examinadora: Profa. Dra. Antonia Benedita Rodrigues Vieira
Laboratório de Microbiologia, ICB, UFPA

Prof. Dr Edvaldo Carlos Brito Loureiro
Serviço de Bacteriologia, Instituto Evandro Chagas (IEC)

Prof. Dr. José Alexandre Rodrigues Lemos
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Prof. Dra. Tamara Beres Lederer Goldberg
Departamento de Pediatria -Faculdade De Medicina- UNESP

Profa. Dra. Ana Cecília Ribeiro Cruz (suplente)
Serviço de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas, Instituto
Evandro Chagas (IEC)

Belém, 05 de novembro de 2010.

“Cada homem dever fazer algo que necessita os demais”.

Jose Marti

Dedicatória

Aos adolescentes que em seus momentos de transição anseiam esclarecimentos e afeto daqueles que são responsáveis pelo seu crescimento biológico, psíquico e moral.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço à Deus que me proporcionou a oportunidade de chegar até aqui (e não foi nada fácil!), e que me colocou outras pessoas que me acolheram, ajudaram, ensinaram e me orientarem. Com atenção, paciência, e apoio desde a minha entrada nesta pós-graduação até o processo de definição da orientação para que eu pudesse alcançar um maior crescimento científico e intelectual, Ele colocou em meu caminho o Dr. Luiz Fernando Almeida Machado, meu orientador: um anjo de paciência, persistência e eterno incentivador.

À Profa. Vânia Nakauth, Helena e Rosimar, que estavam no laboratório no primeiro dia que adentrei nele (altamente ansiosa) e me trouxeram, com seus sorrisos, a tranquilidade que eu precisava, se fazendo presentes durante toda a realização do meu trabalho, colaborando para a construção do mesmo, até nas horas de desabafos que precisei, muito obrigada.

Aos meus amigos e amigas do Laboratório de Virologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, que mais pareciam filhos e filhas, incansavelmente me ajudaram de forma incondicional, especialmente o Leo, Helen, Lucinda, Renata, Carol, Etiene, Iran, Felipe, Paula, Izete, Regiane, Rogério, Jamilla, Rafaela, Simone Deivid, Tany, Lúcio e a Suzane eu agradeço muito; nunca vou esquecer vocês (torcerei sempre por todos). À Minha colega e vizinha Di Paula, que muito me ensinou e que aprendi a admirar e respeitar, obrigada pelo companheirismo, desabafos, e sobretudo pela amizade. E à minha doce e competente anjinha co-orientadora : Jacqueline pelo esforço e trabalho que foi fundamental para esta conclusão, obrigada.

O meu muito, mas muito obrigada por tudo que cada um de vocês fizeram por mim, com certeza, vou me lembrar a vida inteira.

À Universidade Estadual do Pará, à Universidade Federal do Pará, ao Laboratório de Virologia e às adolescentes da UREMIA: obrigada por permitir a realização deste trabalho.

Finalizo, agradecendo do fundo do meu coração ao meu marido, primeiro pela paciência, depois pelo apoio e incentivo; aos meus filhos, noras e o genro que me dão força (pois acham que sou forte); e aos meus pais pela confiança que têm em mim. Muito obrigado. Eu amo todos vocês e principalmente minhas netinhas!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	9
RESUMO	10
ABSTRACT	11
1 INTRODUÇÃO	12
1.1 ADOLESCENTES.....	14
1.2 TRANSMISSÃO VERTICAL E COINFECÇÃO DE AGENTES VIRAIS.....	18
1.3 O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV).....	20
1.3.1 Biologia	21
1.3.2 Replicação do HIV-1	22
1.3.3 Heterogeneidade genética do HIV-1	23
1.3.4 Epidemiologia	24
1.3.4.1 Modos de Transmissão.....	24
1.3.4.2 Prevalência.....	25
1.3.5 Diagnóstico Laboratorial	28
1.4 VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANA (HTLV).....	30
1.4.1 Biologia	30
1.4.2 Replicação do HTLV	33
1.4.3 Epidemiologia	35
1.4.3.1 Modos de Transmissão.....	35
1.4.3.2 Prevalência.....	36
1.4.4 Diagnóstico Laboratorial	38
1.5 VÍRUS DA HEPATITE B (VHB).....	39

1.5.1 Biologia do VHB.....	39
1.5.2 Replicação do VHB.....	41
1.5.3 Epidemiologia.....	43
1.5.3.1 Modos de Transmissão.....	43
1.5.3.2 Prevalência.....	44
1.5.4 Diagnóstico Laboratorial.....	46
1.6 CITOMEGALOVIRUS HUMANO (CMV).....	49
1.6.1 Biologia do CMV.....	49
1.6.2 Replicação do CMV.....	51
1.6.3 Epidemiologia.....	52
1.6.3.1 Modos de Transmissão.....	52
1.6.3.2 Prevalência.....	53
1.6.4 Diagnóstico Laboratorial.....	54
1.7 OBJETIVOS.....	56
1.7.1 Objetivo Geral.....	56
1.7.2 Objetivos Específicos.....	56
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	57
2.1 CASUÍSTICA.....	57
2.1.1 Tamanho Amostral.....	58
2.2 MÉTODOS PARA A DETECÇÃO DE ANTICORPO E ANTÍGENO.....	59
2.2.1 Detecção de Anticorpo para HIV.....	60
2.2.2 Detecção de anticorpo para HTLV 1/2.....	60
2.2.3 Detecção de anticorpo e antígeno para VHB.....	60
2.2.4 Detecção de anticorpo para CMV.....	61
2.3 MÉTODOS DE BIOLOGIA MOLECULAR PARA A CARACTERIZAÇÃO DO	

HTLV E DO HIV.....	61
2.3.1 Extração de DNA.....	61
2.3.1.1 Lise Celular.....	61
2.3.1.2 Precipitação de Proteínas.....	62
2.3.1.3 Precipitação do DNA.....	62
2.3.1.4 Hidratação do DNA.....	63
2.3.2 Reação em Cadeia Mediada pela Polimerase.....	63
2.3.2.1 Amplificação do gene <i>pX</i> do HTLV.....	63
2.3.2.2 Amplificação do gene <i>env</i> e RFLP.....	64
2.3.2.3 Amplificação do gene <i>pro</i> do HIV-1.....	65
2.4 ELETROFORESE.....	66
2.5 SEQUENCIAMENTO.....	66
2.5.1 Precipitação do DNA Sequenciado.....	67
2.5.2 Eletroforese do DNA Sequenciado.....	68
2.6 ANÁLISE DE SEQUENCIAS NUCLEOTÍDICAS.....	68
2.6.1 Edição e Alinhamento de Seqüências.....	68
2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	68
2.8 ASPECTOS ÉTICOS.....	69
3. RESULTADOS.....	70
3.1 CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL SÓCIODEMOGRÁFICO DAS PARTICIPANTES.....	70
3.2 DESCRIÇÃO DOS FATORES RELACIONADOS À SAUDE SEXUAL, REPRODUTIVA DAS ADOLESCENTES GRÁVIDAS ATENDIDAS NA UREMIA-SESPA.....	71
3.3 RESULTADO DOS TESTES SOROLÓGICOS PARA A PESQUISA DE ANTICORPOS CONTRA HIV, HTLV-1/2, VHB E CMV DA POPULAÇÃO DE GRÁVIDAS GRÁVIDAS ATENDIDAS NA UREMIA.....	75

3.3.1	Análise Sorológica Para a Infecção pelo HIV.....	75
3.3.2	Análise Sorológica Para a Infecção pelo HTLV-1/2.....	76
3.3.3	Análise Sorológica dos Marcadores para a Infecção pelo VHB.....	76
3.3.4	Análise Sorológica dos Marcadores para a Infecção pelo CMV.....	78
3.4	EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR	78
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	80
4	DISCUSSÃO.....	85
5	CONCLUSÕES.....	95
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97
	ANEXOS	127

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Organização estrutural do HIV-1.....	21
Figura-2	Representação Esquemática do genoma do HIV-1	22
Figura 3	Representação esquemática da replicação do HIV-1.....	23
Figura 4	Número estimado de pessoas que vivem com o HIV no mundo 2008.....	26
Figura 5	Taxa de incidência por mil de AIDS em jovens de 13 a 24 anos nas UF...	28
Figura 6	Representação esquemática da estrutura morfológica do HTLV -1.....	31
Figura 7	Representação esquemática do genoma do HTLV.....	32
Figura 8	Representação Esquemática do Ciclo de replicação do HTLV.....	33
Figura 9	Representação esquemática do VHB.....	40
Figura 10	Representação esquemática do genoma do VHB.....	40
Figura 11	Representação esquemática da replicação do VHB	41
Figura 12	Mapa da prevalência do HBsAg no mundo.....	45
Figura 13	Perfil sorológico da hepatite B aguda.....	47
Figura 14	Perfil sorológico da hepatite B crônica.....	48
Figura 15	Representação esquemática da morfologia do CMV.....	50
Figura 16	Mapa genômico do CMV.....	50
Figura 17	Esquema da replicação do CMV.....	51
Figura 18	Proporções de grávidas adolescentes que dizem saber sobre período fertil.....	74
Figura 19	Proporção de grávidas com conhecimento satisfatório	75
Figura 20	Fragmento amplificado da região <i>pX</i> do HTLV-1.....	79
Figura 21	Produto da digestão enzimática com XhoI da região <i>env</i> do HTLV-2.....	79

RESUMO

A prevalência da infecção por agentes virais como o HIV-1, HTLV1/2, VHB e CMV, ainda é pouco conhecida na população de adolescentes grávidas na região norte do Brasil. Este trabalho teve como um dos objetivos descrever esta prevalência das infecções HIV-1, HTLV1/2, VHB e CMV em adolescentes grávidas atendidas em um centro de referência do estado do Pará. Foram coletadas amostras de sangue de 324 gestantes procedentes de vários municípios do estado no período de novembro de 2009 a fevereiro de 2010. As amostras foram submetidas a um ensaio imunoenzimático do tipo ELISA, para a detecção de anticorpos anti-HIV, anti-HTLV-1/2, anti-VHB e anti-CMV IgM/IgG. A análise sorológica revelou uma amostra soropositiva para o HIV-1, duas amostras positivas para HTLV1/2, enquanto a maioria das amostras apresentaram anticorpos anti-CMV IgG, embora a ocorrência da infecção aguda tenha sido baixa (2,2%). A prevalência da infecção para VHB em adolescentes gestantes foi de 0,62%, porém número expressivo (83,3%) de adolescentes estão suscetíveis a infecção pelo VHB, o que sugere que não foram imunizadas. A maioria (63,4%) das adolescentes continuaram estudando mesmo sabendo da gravidez e 34,6% buscaram o pré-natal tardiamente possibilitando um número mínimo de quatro consultas de pré natal. O resultado reforça a hipótese que estas adolescentes grávidas possuem uma prevalência de infecções desses tipos virais, semelhante a taxas nacionais das gestantes de modo geral. A prevalência dos subtipos virais (HTLV-2 e HIV-1 subtipo B) obtidas através da caracterização molecular das amostras soropositivas das gestantes foi concordante com a prevalência dos subtipos da região norte.

ABSTRACT

The prevalence of infection by viral agents such as HIV-1, HTLV1/2, VHB and CMV is not so much known in pregnant teenage population from the North region of Brazil. One of the objectives of this study was to describe the prevalence of infections HIV-1, HTLV1/2, VHB and CMV in pregnant adolescents, attended in a Reference Center in the State of Pará. To achieve the objectives, it was collected blood samples from 324 pregnant adolescents, who came from several cities of the State, from November of 2009 to February of 2010. The samples were submitted to an immuno-enzymatic test (ELISA), in order to detect antibodies Anti- HIV, Anti- HTL V1/2, Anti- VHB and Anti- CMV IgM/ IgG. The serological analysis revealed one serum positive sample for HIV-1, two positives samples for HTLV1/2, while the majority of samples showed antibodies Anti-CMV-IgG, although the occurrence of high infection was low (2.2%). The prevalence of infection for VHB in pregnant adolescents was 0.62%, however a great number (83.3%) of adolescents are susceptible to the infection by VHB, what means they probably were not immunized. The majority of adolescents (63.4%) continued their studies, even though they know about their pregnancy and 34.6% started prenatal later, so they only had a minimum number of four consultations of prenatal. The result reinforces the hypothesis that pregnant adolescents have prevalence for those viral type infections, what is similar to the national pregnant women rates. The prevalence of viral subtypes (HTLV-2 and HIV-1 subtype B) obtained by the molecular characterization of serum positive samples from pregnant adolescents agreed with the prevalence of subtypes from the North region.

1 INTRODUÇÃO

As doenças sexualmente transmissíveis (DST) acompanham a história da humanidade. Na Grécia antiga elas foram chamadas de doenças venéreas por referência à Vênus, deusa do amor (Gamio, 1998). Atualmente, utiliza-se, com frequência, a expressão DST para denominar todas as infecções que podem ser transmitidas por meio de contato íntimo, durante a relação sexual, sem proteção adequada (Nauad, 1993; Brasil, 1997; Fnuap, 1997). Por outro lado, alguns grupos de estudo de população e sexualidade preferem utilizar a expressão infecções sexualmente transmissíveis (IST), justificando que, apesar de estas infecções serem ocasionadas por diversos tipos de microrganismos, elas podem ter um curso assintomático, o que não impede sua eventual evolução para quadros graves de saúde, com evoluções clínicas distintas (Bastos *et al.*, 2008).

Com a descoberta de penicilina na década de 1940, as epidemias de algumas IST passam por um período de declínio, contrariamente ao que aconteceu nos anos 1960 e 1970, quando, com a liberalização dos anticoncepcionais e a liberdade sexual dos jovens, as DST tornaram a ter uma reincidência e um aumento no mundo (Gamio, 1998). Todavia, somente após a década de 1980, é que essas doenças recuperaram a importância como problema de saúde pública por causa da epidemia da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), que trouxe novos desafios para o campo das ciências médicas (Brasil, 2004).

Além de poder levar a infertilidade, algumas IST podem ser transmitidas durante uma transfusão de sangue contaminado ou de mãe para filho e por meio do leite materno durante a amamentação, ocasionando perdas gestacionais, doenças congênitas e, sobretudo, aumentando o risco de infecção pelo *Vírus da imunodeficiência humana* (HIV) (Newell, 1998; Furnia *et al.*, 1999, Paiva, 2008).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), as IST permanecem como grave problema de saúde pública no Brasil e no mundo e, em termos de risco epidemiológico,

afetam principalmente o grupo populacional de adolescentese adulto jovens , que tem sido considerado o mais suscetível a contrair essas infecções, por conta de fatores próprios desta etapa da vida, ou seja, referentes a padrões comportamentais e a fatores associados ao início da vida sexual (Lignani *et al.*, 2000, Sanches, & Françoso 2007).

A idade média da iniciação sexual de jovens no Brasil, em 2007, foi de 14,9 anos. O uso de preservativo na primeira relação sexual aumentou, significativamente, em relações estáveis (48,5%, em 1998, para 67,7%, em 2005) e casuais (47,2%, em 1998 para 62,6%, em 2005) (Paiva *et al.*, 2008). No referido estudo, observou-se que os jovens com maior escolaridade e renda familiar, usam em maior proporção o preservativo na primeira relação sexual se comparados aos que relataram menor escolaridade e renda (Paiva *et al.*, 2008).

O uso ou não de preservativos pelos jovens pode ter diferentes motivações. As mulheres que têm parceiros mais velhos cerca de sete anos de idade ou pertencem a outra geração, ou ainda, quando o vínculo com o parceiro é definido como fixo e estável, geralmente não fazem uso de preservativos em suas relações sexuais (Eisenstein *et al.*, 2007). Essas situações que aumentam a vulnerabilidade nas mulheres são ainda reforçadas pela desigualdade de gêneros (Paiva *et al.*, 2008).

Existem outros fatores que influenciam a transmissão das IST, no caso de adolescentes: a iniciação sexual precoce, o uso de drogas, a pressão social dos pares e o não uso de preservativos (Eisenstein *et al.*, 2007; Sanchez & Françoso, 2007). Portanto, o não uso de preservativos e as IST são consideradas fatores de facilitação da transmissão do HIV, do *Vírus da hepatite B* (VHB) e do *Vírus linfotrópico de células T humanas* (HTLV) (Nauad, 1993; Gíron *et al.*, 1999; Figueiró *et al.*, 2007; Paiva *et al.*, 2008).

1.1 ADOLESCENTES

De acordo com as normas vigentes e com o Estatuto da Criança e do Adolescente (ECA), a adolescência é a etapa da vida do homem que corresponde à faixa etária de 12 a 18 anos e refere-se ao período da menoridade (Brasil, 2006).

Já na área de Saúde, a OMS, apoiada em uma definição de adolescência de base etária, delimita com precisão este grupamento dos 10 aos 20 anos incompletos, período do desenvolvimento humano, situado entre a infância e a fase adulta, que se caracteriza por grandes transformações de ordem física, psíquica e social (OMS, 2009).

Atualmente, há no mundo cerca de 1,2 bilhão de adolescentes, conforme estimativa da OMS (2009). Já no Brasil, segundo dados do censo demográfico, do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), esse grupo corresponde a 21,84% da população do país. No Pará, a contagem da população estimou 1.556.561 adolescentes, na faixa etária de 10 a 19 anos (IBGE, 2007).

Nesta fase de desenvolvimento e de construção de identidade do ser humano, os adolescentes lidam com várias transformações estabelecidas pela puberdade e pelas repercussões psicológicas e sociais (Goldberg & Silva, 2006). Tais transformações ocorrem com a eclosão da puberdade, que depende do desencadeamento da cascata hormonal hipotálamo-hipofisária, com a atuação sobre as gônadas femininas ou masculinas, que ocasionarão a maturação biológica e reprodutiva. O aumento dos esteróides, de gonadotrofinas, hormônio de crescimento e o fator de crescimento dependente de insulina I ou insulina *like* (IGF-1), prenunciam o crescimento dos órgãos, com exceção do tecido linfóide, que sofre decréscimo progressivo. O corpo passa, então, a responder a estímulos somáticos e, depois, psicossociais (Goldberg & Silva, 2006).

Essas mudanças, que ocorrem mais precocemente no sexo feminino, entre 8 e 13 anos de idade, com um considerável aumento da produção de estrógenos pelos ovários,

culminam com o amadurecimento e desenvolvimento do aparelho reprodutor. Manifesta-se, primeiramente, pela telarca, aparecimento do broto mamário, e, em seguida, pelos pêlos pubianos, pela deposição de gordura e, por último, pela menarca com alterações cíclicas do endométrio (Sanches & Françoso, 2007).

Com relação ao sexo masculino, a manifestação puberal se evidencia mais tardiamente, em média aos 10,9 anos, e é decorrente do eclodir da adrenarca e da gonadarca, com aumento dos testículos e mudança na coloração da bolsa escrotal, cuja textura fica rugosa. Há também um aumento em largura e em comprimento do pênis e dos órgãos reprodutivos internos (próstata e vesículas seminais), surgimento de pêlos pubianos, axilares, faciais e corporais, além da mudança no timbre da voz (Gamio, 1998).

Neste processo dinâmico da vida, existem determinados fatores (biológicos, psíquicos e sociais) que tornam os adolescentes suscetíveis às situações de vulnerabilidade. Dentro dessas variáveis, do ponto de vista biológico, algumas situações anatômicas e fisiológicas possibilitam às jovens adolescentes tornarem-se mais vulneráveis às IST (Nauad, 1993; Giraldo *et al.*, 2005). Meninas pré-púberes, por exemplo, têm características que as tornam mais vulneráveis à agressão bacteriana: a vulva é mais exteriorizada, os grandes lábios não têm coxins gordurosos, os pequenos lábios são atróficos e a vagina não apresenta nível hormonal para a manutenção do epitélio estratificado e pH ácido (Eisenstein *et al.*, 2007). Acrescente-se a isso o fato de que a interação no equilíbrio da microbiota vaginal mantém o trato genital saudável, pois depende de produtos do metabolismo local, da resposta imune e do estado hormonal (Giraldo *et al.*, 2005).

Observa-se, ainda, que a anatomia da vulva com a presença de numerosas glândulas de Bartolini e as parauretrais de Skene, as endocervicais e os ductos predis põem, com frequência, a entrada de microrganismos, embora ajudem a prevenir a disseminação de IST (Giraldo *et al.*, 2005). Deve-se também considerar que, na adolescência, uma quantidade

pequena de muco cervical é produzida por conta dos níveis de progesterona que ainda são baixos nesta idade (Eisenstein *et al.*, 2007).

Os hormônios ovarianos, por sua vez, estimulados e liberados de forma lenta e gradual, não são suficientes na manutenção do epitélio estratificado e do pH ácido vaginal, o que dificulta a proteção do canal cervical até a vagina, pois os lactobacilos em baixa concentração e a insuficiência de glicogênio não conseguem manter o pH ácido ideal, favorecendo o crescimento de bactérias patogênicas (Nauad, 1993).

Assim, o meio vaginal mais ácido associado a influências hormonais induzem à diferenciação progressiva do ectocervix em epitélio escamoso, porém, algumas destas células permanecem do tipo colunar e são mais suscetíveis à infecção (Gamio, 1998; Manavi, 2006). Adicionalmente, a junção do cervix uterino que se alonga na vagina, não é protegido pelo muco cervical, predispondo a introdução de patógenos durante a relação sexual (Nauad, 1993; Eisenstein *et al.*, 2007).

Nem mesmo o epitélio da vagina estratificado pavimentoso, que descama fisiologicamente por conta da renovação contínua das camadas, não serve de barreira mecânica aos agentes, porque a parede vaginal se apresenta mais fina pela insuficiência de estrógenos, tornando-se suscetível ao aparecimento de solução de continuidade e, conseqüentemente, mais propícia à aquisição de infecções (Giraldo *et al.*, 2005).

Do mesmo modo, as alterações anatômicas e fisiológicas próprias do estado gravídico, influenciadas pelo estímulo estrógeno-progestínico, espessam e modificam a mucosa da vagina, aumentam o glicogênio das células, contribuem com a queda do pH vaginal, aumentam a descamação celular, modificam a composição da microbiota anaeróbica e podem ocasionar um desequilíbrio, facilitando a instalação de um processo infeccioso (Gamio, 1998).

Quanto às variações psíquicas que ocorrem nesta fase de mudança, elas podem também favorecer situações de risco, pois estão relacionadas com a formação de valores, atitudes, sentimentos, ansiedade, onipotência, baixa autoestima, crise de identidade, necessidade de transgressão, acrescidas pela influência da mídia e ou dos pares, além do pouco poder de negociação com o parceiro (Makaroun & Souza, 2007).

A gravidez na adolescência, neste contexto, passa a ter grande visibilidade social, pois não só reflete o comportamento sexual desprotegido, mas também favorece, a transmissão de várias IST, as quais podem resultar em complicações na gravidez, doenças crônicas, incapacidade e, até mesmo, óbito (Schryver & Meheus, 1993; Munhoz, 2006; Avelino *et al.*, 2007).

As internações por gravidez, parto e puerpério correspondem a 37% das internações entre mulheres de 10 a 19 anos no Sistema Único de Saúde (SUS) (Brasil, 2006). Em 2007, os dados do sistema de informações de nascidos vivos (SINASC/ DATASUS), os do boletim parcial da Secretaria Saúde do Estado do Pará (SESPA) e os do IBGE (2007), assinalavam que a taxa de fecundidade em Belém, na faixa etária de 10 a 14 anos, teve um expressivo aumento se comparada àquelas observadas nas demais faixas etárias. Em cada grupo de mil mulheres entre 10 a 14 anos, nasciam, em 1990, 1,64 filhos, passando esse quantitativo para 6,32, em 2007. Desta forma, a taxa cresceu em 3,85 filhos para cada mil mulheres nesta faixa de idade, entre os anos de 1990 a 2007 (SINASC/DATASUS, 2008).

Com relação à taxa de fecundidade em Belém, em 2007, no grupo de mil mulheres entre 15 a 19 anos, houve um crescimento de 2,06 vezes (SINASC/DATASUS, 2008) no número de filhos (de 51,30 para 105,95 filhos). No período de 1990 a 2007, houve um acréscimo de 5,37% de nascidos vivos de mães entre 10 e 19 anos (passou de 23,60% para 28,97%), sendo que destes, 0,79% correspondem às mães com idade de 10 a 14 anos, enquanto que 4,58% estão na faixa etária entre 15 e 19 anos (SINASC/DATASUS, 2008).

1.2 TRANSMISSÃO VERTICAL E COINFECÇÃO DE AGENTES VIRAIS

No decurso de uma gravidez, diversos agentes microbianos podem infectar grávidas e serem transmitidos de forma vertical ao feto e/ou ao recém-nascido, que pode ter como consequência: infecções perinatais severas, morbidade fetal e ou óbito (Brasil, 2006). Essa transmissão ocorre no período da gestação, na cavidade amniótica, pelo acometimento das membranas amnióticas do cordão umbilical e da placenta, pela infecção ascendente, por meio do canal de parto, e, no momento do parto (Abarca, 2003). Pode, ainda, haver aspiração de líquido amniótico contaminado, ou ainda contato da pele e das mucosas gástricas e oculares do recém-nascido, com sangue e secreções genitais que contenham microrganismos (Avelino *et al.*, 2007; Figueiró *et al.*, 2007).

Verificou-se, ainda, que complicações obstétricas tais como os partos prolongados, mudanças morfológicas placentárias, amniorrexe prematura, ruptura de membranas por tempo prolongado, presença de líquido amniótico e sangramento pré-parto e intraparto, em mães transmissoras, contribuem para a infectividade e o aumento do risco da transmissão de agentes infecciosos (Abarca, 2003; Gianvecchio & Goldberg, 2005).

Já o modo de transmissão pós-parto, que acontece por meio do aleitamento materno, depende do tempo de exposição, da infectividade do leite e da suscetibilidade dos bebês, nos quais os agentes infecciosos podem penetrar na mucosa por uma solução de continuidade (Gianvecchio & Goldberg, 2005).

Dentre outras variáveis que predisõem à transmissão vertical, está o comportamento materno relativo às práticas sexuais sem preservativo e com múltiplos parceiros, drogadição, condições de habitação e saneamento, hábitos higiênicos inadequados, não aderência ao pré-natal, além da imunidade natural em desequilíbrio (Goldberg & Silva, 2006; Figueiró *et al.*, 2007).

Embora existam mecanismos imunitários maternos, tais como barreira placentária e a competência da resposta imunológica da mãe, estes podem não ser suficientes, podendo favorecer o aumento de suscetibilidade a infecções congênitas, perinatal ou pós-natal (Abarca, 2003; Gianvecchio & Goldberg, 2005). Entre os agentes infecciosos que podem ser transmitidos por essa via estão incluídos o HIV, o HTLV, o VHB e o Citomegalovírus humano (CMV) (Nauad, 1993; Figueiró *et al.*, 2007). Além disso, existe ainda a possibilidade de risco de duas ou mais infecções simultâneas se manifestarem na gravidez, pois nos fluidos orgânicos existem vírus que têm em comum o mesmo modo de transmissão (Signorini *et al.*, 2007).

Quanto ao CMV, este ainda continua sendo um dos agentes oportunistas mais comuns em pacientes com infecção avançada pelo HIV e um dos grandes causadores de morbidade e mortalidade nesses pacientes (Bowen *et al.*, 1996, Schippers *et al.*, 2004).

Com relação aos aspectos epidemiológicos das coinfeções, a frequência destas depende diretamente da prevalência de ambas as infecções nas comunidades ou do tipo de população estudada, bem como os fatores de risco individuais (Lynn & Lightman, 2004, Bastos *et al.*, 2008).

Essas coinfeções, como a HIV-HTLV, que podem ocasionar diversas alterações e complicações, até mesmo diminuindo a resposta terapêutica, são relativamente frequentes e estão associadas com os mesmos fatores de risco já citados ou de proteção não suficiente (Signorini *et al.*, 2007).

A presença de uma IST está associada com um risco 3 a 5 vezes maior de se contrair o HIV. Este risco maior se deve ao fato, por exemplo, de que a presença de sífilis pode provocar úlceras genitais que facilitam a passagem de outros agentes infecciosos (Lynn & Lightman, 2004).

Deste mesmo modo, o VHB e o HIV compartilham rotas comuns de transmissão e a presença do VHB, no portador do HIV, reveste-se de importância clínica, na medida em que a ocorrência de tal co-infecção poderia favorecer um pior prognóstico do paciente (Alter, 2006; Signorini *et al.*, 2007). A aquisição do VHB por pessoas já infectadas pelo HIV vem aumentando significativamente o risco de cronificação pelo primeiro (Alter, 2006).

1.3 O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV)

O HIV pode ocasionar infecção com sintomatologia inicial de febre, mal estar, exantema cutâneo, artralgia e linfadenopatia generalizada que dura, em média, 3 a 14 dias, seguida de um segundo período assintomático, considerado de latência clínica. No terceiro período, o indivíduo pode apresentar, diarreia, fadiga, leucoplasia, gengivite seguida de queda da imunidade e o surgimento das doenças oportunistas (Leão *et al.*, 1997). Nesta fase ocorrem as manifestações clínicas da AIDS, onde o número de linfócitos T CD4+ está diminuído, por conta da progressiva replicação viral (Manavi, 2006).

A história natural da infecção aguda pelo HIV caracteriza-se tanto por viremia elevada, como por resposta imune intensa. Durante o pico de viremia, ocorre diminuição rápida dos linfócitos T CD4+ (LTCD4+) que, posteriormente, aumentam, mas, geralmente, não retornam aos níveis prévios à infecção. Observa-se, também, aumento do número absoluto de linfócitos T CD8+ (LTCD8+) circulantes, com a inversão da relação LTCD4+/LTCD8+, que se torna menor que um. Este aumento de LTCD8+, provavelmente, reflete uma resposta T citotóxica potente, que é detectada antes do aparecimento de anticorpos neutralizantes (Succi & Carvalho, 2007).

Nos casos de AIDS pediátrica, as manifestações clínicas variam de total ausência de sintomas às manifestações como dificuldade de ganho de peso,

hepatoesplenomegalia, adenomegalia, candidíase oral, infecções bacterianas de repetição e de difícil controle, alterações hematológicas, anemia, leucopenia, diarreias, pneumonia e tuberculose (Succsi & Carvalho, 2007).

1.3.1 Biologia

O HIV pertence à família *Retroviridae*, gênero *Lentivirus*, sendo classificado em dois tipos: HIV-1 e HIV-2 (ICTV, 2007). Possuem estrutura genômica semelhante, apresentando homologia em torno de 50%, sendo que ambos apresentam subtipos genéticos (Vidal, 2003).

O HIV-1 possui uma forma esférica com, aproximadamente, 110 nm de diâmetro e um envelope, no qual são inseridas glicoproteínas virais de superfície (gp120) e transmembrana (gp41) (Turner & Summers, 1999). A superfície interna desse envelope viral contém a proteína p17, que também é conhecida como proteína da matriz. Apresenta, além disso, um capsídeo viral de forma icosaédrica, formado pela proteína p24, que envolve duas cópias iguais de ácido ribonucléico (RNA) de fita simples e polaridade positiva (Turner & Summers, 1999; Figura 1).

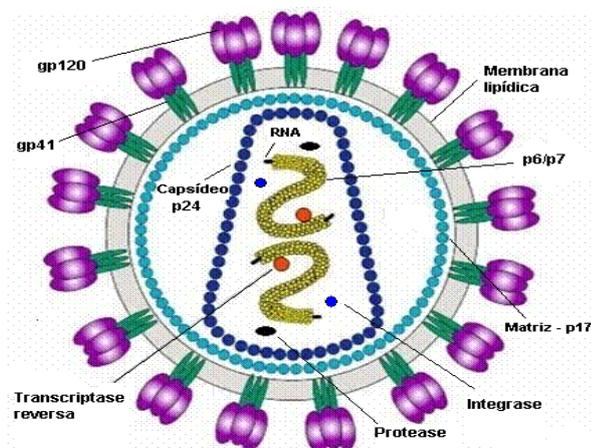


Figura 1 – Organização estrutural do HIV-1 (Adaptado de www.stanford.edu/.../2005gongishmail/HIV.html)

O genoma do HIV, sob forma de DNA proviral, possui regiões de genes delimitados por duas regiões terminais longas e repetitivas (*LTR*). Estes genes estão divididos em três genes estruturais: *gag*, *pol* e *env*, típicos dos retrovírus, e seis genes regulatórios: *tat*, *nef*, *rev*, *vif*, *vpu* e *vpr* (Greene, 1991; Llewelyn, 1994; Figura 2).

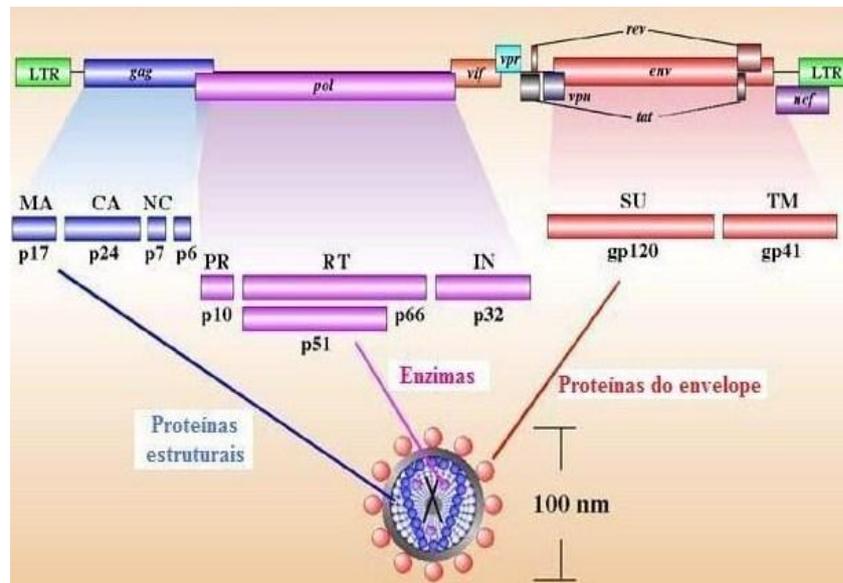


Figura 2 - Representação esquemática do genoma do HIV-1 (Adaptado de www.stanford.edu/.../2005gongishmail/HIV.html).

1.3.2 Replicação do HIV-1

A replicação ocorre com a ligação de glicoproteínas virais (gp120) ao receptor específico da superfície celular (CD4), provocando a fusão do envelope viral com a membrana da célula alvo (Llewelyn, 1994). Em seguida, há a liberação do nucleocapsídeo para o citoplasma da célula hospedeira e, ainda no citoplasma, ocorre a transcrição do RNA viral em ácido desoxirribonucléico (DNA) linear de fita simples, mediada pela enzima transcriptase reversa (TR), que direciona a síntese da molécula formada. A fita dupla é transportada ao núcleo e integrada ao DNA da célula hospedeira por meio da enzima integrase (Llewelyn, 1994; Turner & Summers, 1999).

O DNA viral integrado passa agora a ser transcrito para a produção de proteínas estruturais e funcionais. As proteínas que são glicosiladas seguem ao Complexo de Golgi para receber as moléculas de açúcar e as proteínas do capsídeo são deslocadas até a proximidade da membrana celular, onde o RNA genômico será incorporado ao nucleocapsídeo. Posteriormente, o núcleocapsídeo adquire o envelope por brotamento através da membrana citoplasmática (Llewelyn,1994; Figura 3).

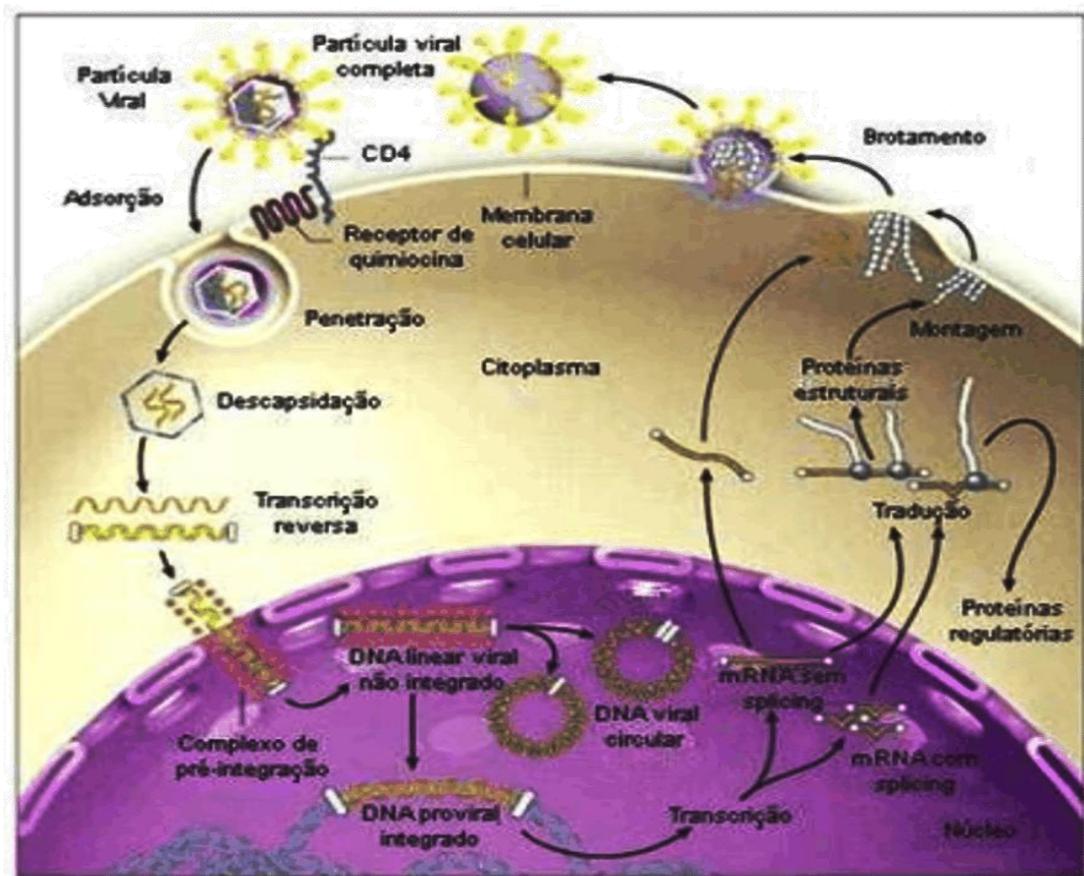


Figura 3 - Representação esquemática da replicação do HIV-1 (Adaptado de: <http://paginas.terra.com.br/educacao/portaldaescola/aids.html>).

1.3.3 Heterogeneidade genética do HIV-1

Uma das principais características do HIV-1 é a sua grande diversidade genética. A análise molecular e filogenética do vírus isolado na África e em outras regiões do mundo indica a existência de três grupos: grupo M (*main*), grupo N (*non-M/non-O*) e grupo O

(*Outlier*) (Zhang *et al.*, 2005). Essa variação pode ser devida a erros de leitura da transcriptase reversa durante o processo de replicação, à pressão da resposta imunológica, a eventos de recombinação e ao uso de terapia antiretroviral (Perrin *et al.*, 2003).

A análise filogenética do HIV-1 tem mostrado que o grupo M encontra-se dividido em subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J e K), em sub-subtipos (A1, A2, A3, A4, F1, F2, J1 e J2) (Zhang *et al.*, 2005; Vidal *et al.*, 2006) e em várias formas recombinantes.

1.3.4 Epidemiologia

1.3.4.1 Modos de transmissão

O HIV-1 tem sido detectado em concentrações diferentes no sêmen, secreção vaginal, plasma, linfócito, saliva, urina e leite materno e pode ser transmitido de várias maneiras (Llewelyn, 1994; Delwart *et al.*, 2000).

Na transmissão sexual principalmente em relações heterossexuais permanece como modo de transmissão predominante e corresponde a cerca de 85% de todas as infecções pelo HIV-1 (Simon *et al.*, 2006). A transmissão de homem para mulher é, aproximadamente, duas vezes mais eficiente do que a transmissão de mulher para homem (Guinan & Hardy, 1987).

Além da transmissão sexual, o HIV pode ser transmitido pela via vertical, a qual ocorre em torno de 35% em qualquer fase da gravidez e cerca de 65% no momento do parto ou durante a amamentação (St. Louis *et al.*, 1993; Newell, 1998; Brasil, 2007).

Outras formas de transmissão do vírus são a sanguínea, como pode ocorrer em receptores de sangue ou hemoderivados e entre usuários de drogas injetáveis, além da ocupacional, ocasionada por acidentes de trabalho, envolvendo profissionais da área da saúde que sofrem ferimentos com instrumentos perfuro-cortantes contaminados com sangue de pacientes infectados pelo HIV (Newell, 1998; Delwart *et al.*, 2000).

Algumas variáveis são importantes facilitadores da disseminação do HIV, tais como o contato com múltiplos parceiros sexuais, a relação sexual anal sem o uso de preservativo, o uso de drogas intravenosas e a presença de outras IST (Delwart *et al.*, 2000; Strazza, *et al.*, 2004). Em relação à transmissão vertical, fatores como a carga viral materna, o genótipo e o fenótipo viral, o estado clínico das grávidas e a presença de outras coinfeções, são importantes para o sucesso da transmissão viral (Manavi, 2006).

1.3.4.2 Prevalência

Em dezembro de 2008, a UNAIDS (*Joint United Nations Programme on HIV/AIDS*) relatou que cerca de 33,2 milhões de pessoas no mundo são portadores do HIV-1 e destas, 15,4 milhões são de mulheres e 2,5 milhões são de crianças (UNAIDS, 2008).

Por dia, 6.800 pessoas contraem a infecção pelo HIV e mais de 5.700 segue para óbito em consequência da AIDS no mundo, sendo a maioria dos casos devido ao acesso inadequado aos serviços de prevenção e tratamento (UNAIDS, 2008).

Na África, 22,5 milhões de indivíduos estão infectados pelo vírus e a região Subsaariana continua sendo a mais atingida pela epidemia. No entanto, mantendo esta prevalência estável em 2007, as mulheres com HIV na África Subsaariana representa 61% entre jovens de 15 a 24 anos nos serviços de pré-natal, o que sugere estar havendo uma redução no número de casos ao longo dos anos (UNAIDS, 2008).

Em contrapartida, na América Latina, Ásia e Europa ocorre um aumento gradual em mulheres contaminadas, proveniente de contaminação de drogas injetáveis e da relação sexual sem proteção (UNAIDS, 2008). Na América Latina, cerca de 1,6 milhões de pessoas estão infectadas e o Brasil, especificamente, registra um terço dessa pandemia, com prevalência de 0,5% referido no boletim epidemiológico (Brasil, 2007). Ao considerarmos a

série histórica de mortalidade no Brasil, houve um aumento de casos na Região Norte, estabilização no Nordeste e decréscimo no Sudeste, Sul e Centro-Oeste (UNAIDS, 2008).



Figura 4 – Número estimado de pessoas que vivem com o HIV no mundo até dezembro de 2008 (Adaptado de UNAIDS, 2008).

No período de maio de 1998 e junho de 1999, em Botucatu (São Paulo) foi realizado um estudo em 913 grávidas, das quais 310 (34%) foram avaliadas para a presença de anticorpos anti-HIV, sendo observada uma prevalência de 0,3% para o HIV (Olbrich-Neto & Meira, 2004). Nesse contexto, estudos sobre a infecção entre mulheres grávidas no Brasil apontam uma prevalência de, aproximadamente, 0,4% (Lemos *et al.*, 2005). Em estudo realizado com uma população de mulheres grávidas de 27 municípios no Sul do Brasil, observou que a prevalência do HIV foi de 0,5 % (Cardoso *et al.*, 2007).

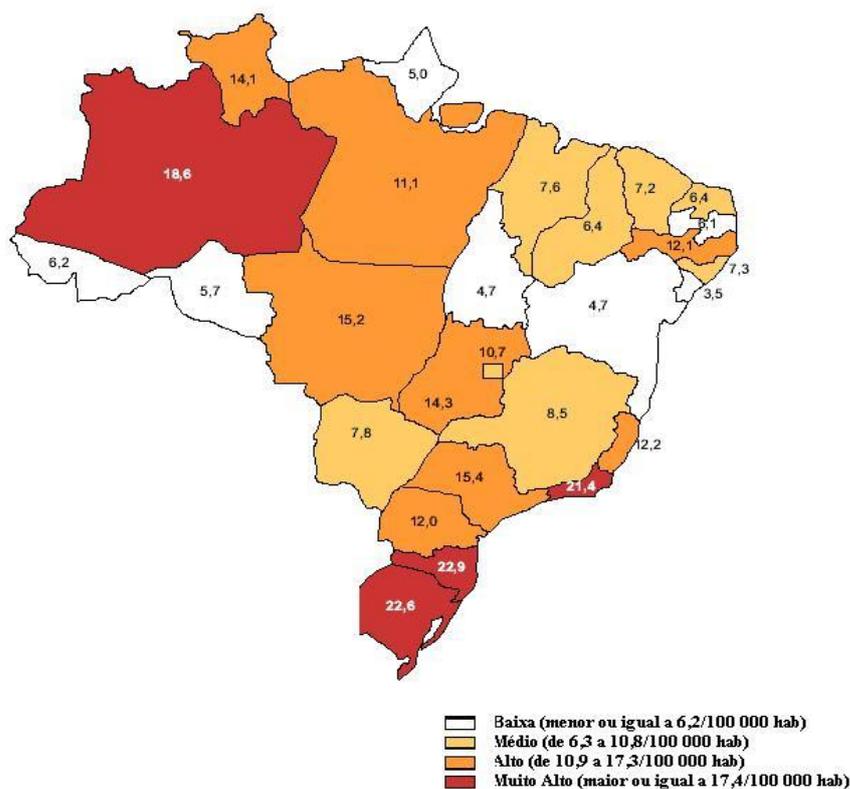
Em Sergipe, um estudo realizado em três maternidades no período de janeiro de 2003 até março de 2004, em que foram avaliadas 9.215 parturientes submetidas ao teste rápido para HIV, relatou uma prevalência do HIV de 0,42% (Lemos *et al.*, 2005). Em estudo

multicêntrico conduzido pela Sociedade Brasileira de Pediatria, a taxa estimada da transmissão vertical do HIV no Brasil, em 2004, era de 8,5%, variando entre 13,8% na Região Norte e 3,5% na região Centro Oeste (Brasil, 2007).

No Estado do Pará, até julho de 2007, o número absoluto detectado de grávidas infectadas pelo HIV foi de 3.771 (Brasil, 2007). Dados obtidos dos relatórios do Programa de Pré-natal de Alto Risco (PPNAR) da Unidade de Referência Materno Infantil Adolescente (UREMIA) dos dois últimos anos divulgaram 93 casos de mulheres grávidas portadoras do HIV em 2008 e 100 casos em 2009. O aumento da prevalência da infecção pelo HIV em mulheres tem importante implicação na transmissão vertical deste agente.

Em relação ao número de jovens com AIDS na faixa etária de 13 a 24 anos, desde 1982, foram notificados, no Brasil, 54.960 casos (Brasil, 2007). Percebe-se, que o número de casos nesta faixa etária vem crescendo, significativamente, desde o início da epidemia e o modo de transmissão por via sexual, categoria heterossexual, é um dos principais fatores para este quadro (Brasil, 2007).

No Pará, segundo dados do Boletim Epidemiológico (2007), a taxa de incidência da AIDS por 100.000 habitantes, em jovens de 13 a 24 anos, é de 11%, e o tipo de exposição corresponde à categoria heterossexual (Brasil, 2007; Figura 5).



Fonte: MS/SVS/PN-DST/AIDS

Figura 5 – Taxa de incidência por mil de AIDS em jovens de 13 a 24 anos nas Unidades Federativas do Brasil (Brasil, 2007).

A inversão na relação masculino/feminino dos casos de AIDS na faixa etária de 13 a 19 anos é preocupante, vindo se somar à ocorrência cada vez mais frequente de gestação na adolescência, sinalizando para o risco de transmissão perinatal do HIV (Brasil, 2007).

1.3.5 Diagnóstico Laboratorial

O tempo necessário para que o exame detecte a presença de anticorpos contra o HIV no sangue é, geralmente, de 3 a 12 semanas após a infecção, com período médio de, aproximadamente, dois meses. Esse tempo decorrido entre a infecção pelo HIV e a detecção é feita através de provas sorológicas (Simon *et al.*, 2006).

O diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV-1 é feito por métodos que

detectam a presença de anticorpos ou antígenos, além da amplificação do genoma viral (Mylonakis *et al.*, 2000; Simon *et al.*, 2006). Um dos testes mais utilizados é o ensaio imunoenzimático do tipo ELISA, o qual possui uma elevada sensibilidade e especificidade (Mylonakis *et al.*, 2000; Brasil, 2003).

No Brasil existe um fluxograma com normatização técnicas para o diagnóstico da infecção pelo HIV (Brasil, 2003). Este protocolo, estabelecido pelo Ministério da Saúde através da Portaria nº 59/GM/MS, de 28 de janeiro de 2003, exige que os procedimentos sequenciados para a detecção de anticorpos anti HIV em indivíduos com idade acima de dois anos de idade tenha três etapas. A primeira de triagem sorológica, que deve ser realizada utilizando-se um imunoensaio. A segunda de confirmação sorológica, a qual é realizada por meio de um teste de imunofluorescência indireta ou ao teste de immunoblot. A terceira etapa também é de confirmação sorológica e deve ser feita utilizando-se o Western blot, o qual detecta anticorpos contra antígenos do envelope e do capsídeo viral (Brasil, 2003; Simon *et al.*, 2006).

Existem duas limitações destes testes sorológicos: a) a detecção da infecção durante a sua fase primária, quando os anticorpos estão ausentes e b) em crianças com até 18 meses que ainda podem apresentar anticorpos anti HIV-1 da mãe. Nestes casos, a detecção direta do vírus, por meio de testes baseados na detecção de antígenos ou ácido nucléicos é a única opção de diagnóstico (Simon *et al.*, 2006; Brasil 2007).

Outros testes podem ser utilizados para triagem sorológica como os chamados métodos rápidos que utilizam antígenos virais fixados em suporte sólidos. Este teste faz parte de uma padronização de procedimentos do Ministério da Saúde cuja portaria de número 34, de 28 de julho de 2005, regulamenta este procedimento para situações especiais (Brasil, 2007).

1.4 VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS (HTLV)

O Vírus linfotrópico de células T humanas 1 (HTLV-1) foi associado com a leucemia, linfoma de células T do adulto (LLcTA) e de uma doença neurológica crônica, conhecida como Paraparesia Espástica Tropical ou Mielopatia associada ao HTLV-1 (PETMAH) (Poeisz *et al.*, 1980). Na PETMAH é comum a observação de fraqueza e rigidez em ambas as pernas com incontinência urinária, hiperreflexia e distúrbios sensoriais (Catalan-Soares *et al.*, 2001; Araújo & Hall, 2004).

Outras doenças também já foram associadas à infecção pelo HTLV-1, tais como uveíte, polimiosite, tireoidite autoimune, cirrose biliar primária, síndrome de Sjögrens e cirrose biliar primária (Catalan-Soares *et al.*, 2001; Proietti *et al.*, 2005).

1.4.1 Biologia

O HTLV pertence à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae* e ao gênero *Deltaretrovirus* (ICTV, 2007). Existem quatro diferentes tipos de HTLV: HTLV-1, HTLV-2, HTLV-3 e HTLV-4, dos quais o HTLV-1 e o HTLV-2 são os mais comuns e apresentam tropismo por linfócitos T CD4+ e T CD8+, respectivamente (Callatini *et al.*, 2005; ICTV, 2007).

O HTLV-1 apresenta seis subtipos: HTLV-1a (Subtipo cosmopolita), HTLV-1b (Subtipo África Central), HTLV-1c (Subtipo Australo-Melanésio), HTLV-1d (Novo Subtipo África Central), HTLV-1e, HTLV-1f e HTLV-1g (Ureta-Vidal *et al.*, 1994). Da mesma forma, o HTLV-2 apresenta quatro subtipos moleculares: HTLV-2a, HTLV-2b, HTLV-2c e HTLV-2d (Hall *et al.*, 1994).

A sua forma esférica possui entre 80 a 100 nm de diâmetro e é envolvida por um envelope lipoprotéico constituído de uma bicamada lipídica que contém as glicoproteínas virais gp46 e gp21. Apresenta um genoma com duas moléculas iguais de RNA, de cadeia

simples e polaridade positiva medindo, aproximadamente, 9 Kilobases (Kb), o qual é envolvido por um capsídeo protéico constituído pelas proteínas p15, p19 e p24 (Hjelle, 1991; Tangy, 1996).

No interior do capsídeo também estão presentes as enzimas transcriptase reversa (TR), integrase, protease e RNase H que são essenciais para o estabelecimento da infecção viral (Tangy, 1996; Figura 6).

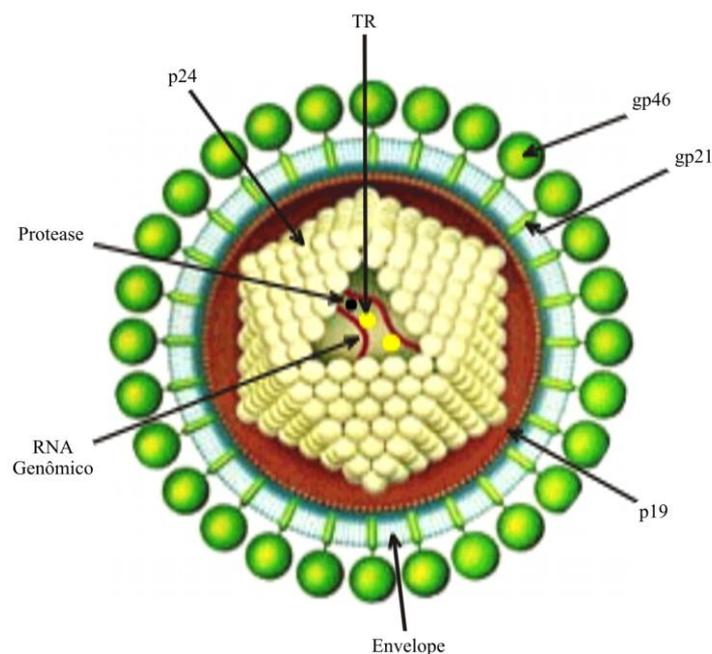


Figura 6 - Representação esquemática da estrutura morfológica do HTLV-1 (Adaptado de www.kmu.ac.jp).

O genoma proviral do HTLV apresenta três genes estruturais *gag*, *pol/pro* e *env*, os quais são flanqueados por duas sequências longas e repetitivas (*LTR*). O gene *gag* codifica as proteínas p19, p24, p15. O gene *pol* codifica transcriptase reversa e o gene *pro* codifica protease. O gene *env* codifica as glicoproteínas gp21 e gp46 (Hall *et al.*, 1994; Fortunato, *et al.*, 1999).

O HTLV possui uma região exclusiva denominada de *pX* localizada entre o gene *env* e a região 3'LTR. Esta região *pX* contém cinco regiões de leitura aberta, conhecidas como ORF (*Open Reading Frames*) que são: x-I, x-II, x-III, x-IV e x-V (Hjelle, 1991; Hall *et al.*, 1994). As ORF x-III e x-IV codificam as proteínas regulatórias Tax e Rex, as quais são importantes na regulação da transcrição viral (Shimothono *et al.*, 1985; Hjelle, 1991; Hall *et al.*, 1994; Figura 7).

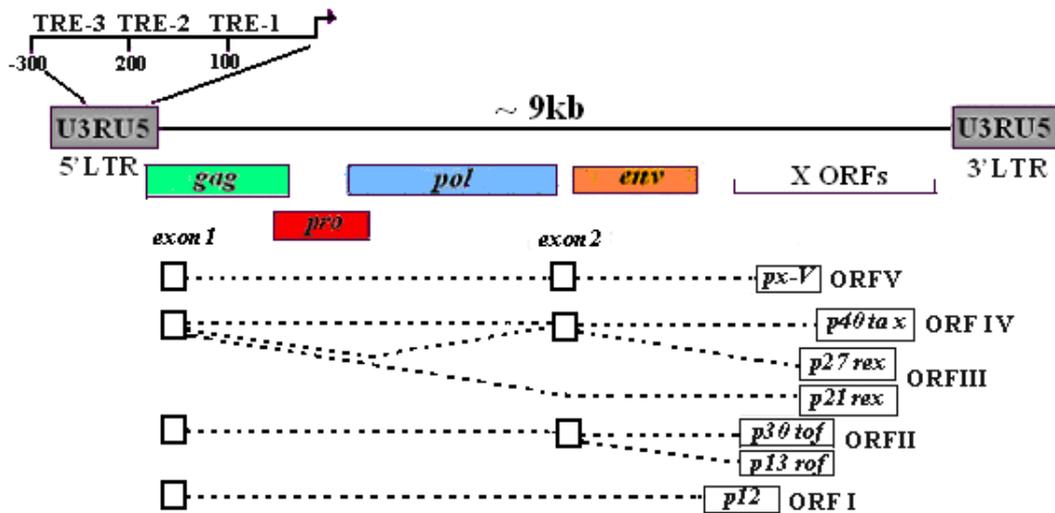


Figura 7 - Representação esquemática do genoma do HTLV (adaptado de, Feuer & Green, 2005).

A região do gene *pX*, com 160 pares de bases (pb), tem sido utilizada para subtipar genotipicamente os dois tipos de HTLV. Para isto, esta região deve ser amplificada com o objetivo de investigar a presença de um sítio de restrição (T/CGA) específico para a enzima *TaqI*, o qual está presente apenas no HTLV-2. A enzima *TaqI* reconhece essa sequência (T/CGA) e cliva o DNA nesse ponto específico, gerando fragmentos menores de 21, 53 e 85 pares de base que permite diferenciar o HTLV-1 do HTLV-2. O HTLV-1 não tem essa sequência de reconhecimento e, portanto, não sofre digestão enzimática, permanecendo com 159 pb (Feuer & Green, 2005).

1.4.2 Replicação do HTLV

A replicação do HTLV ocorre quando há a interação das glicoproteínas virais com receptores celulares, tais como o transportador da glicose GLUT-1 existente na superfície da célula alvo. A ligação é mediada pela glicoproteína do envelope gp46 que se liga ao receptor celular e pela gp21 que funde o envelope viral com a membrana da célula alvo (Hjelle, 1991). Após a adsorção, ocorre a penetração do *core* viral no citoplasma da célula, com posterior liberação do RNA viral (Tangy, 1996).

Após a penetração na célula, ocorre a liberação do RNA viral, o qual é transcrito em DNA complementar de dupla fita, pela ação da enzima TR. Este DNA recém formado penetra no núcleo onde se integra ao DNA celular, formando o DNA proviral (Hjelle, 1991; Gessain & Mahieux, 2000; Catalan-Soares *et al.*, 2001) Figura 8.

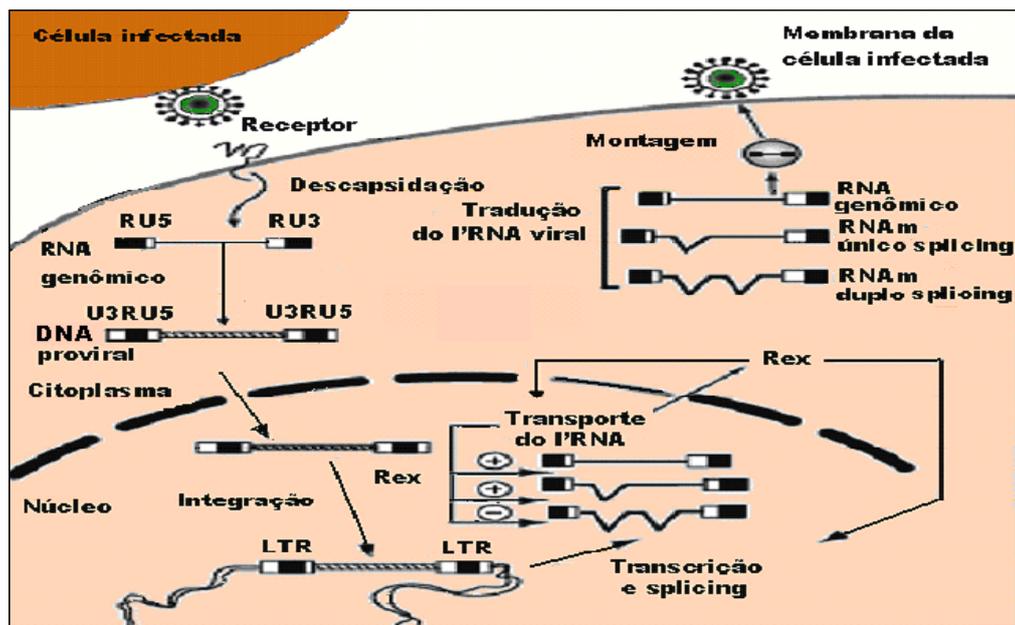


Figura 8 - Representação esquemática do ciclo de replicação do HTLV (Adaptado de Gessain & Mahieux, 2000).

A TR inicia sua função a partir da molécula de tRNA na extremidade 5', que corresponderá aos fragmentos R e U5. Posteriormente, a TR juntamente com os fragmentos transcritos R e U5, passam para a extremidade 3' para continuar a formação da fita simples de DNA. A sequência R é responsável pela transferência do DNA nascente de uma extremidade a outra. O RNA viral que serviu de molde é degradado pela RNase H. Após a remoção ocorre o início da síntese da fita complementar de DNA na região U3, dando origem ao DNA de fita dupla. Na síntese do DNA, em cada extremidade do genoma são originadas sequências duplicadas conhecidas como *LTR* compostas das regiões U3, R e U5 (White & Fenner, 1994; Coffin, 1996; Figura 8).

Após a migração do DNA viral para o núcleo, por ação da proteína Rex, ocorre a integração do mesmo com o genoma celular por meio da enzima integrase (Tangy, 1996). Uma vez integrado no DNA celular, o provírus se torna estável e inicia a transcrição em RNA utilizando o sistema celular. A RNA polimerase II é responsável pela transcrição do genoma viral e pela formação de todos os RNA mensageiros (mRNA) necessários para a síntese de proteínas virais. No entanto, para que ocorra o início da transcrição é necessário que a sequência *LTR* seja ativada e forneça sinais ao sistema de transcrição celular para que o provírus seja expresso de forma eficiente (White & Fenner, 1994; Coffin, 1996).

Após a síntese de proteínas virais no citoplasma ocorre a última fase do ciclo replicativo, que é a montagem e o brotamento das novas partículas virais. Esse último evento é resultante da interação entre a proteína da matriz com a membrana celular, processo pelo qual o vírus adquire o envelope (Coffin, 1996; Tangy, 1996).

1.4.3 Epidemiologia

1.4.3.1 Modos de transmissão

Os modos de transmissão do HTLV são semelhantes aos do HIV, ou seja, por meio da relação sexual desprotegida, da transfusão sanguínea e/ou hemoderivados, do compartilhamento de agulhas e seringas entre usuários de drogas endovenosas, por transmissão transplacentária e perinatal e por meio do aleitamento materno (Hjelle, 1991; Van Dike *et al.*, 1995; Fujino & Nagata, 2000).

A transmissão sexual é bidirecional e a maior eficiência é de homens para mulheres explicando, portanto, a maior soropositividade nestas (Proietti *et al.*, 2005). No entanto, estudo realizado por Ishak *et al.* (2003) com ameríndios da região amazônica brasileira, identificou contínua transmissão do HTLV-2 entre cônjugues, mas sem diferenças entre os gêneros.

A transmissão por via transplacentária foi confirmada pela presença de DNA proviral em amostras de sangue de cordão umbilical (Fujino & Nagata, 2000). Quanto à transmissão por meio do aleitamento materno, essa tem influência da carga viral das mães, do tempo prolongado de amamentação e da ingestão de leite contendo linfócitos infectados pela criança. O risco dessa transmissão é elevado e se renova a cada mamada (Brasil, 2004).

A transfusão sanguínea e/ou de hemoderivados é uma importante forma de disseminação do HTLV-1 em áreas endêmica e tem sido minimizada por meio de programas de triagem sorológica em bancos de sangue (Fujino & Nagata, 2000). Entre usuários de drogas injetáveis, o compartilhamento de seringas contaminadas propicia a propagação do vírus, acarretando uma alta prevalência nesta população, como mostram os estudos nos Estados Unidos (de 8% a 28%) e na Itália (de 4% a 7,3%) (Bithencourt *et al.*, 2002).

Segundo Toro *et al.* (2005), a doação de órgãos também contribui para a transmissão do HTLV, quando o doador é soropositivo e não se faz a sorologia previamente

ao transplante.

1.4.3.2 Prevalência

Estima-se que em todo o mundo 10 a 20 milhões de pessoas estão infectadas pelo HTLV-1, porém não há estimativa global em relação ao HTLV-2 (Araújo & Hall, 2004; Matsuoka, *et al.*, 2007).

O HTLV apresenta distribuição mundial, porém as prevalências variam de 0,004%, na França a 1% nos Estados Unidos da América (Fugino & Nagata, 2000). O vírus é endêmico em algumas áreas como Japão, Caribe, África, América do Sul e ilhas da Melanésia (Hjelle, 1991; Ureta-Vidal *et al.*, 1994; Hall *et al.*, 1996; Requejo, 2006).

Maehama (2004) conduziu um estudo para avaliar a taxa de prevalência do HTLV-1 em 17.207 mulheres grávidas na cidade de Okinawa (Japão), tendo sido encontrada uma taxa de prevalência de 3,9% nessa população.

A prevalência para o HTLV foi avaliada em 492 mulheres grávidas na cidade de Burkina Faso, no Oeste da África, sendo observada uma taxa de 0,5% entre essas mulheres (Collenberg *et al.*, 2006).

No Brasil, a soroprevalência entre doadores de sangue varia de 0,08% a 1,35%, dependendo do estado brasileiro e do tamanho amostral (Catalan-Soares *et al.*, 2001). O HTLV está presente em todas as regiões brasileiras com prevalência maior nos Estados da Bahia e de Pernambuco (Brasil, 2004). Em Salvador, a prevalência estimada na população de HTLV-1 é de 1,76% (Primo *et al.*, 2009). Em estudo conduzido na cidade de Rio Branco (Acre), a prevalência encontrada para o HTLV foi de 0,11% com a prevalência maior do HTLV-1 em relação ao HTLV-2 (Colin *et al.*, 2003). Em outro estudo também realizado em doadores de sangue do Ceará, Fortaleza, a prevalência encontrada para o HTLV foi de 0,66% (Souza *et al.*, 2003).

Em populações indígenas da Amazônia brasileira, uma elevada prevalência para o HTLV-2 foi encontrada entre as tribos Kayapó (32,3%), Tirió (15,4%), Arara do Laranjal (11,4%), Munduruku (8,1%) e Yamamadi (5,6%). Além disso, alta prevalência (22,2%) foi detectada em crianças menores de 10 anos, sugerindo transmissão vertical do HTLV-2 (Azevedo, 1996).

Evidência de transmissão vertical do HTLV também foi encontrada na tribo Kararaô, do grupo Kayapó. Testes sorológicos e moleculares foram realizados em 26 indivíduos, sendo que três (11,5%) deles mostraram ser positivos para o HTLV-2, o tipo mais prevalente entre as populações nativas da Amazônia brasileira. Duas das amostras positivas eram de uma mãe e de seu filho, que apresentaram 99,9% de similaridade nas seqüências nucleotídicas (Ishak *et al.*, 2001).

Barcellos *et al.* (2006) estudaram a prevalência do HTLV em 2.985 indivíduos de três centros de testagem e aconselhamento para o HIV, em Porto Alegre (RS), e a prevalência encontrada entre os participantes desse estudo foi de 2,4%.

Estudo realizado em Mato Grosso, com 116.689 grávidas, revelou a prevalência de 0,1% (153/116.689), ou seja, a ocorrência de 13,1 infecções para cada 10.000 grávidas (Fabbro *et al.*, 2008). Na cidade de Goiânia, Goiás, a prevalência desse vírus em mulheres grávidas também foi de 0,1%, para HTLV-1, não tendo sido detectado nenhum caso de infecção pelo HTLV-2 (Oliveira & Avelino, 2006).

A Amazônia brasileira é a maior área endêmica para o HTLV, principalmente para o HTLV-2 (Ishak *et al.*, 2003). Apesar de ser endêmico, sobretudo entre as populações indígenas da região Amazônica, estudos conduzidos por Ishak *et al.* (1998) e Vallinoto *et al.* (2002), demonstraram a ocorrência da infecção por HTLV-2 entre os doadores de sangue de uma área urbana da mesma região.

Laurentino *et al.* (2005) estudaram amostras de 169 pacientes infectados pelo

HIV-1 no município de Belém, Pará, onde seis amostras foram positivas para o HTLV (3,5%), sendo quatro positivas para o HTLV-2 (66,7%) e duas para o HTLV-1 (33,3%), confirmando o resultado de estudos anteriores em que a maior prevalência foi detectada para o HTLV-2 em relação ao HTLV-1, diferente do encontrado em outras áreas urbanas do Brasil.

Na cidade de Belém-Pará em um estudo realizado com 1.027 mulheres grávidas encontrou uma soroprevalência da infecção pelo HTLV, por meio do ELISA, de 0,59% (Souza, 2007).

1.4.4 Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico sorológico da infecção pelo HTLV é feito para detectar a presença de anticorpos contra o vírus, os quais estão presentes em fluidos orgânicos e são gerados a partir de uma resposta imunológica direcionada contra antígenos virais. O principal teste utilizado é o ensaio imunoenzimático do tipo ELISA, que utiliza uma combinação de quatro antígenos recombinantes para o envelope do HTLV-1, envelope do HTLV-2 e dois antígenos do capsídeo do HTLV-1 e do HTLV-2 (Hall, 1994; Brasil, 2004).

Como teste confirmatório para a infecção pelo HTLV, o mais utilizado é o Western blot, que permite reconhecer a presença de anticorpos para diferentes antígenos virais, os quais são separados eletroforeticamente, segundo seu peso molecular e carga elétrica, sendo aderidos a um suporte sólido de nitrocelulose (Hall, 1994; Brasil, 2004).

As amostras soropositivas devem ser confirmada por meio da técnica de Reação em Cadeia mediada pela Polimerase (PCR), realizada em duas etapas (Nested PCR), que visa a amplificação da região genômica *pX*. Esta amplificação do gene *pX* (159 pb) permite investigar a presença de um sítio de restrição (T/CGA) para a enzima *TaqI*, o qual está presente somente no HTLV-2, servindo portanto para confirmar o resultado obtido por sorologia e diferenciar a infecção por HTLV-1 ou HTLV-2 (Hall, 1994).

1.5 O VÍRUS DA HEPATITE B (VHB)

A hepatite viral causada pelo *Vírus da hepatite B* (VHB) é uma doença inflamatória cujo alvo primário da lesão é o hepatócito (Silva, 2003; Raimondo *et al.*, 2007). Existem diferentes formas de manifestações clínicas causadas pelo VHB, sendo que os indivíduos podem apresentar sintomatologia como febre, anorexia, astenia, emagrecimento, dor abdominal, ascite, quadros de cirrose, palidez, esplenomegalia, edema, icterícia, podendo a infecção pelo vírus também determinar quadros de cirrose, atrofia hepática, carcinoma hepático e óbito (Ferreira, 2000; Raimondo *et al.*, 2007).

Caso a infecção ocorra durante a gestação, parto ou amamentação, a chance de cronificação da infecção fica em torno de 90% e a manifestação da hepatopatia crônica é bem mais precoce, existindo, ainda, a possibilidade de aborto e natimorto em mães portadoras de HBsAg (Silva, 2003).

1.5.1 Biologia do VHB

O VHB é um vírus que apresenta genoma de DNA de dupla fita incompleta, envelopado, pertencente à família *Hepadnaviridae*, a qual é constituída por dois gêneros: o *Orthohepadnavirus*, que contém membros que infectam mamíferos, e o *Avihepadnavirus*, cujos representantes infectam aves, como patos e gansos (Seeger & Mason, 2000; ICTV, 2007). O vírus apresenta 42 nm de diâmetro e um capsídeo icosaédrico de 27 nm que recobre o DNA genômico (Silva, 2003; Figura 9).

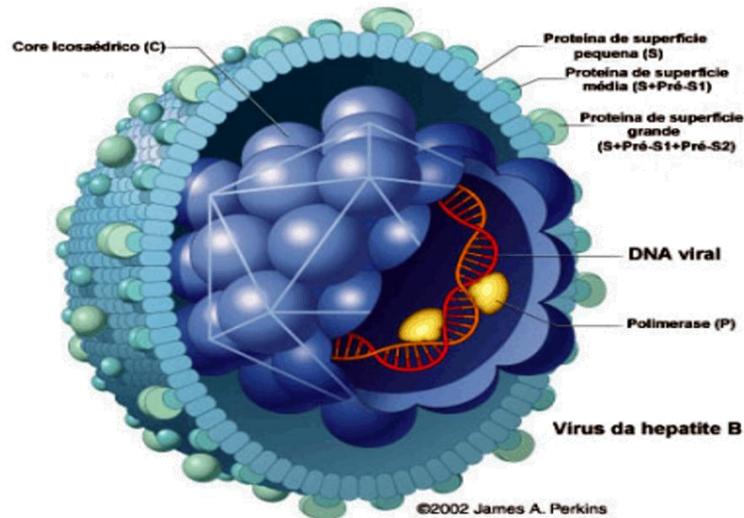


Figura 9 - Representação esquemática do VHB (Adaptado de <http://www.rit.edu/~japfaa/infectious.html>).

O genoma viral apresenta quatro ORF, representadas pelos genes: *S*, *C*, *P* e *X* (Lee, 1997). O gene *S*, que é a região do genoma que codifica as glicoproteínas de superfície, apresenta três sítios de iniciação: pré-S1, pré-S2 e S, as quais participam do processo de adsorção à membrana celular. O gene *P* codifica a DNA polimerase viral, enzima específica para duplicar o DNA, enquanto o gene *X* ainda não está com sua função totalmente esclarecida, porém, sabe-se que ele codifica uma proteína essencial no processo de replicação viral. O gene *C* codifica a proteína do capsídio viral (Seeger & Mason, 2000; Figura 10).

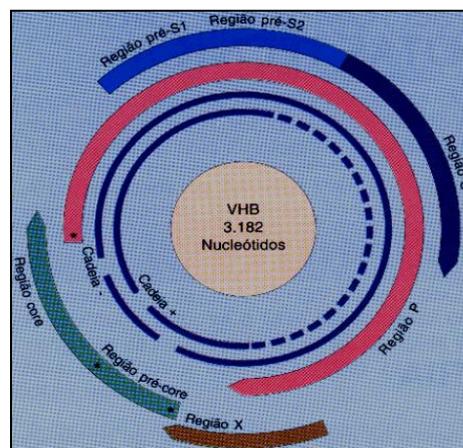


Figura 10 - Representação esquemática do genoma do VHB (<http://www.labmed.pt/NotasTecnicas08.asp>).

Deste modo quatro antígenos são produzidos pelo genoma do VHB: a) antígeno de superfície do VHB (HBsAg), b) antígeno *e* do VHB (HBeAg), c) antígeno do capsídeo do VHB (HBcAg) e d) antígeno *x* do VHB (HBxAg) (CDC, 2005).

1.5.2 Replicação do VHB

A adsorção do vírus se dá pela ligação da região pré-S1 a um receptor específico, localizado na membrana do hepatócito. Após a penetração por endocitose mediada por receptor ou por fusão de membranas, o vírus sofre desnudamento, liberando seu nucleocapsídeo no citoplasma da célula (Seeger & Mason, 2000; Santos *et al.*, 2002). O DNA viral é transportado ao núcleo da célula e, após ser completado, serve de molde para a síntese do RNA viral (Seeger & Mason 2000; Figura 11).

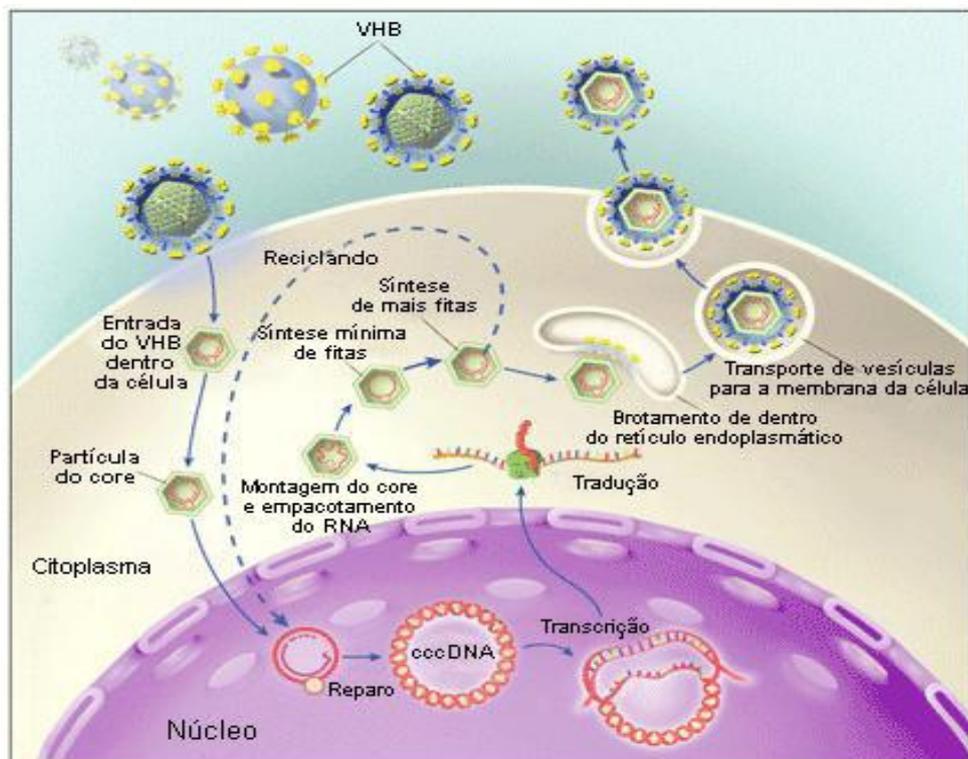


Figura 11 – Representação esquemática da replicação do VHB (Adaptado de <http://www.infekt.ch/updown/images/hbv-cycl.gif>).

No citoplasma celular ocorrerá a transcrição reversa do pré-genoma, sintetizando, assim, a cadeia longa do DNA viral, que, por meio da DNA polimerase viral, sintetiza a cadeia curta. O capsídeo viral, finalmente, será envolvido pelo envelope para formar a partícula viral completa que será liberada da célula por exocitose (Santos *et al.*, 2002).

A história natural da infecção pelo VHB compreende três fases distintas. A primeira é definida como fase de imunotolerância e ocorre após o período de transmissão perinatal, sendo caracterizada pela presença sérica do HBsAg, do HBeAg, altos títulos de HBV-DNA (10^5 cópias por mL de sangue) e a alaninaminotransferase (ALT) e normal ou discretamente elevada, mínima lesão hepática histológica e curso assintomático (Fonseca, 2003).

A segunda fase é denominada de imunoativa ou de hepatite B crônica, caracterizada pela presença do HBeAg ou do anti-HBe no soro. A referida fase ocorre após a transmissão horizontal entre crianças ou na fase adulta, podendo ocorrer também tardiamente entre pessoas que adquiriram a infecção pelo VHB durante a transmissão vertical. Esta fase é caracterizada por altos níveis da ALT, HBV-DNA e doença hepática ativa observada na biópsia (Liw, 2007; Fattovich, 2008). É considerado portador crônico do VHB a pessoa que mantém a positividade sorológica ao HBsAg por um período superior a seis meses (Seeger & Mason, 2000).

Os pacientes com hepatite B crônica podem apresentar soroconversão espontânea do HBeAg para o anti-HBe, com elevação da ALT. Após soroconversão, observa-se níveis normais da ALT e títulos do HBV-DNA menor que 1000 UI/mL (10^3 cópias/mL) (Liw, 2007).

A hepatite B crônica pode ser totalmente assintomática. O sintoma mais frequente é a astenia, variável de indivíduo para indivíduo. A astenia pode, algumas vezes,

simular uma síndrome depressiva, podendo ocorrer queixas dolorosas intermitentes no hipocôndrio direito (Fatowitch, 2003).

A infecção crônica pelo VHB é resolvida quando o paciente apresenta: história prévia de hepatite crônica, positividade sorológica para o anti-HBc total, anti-HBs positivo ou negativo, HBsAg negativo, níveis normais de ALT e HBV-DNA sérico indetectável (Fatowitch *et al.*, 2008; Raimondo *et al.*, 2007). Cerca de 90% dos recém-nascidos infectados evoluem para a cronicidade, enquanto que menos de 10% dos adultos irão desenvolver hepatite crônica (Fatowitch, 2003).

A vacinação foi estabelecida em 1992 pela OMS para ser usada em crianças com menos de um ano de idade, adolescentes, adultos em situações que favoreçam risco, além de mulheres no pré-natal, com o objetivo de prevenir e reduzir a infecção pelo HBV (CDC 2005). A Sociedade Brasileira de Pediatria recomenda para adolescentes que o façam nesta mesma posologia (Brasil, 2006).

1.5.3 Epidemiologia

1.5.3.1 Modos de Transmissão

O VHB encontra-se em concentrações variadas no sangue e no soro, enquanto que no sêmen, secreção vaginal e saliva pode estar em concentrações moderadas e nas fezes, urina, lágrima e leite humano está em baixa concentração (CDC, 2009).

O VHB é transmitido pelas vias parenteral e sexual, além do leite materno (Arraes, 2003; Alter, 2006). Verticalmente esta transmissão pode acontecer via placentária ou no momento do parto (Arraes, 2003; Silva 2003). Sabe-se que o VHB atravessa a barreira placentária podendo estabelecer o estado de tolerância das células T imaturas do timo aos antígenos HBcAg e HBeAg (Milich *et al.*, 1999).

Silva (2003) relata uma diminuição de células *Natural Killer* (NK) e linfócitos T citotóxicos durante a gravidez, o que leva a possibilidade de ocorrência de abortos e natimorto em mãe portadoras de HBsAg, justificando assim, pesquisar este antígeno em todas as grávidas.

Pode ocorrer também a transmissão parenteral, por meio de sangue e hemoderivados, por seringas contaminadas ou durante procedimento cirúrgico/odontológico, com material contaminado (Alter, 2003; Fonseca, 2003). Além disso, tem sido detectada, de forma esporádica, a transmissão entre pessoas que se expõem à acupuntura e tatuagem (Alter, 2003).

A transmissão interpessoal do vírus acontece, frequentemente, devido a uma convivência duradoura com portadores de infecção crônica (Brasil *et al.*, 2003). A transmissão horizontal do VHB para crianças, observada em áreas de alta endemicidade para o vírus apresenta, além do ambiente familiar, outros fatores relacionados às péssimas condições de moradia, infestações de artrópodes e frequentes lesões de pele (Brasil *et al.*, 2003).

1.5.3.2 Prevalência

A hepatite B é uma doença de ocorrência cosmopolita endêmica (Fattovich, 2008). A OMS estima que cerca de 2 bilhões de pessoas no mundo já tiveram contato VHB e assinala uma frequência de 350 milhões de infectados crônicos, com distribuição geográfica variando em áreas de baixa prevalência (EUA, Canadá, parte da Europa, Japão), prevalência moderada (sul da Europa, oriente médio e parte do Japão) e alta prevalência (África, China e sudeste asiático). Quanto às taxas de prevalência, estas podem variar de 0,1% a 30%, sendo as maiores taxas encontradas em países asiáticos como o Azerbaijão e a Albânia (Macalino *et al.*, 2004; Fattovich, 2008; Figura 12).

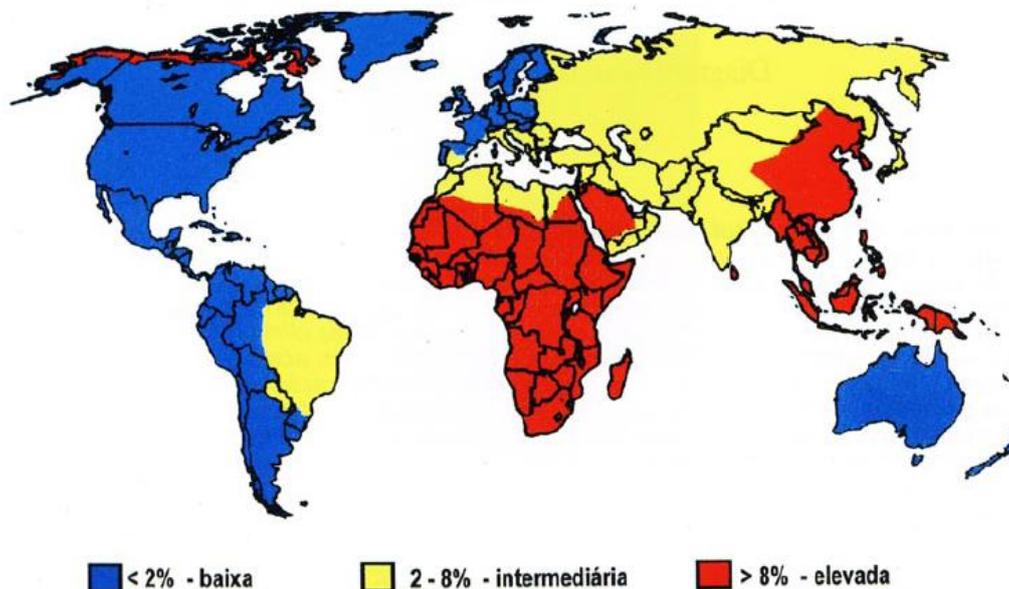


Figura 12 – Mapa da prevalência do HBsAg no mundo (Adaptado da Organização Mundial de Saúde, 2008).

A endemicidade para o VHB é baixa nos Estados Unidos da América (EUA) e a maioria das infecções ocorre entre grupos tais como: usuários de drogas injetáveis, pessoas com múltiplos parceiros e homens que fazem sexo com homens (Alter, 2006). Estima-se que nos EUA ,cerca de 800.000 a 1.400.000 de indivíduos estavam infectados cronicamente com o VHB até 2007 e que 3.000 morrem com a doença, por ano (CDC, 2008).

Em vários países africanos, na China, em parte da Ásia e no Pacífico, de 8% a 15% da população geral desenvolve infecção crônica pelo VHB. Já na maioria dos países desenvolvidos, a alta incidência da infecção aguda está entre os jovens e os adultos (OMS, 2008).

A infecção pelo VHB apresenta endemicidade variável no Brasil, podendo ter uma prevalência superior a 7% na região amazônica, no Espírito Santo e no oeste de Santa Catarina, uma prevalência entre 2% e 7% nas regiões Nordeste e Centro-Oeste e uma prevalência abaixo de 2% nas regiões Sul e Sudeste (Brasil, 2004).

A prevalência do VHB em grávidas varia de acordo com a endemicidade da infecção na região geográfica e na população estudada. Admite-se que, na região da Amazônia Ocidental, a contaminação de crianças entre zero e quatro anos de idade seja de 20%, enquanto 40% para os maiores de 5 a 9 anos e mais de 80% para os maiores de 20 anos (Arraes *et. al.*, 2003). Bensabath & Leão (2003) observaram que na Região Norte, uma taxa significativamente mais elevada é observada nos grupos socioeconômicos menos favorecidos e entre adolescentes.

Embora a diminuição da hepatite esteja acontecendo em países nos quais as condições de vacinação têm sido implementadas, ainda persistem índices altos de portadores crônicos, sobretudo onde as condições sanitárias e sócioeconômicas são precárias (Brasil, 2008). Entre os Estados da região norte, o número de notificações da hepatite B, em 2005, por ordem decrescente foi de 263 casos em Rondônia, seguido de 155 no Tocantins, 122 no Pará, 81 no Amazonas, 74 no Acre, 35 no Amapá e 30 em Roraima. No mesmo ano, em toda a região registraram-se 51 óbitos, sendo 21 no Amazonas (Brasil, 2008).

1.5.4 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial da infecção pelo VHB baseia-se na detecção de marcadores sorológicos, tais como anticorpos e antígenos (Seow, 1999). A hepatite B é acompanhada pelo aparecimento dos marcadores sorológicos e o diagnóstico do VHB geralmente é feito pela pesquisa dos antígenos HBsAg e HBeAg e de anticorpos específicos: anti-HBs, anti-HBc e anti-HBe presentes no soro do paciente sendo utilizado o teste de ensaio imunoenzimático (ELISA) (Tavares Neto, 2004). No entanto, o DNA genômico viral pode ser detectado por técnicas de biologia molecular (Krajden *et al.*, 2005).

Na fase aguda da infecção pelo VHB, o HBsAg é o primeiro marcador a aparecer no soro, sendo a sua detecção observada entre um a cinco meses após o contato,

podendo permanecer por 30 até 180 dias, geralmente em altas concentrações (Ferreira, 2000). Frequentemente, ocorre um período curto de, aproximadamente, quatro semanas, denominado de janela imunológica, no qual o HBsAg e o anti-HBs não são detectáveis. Após algumas semanas, os anticorpos anti-HBc passam a ser detectados, indicando resolução da infecção na maioria dos casos (Tavares Neto, 2004).

A presença do anticorpo anti-HBc IgM no soro indica infecção recente e sua detecção permanece de dois a seis meses a partir do início do quadro clínico. Em seqüência, dá-se a detecção do anti-HBc IgG o qual permanecerá pelo resto da vida (Banker, 2003).

O HBeAg surge na fase inicial do quadro clínico, dias antes da doença aguda, desaparecendo em poucas semanas, dando lugar ao aparecimento do anti-HBe. Constitui um marcador indicativo de alta replicação viral. Sua persistência, além de três meses no sangue, pode indicar evolução para a cronicidade (Ferreira, 2000; Figura 13).

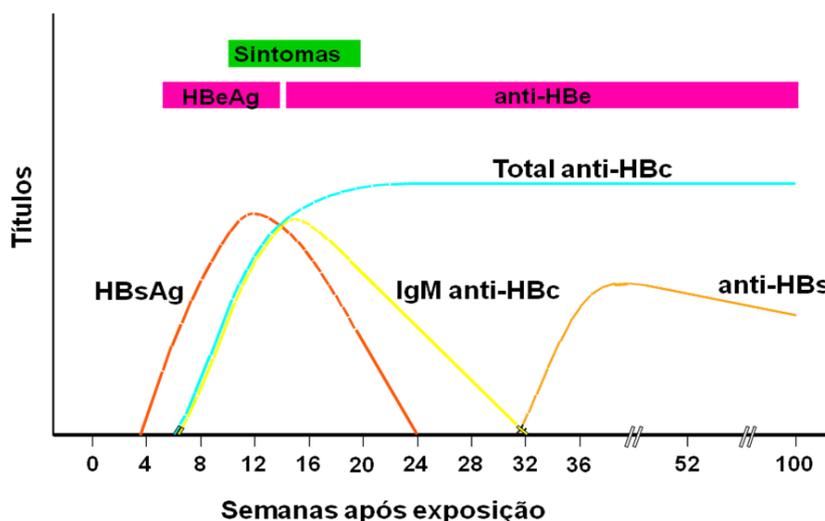


Figura 13 – Perfil sorológico da hepatite B aguda (Adaptado de CDC, 2008).

A presença isolada do anti-HBs indica a presença de imunidade adquirida ou por vacinação ou por infecção natural. Algumas vezes, pode significar uma doença crônica e, por isso, deve se fazer o acompanhamento do indivíduo durante um período de seis meses.

Nos casos crônicos, é importante a detecção do HBeAg que pode estar presente embora, com o passar do tempo, sua expressão passe a ser negativa e com anti-HBc e anti-HBe positivos (Ferreira, 2000; Tavares Neto, 2004; Figura 14).

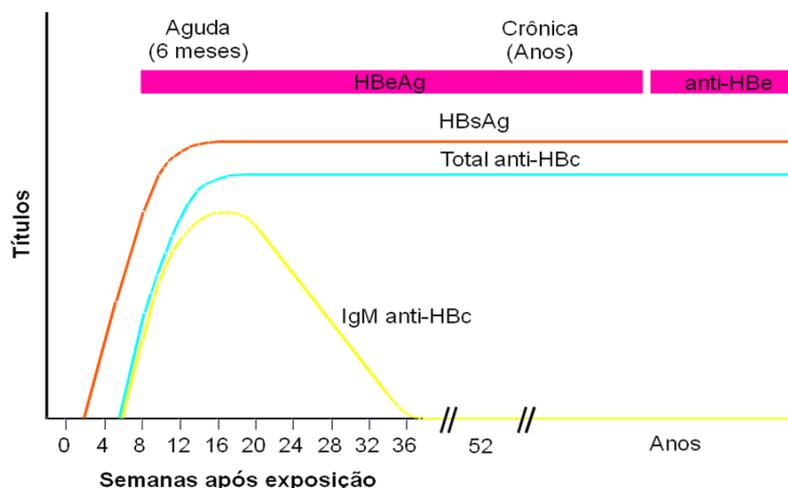


Figura 14 - Perfil sorológico da hepatite B crônica (Adaptado de CDC, 2009).

Na fase crônica a utilização de técnicas de biologia molecular faz-se necessário para avaliação da replicação viral, da quantificação do DNA genômico e o monitoramento do curso clínico da doença bem como o aparecimento de variantes virais resistentes à terapia antiviral (Barone *et al.*, 2003).

Outras provas de função hepáticas são importantes e utilizadas com o objetivo de avaliar a evolução do pacientes com disfunção hepática, além de detectar a presença de doença hepática, avaliar a extensão do dano hepático e o seguimento do tratamento (Saraceni, 2001). Entre os exames mais solicitados para avaliar a atividade das enzimas séricas, durante a infecção pelo VHB, estão as aminotransferase ou transaminases aspartato aminotransferase (AST/ALT), ALT, bilirrubinas, fosfatase alcalina e gama-glutamilttransferase.

As transaminases são as mais utilizadas no diagnóstico das hepatites virais, por atingirem picos elevados no início dos sintomas, além de serem marcadores sensíveis de

lesões do fígado (Saraceni, 2001). O valor de referência das transaminases na presença de infecção pelo VHB é duas vezes o limite superior da normalidade (Fattovich *et al.*, 2008).

1.6 O CITOMEGALOVIRUS HUMANO (CMV)

O CMV pode causar infecções em adultos e crianças que são, na maioria das vezes, assintomática (Ferreira & Silveira, 2004). Na infecção congênita, o quadro clínico pode se apresentar com atraso do desenvolvimento, microcefalia, hipotonia com sonolência e surdez neuro-sensorial (Landolfo *et al.*, 2003). Nos lactentes infectados, os sinais clínicos mais frequentes são: icterícia, hepatoesplenomegalia, dificuldade na sucção, espasticidade, hemiparesia ou convulsões. Há também manifestações de alterações oculares, como: corio-retinite, atrofia óptica, retinite pigmentar e estrabismo (Brown & Abernathy, 1998; Landolfo *et al.*, 2003).

1.6.1 Biologia do CMV

O CMV é classificado como membro da família *Herpesviridae*, subfamília *Betaherpesvirinae*, gênero *Cytomegalovirus* (ICTV, 2008).

A partícula viral possui de 150 a 200 nm de diâmetro, com um capsídeo icosaédrico formado por 162 capsômeros (Compton, 1993). O CMV é formado por um envelope externo, um capsídeo e o tegumento ou matriz, que é o espaço amorfo que se localiza entre o envelope e o capsídeo (Landolfo *et al.*, 2003). Este é formado pelas proteínas virais pUL46 (menor) e pUL48,5 (maior) codificadas pelos genes *UL85* e *UL86*, respectivamente (Landolfo *et al.*, 2003).

O envelope externo é derivado da membrana citoplasmática e nuclear da célula hospedeira e em sua superfície encontram-se três glicoproteínas virais: gCI, gCII e gCIII (Gretch *et al.*, 1988; Figura 15).

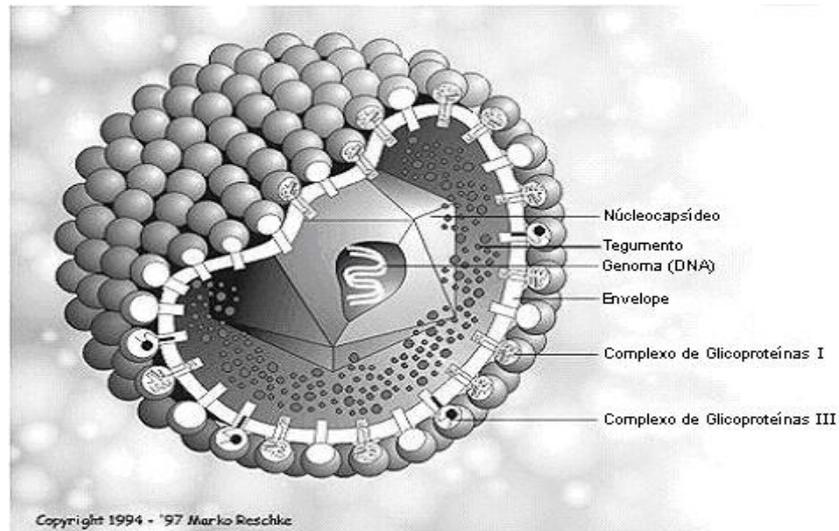


Figura 15 - Representação esquemática da morfologia do CMV (<http://www.biografix.de/biografix/english/images.jpg>).

O genoma do CMV é o maior genoma dos herpesvírus. Tem um alto conteúdo de Guanina+Citosina e é formado por uma região longa (UL) e uma região curta (US), sendo o genoma flanqueado por seqüências repetidas (Gretch *et al.*, 1988). Visto que cada região longa e curta pode ser orientada em outra direção, quatro isômeros do genoma são produzidos na progênie viral (estrutura de classe E). A inversão das regiões UL e US são mediados pelas seqüências repetidas (*a*, *b*, *c*) na parte terminal do genoma e os elementos repetidos invertidos estão localizados na junção UL-US (*a'*, *b'*, *c'*) (Gretch *et al.*, 1988; Landolfo *et al.*, 2003; Figura 16).

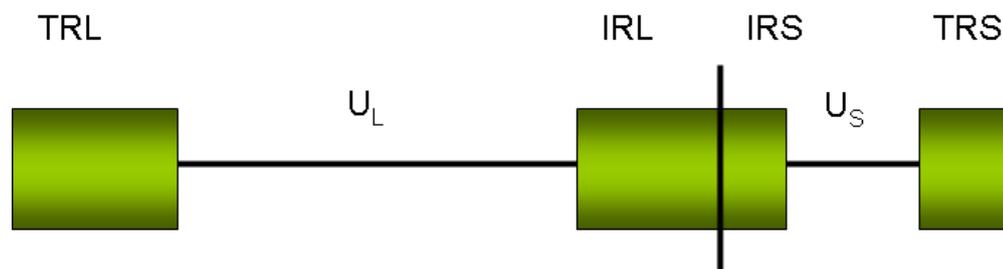


Figura 16 - Mapa genômico do CMV (Adaptado de Legnizamon & Reece, 1997)

1.6.2 Replicação do CMV

O CMV se liga à superfície celular por uma ligação de baixa afinidade da gB (gpUL55) ao proteoglicano heparan sulfato (Compton *et al.*, 1993). Após esse contato, há a fusão do envelope viral com a membrana plasmática, a qual é seguida pela entrada do capsídeo e proteínas do tegumento no citoplasma da célula hospedeira, ocorrendo a rápida movimentação deles para o núcleo (Mocarski & Courcelle, 2001; Figura 17).

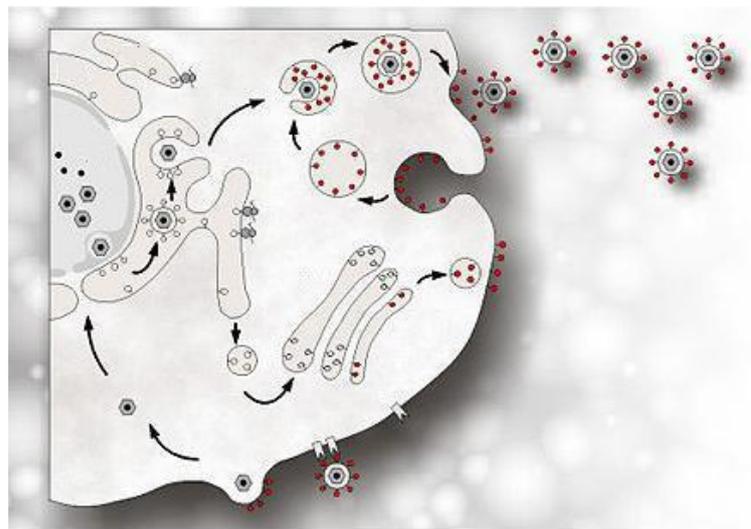


Figura 17 - Esquema da replicação do CMV (Adaptado de http://www.biografix.de/biografix/english/images/2/p_2b2b.jpg).

Após a chegada do DNA viral ao núcleo, os genes são transcritos pela RNA polimerase II celular e se inicia o processo de replicação. A formação do capsídeo viral e a inclusão do DNA viral ocorrem no núcleo da célula alvo (Simmem *et al.*, 2001). Após a saída do núcleo, o capsídeo é transportado para a superfície celular onde a partícula viral adquire seu envelope definitivo (Simmem *et al.*, 2001).

1.6.3 Epidemiologia

1.6.3.1 Modos de transmissão

O CMV é excretado em fluidos corpóreos tais como: urina, saliva, lágrimas, sêmen, sangue, secreções respiratórias, leite materno e secreções cervicais, sendo eliminado por meses a anos (Brown & Abernathy, 1998). A infecção é geralmente branda ou subclínica e sem suspeitar de qualquer infecção o portador é capaz de disseminar o vírus verticalmente e horizontalmente (Landolfo *et al.*, 2003). No período de latência, o CMV se localiza nos túbulos renais, endométrio, glândulas salivares e nos leucócitos (Gaytant, 2002; Munro *et al.*, 2005).

A transmissão do CMV pode acontecer por meio da via sexual e da via parenteral, podendo, ainda, ser transmitido em órgãos e tecidos transplantados (Brown & Abernathy, 1998; Miura *et al.*, 2006).

A transmissão vertical ocorre em qualquer período da gravidez ou durante a passagem pelo canal de parto, durante o parto normal (Brown & Abernathy, 1998). O mais provável é que os leucócitos maternos infectados atravessam a barreira placentária e alcançam a circulação fetal via cordão umbilical (Munro *et al.*, 2005). Outro possível mecanismo de transmissão de mãe para filho envolve a capacidade de o vírus infectar os tecidos da placenta e as células do líquido amniótico. Esses amniócitos são então ingeridos pelo feto, o qual será infectado (Legnizamon & Reece, 1997; Munro *et al.*, 2005). A infecção pelo CMV também pode ser adquirida através do aleitamento materno ou pelo contato pessoa a pessoa depois do parto (Landolfo *et al.*, 2003).

A infecção materna pode ser de origem primária, de uma reativação ou re-infecção de mães soropositivas (Brown & Abernathy, 1998). A presença de anticorpos maternos para o CMV antes da concepção não previne a transmissão do vírus para o feto (Brown & Abernathy, 1998).

A taxa de transmissão vertical do CMV, quando a infecção materna é primária, varia de 40 a 50% e quando a infecção materna é recorrente, essa taxa de transmissão varia de 0,5 a 2% (Yamamoto *et al.*, 1999).

A transfusão sanguínea tem sido associada com um risco de transmissão do CMV de, aproximadamente, 2 a 3% na população em geral (Platcher *et al.*, 1996 ; Brown & Abernathy, 1998).

O CMV estabelece latência nas células sanguíneas de doadores saudáveis e é reativado após a transfusão quando as células encontram estímulo alógeno. A natureza dos leucócitos transportado do vírus latente é desconhecida, embora a atenção esteja começando cada vez mais a ser focada nos monócitos/macrófagos (Platcher *et al.*, 1996; Soderberg-Naucler *et al.*, 1997).

1.6.3.2 Prevalência

A soroprevalência do CMV varia de acordo com a região geográfica e a situação socioeconômica das populações. Em países com elevado poder socioeconômico, a incidência em recém nascido é baixa (Gaytan *et al.*, 2005).

Nos EUA e no Reino Unido, o CMV infecta 50 a 85% dos adultos que estão em torno de 40 anos de idade e pouco mais de 20% das crianças são soropositivas para o vírus (Ornoy & Diav-Citrin, 2006). Em certas populações na Ásia e na África, a prevalência para o CMV pode chegar a 100% na maioria de crianças em idade pré-escolar (Ornoy & Diav-Citrin, 2006).

A citomegalovirose congênita ocupa lugar de destaque no cenário mundial acometendo de 0,2 a 2,2% dos recém nascidos (Couto *et al.*, 2003; Miura *et al.*, 2006), enquanto que em alguns países do primeiro mundo a incidência pode ser muito baixa, em torno de 0,9 por 1000 recém nascidos (Gaytant *et al.*, 2005).

Um estudo realizado em seis diferentes regiões do mundo, incluindo 43.000 recém-nascidos e mães com soropositividade de 80 a 100%, mostrou taxas de prevalência de infecção congênita por CMV variando de 1,2 a 2,2% (Gaytant *et al.*, 2002).

No Brasil, a incidência da infecção pelo CMV em recém nascidos varia de 0,38% a 6,8%, enquanto que a prevalência de anticorpos IgG anti-CMV, em grávidas varia de 66,5 a 92% (Panuti *et al.*, 1985; Miura *et al.*, 2006). Em Minas Gerais, a prevalência em recém nascidos demonstrada através da urina com a técnica do PCR foi de 6,8% (Santos *et al.*, 2000).

1.6.4 Diagnóstico Laboratorial

A identificação de infecção por CMV é feita por testes laboratoriais que permitem a detecção de anticorpos. Estes testes são de hemaglutinação indireta, imunofluorescência e ELISA (Brown & Abernathy, 1998).

Para o diagnóstico da infecção pelo CMV na gravidez pode ser utilizado o teste de avidéz, que significa afinidade do anticorpo pelo antígeno, sendo que a presença de baixa avidéz (<30%) caracteriza infecção recente (<3 meses) e alta avidéz (>50%), infecção antiga. Dessa forma, ele deve ser aplicado quando existe a suspeita de infecção no início da gestação (Gerna & Revello 2002).

Na infecção congênita sintomática por CMV, o método convencional para a detecção do agente consiste no isolamento viral a partir de urina em cultura de fibroblastos humanos (Mussi-Pinhata & Yahamamoto, 1999). Outro método alternativo adotado é a PCR, que utiliza urina ou outras amostras clínicas (Landolfo *et al.*, 2003).

As probabilidades de impacto das infecções ou coinfeções na gestação e as repercussões, até mesmo irreversíveis, podem comprometer o binômio mãe-filho. Baseando-se neste contexto, visando o paradigma da saúde social para a coletividade, buscou-se no presente estudo descrever as características epidemiológicas das grávidas adolescentes,

realizando um rastreamento soropidemiológico, associando resultados dos dados sorológicos e as informações obtidas no inquérito epidemiológico desta população que representa 30% do total de parturientes do Brasil (Brasil, 2008). Além disso, visa-se dar subsídios a futuros modelos de intervenções mais efetivas, que não sejam baseados exclusivamente na notificação de casos, além de cooperar com um plano nacional de redução da transmissão vertical (UNAIDS, 2007).

1.7 OBJETIVOS

1.7.1 Objetivo Geral

Descrever a soropidemiologia dos agentes virais pelo VHB, CMV, HIV e HTLV e o perfil sociodemográfico e epidemiológico de adolescentes grávidas atendidas na Unidade de Referência Materno Infantil Adolescente (UREMIA), do Sistema Único de Saúde - Belém, Pará.

1.7.2 Objetivos Específicos

- Descrever a soroprevalência das infecções pelo VHB, CMV, HIV e HTLV nas adolescentes grávidas do Pará;
- Descrever os tipos do HTLV circulante, assim como os subtipos do HIV, no grupo examinado;
- Identificar a cobertura vacinal contra oVHB;
- Descrever o perfil sociodemografico das adolescentes grávidas, e os principais fatores de risco para a aquisição das infecções estudadas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 CASUÍSTICA

O grupo amostral que participou do presente trabalho foi constituída de adolescentes grávidas, na faixa etária de 12 a 18 anos, matriculadas e realizando seu pré-natal na Unidade de Referência Especializada Materno-Infantil Adolescência (UREMIA), subordinada à Secretaria Executiva de Saúde Pública do Estado do Pará (SESPA) e que funciona desde 1990. No presente estudo, as grávidas adolescentes, matriculadas e atendidas no setor de pré-natal da UREMIA foram convidadas a participar do trabalho, durante as consultas mensais, como também durante as atividades educativas realizadas para estas jovens grávidas e seus familiares a respeito de temas que envolvem a gravidez.

A unidade de saúde é localizada numa área central do município de Belém e presta serviços de referência direcionados exclusivamente a crianças e adolescentes, de ambos os sexos, e a mulheres adultas da região metropolitana de Belém (RMB) e de todo o interior do Estado, por meio dos programas que incluem: adolescentes, recém-nascido de risco e desnutrido, programa aleitamento materno exclusivo (Proame), climatério, planejamento familiar, gravidez de risco, atendimento a crianças e adolescentes soropositivas para o HIV, dentre outros. Os diversos atendimentos contam com equipes de caráter multiprofissional, que atendem de segunda a sexta-feira, em dois períodos, com atividades que incluem consultas, palestras educativas, oficinas, exercícios de reabilitação e realização de exames laboratoriais.

As grávidas adolescentes e seus responsáveis foram esclarecidos de maneira simples e clara sobre os objetivos da presente pesquisa e, uma vez dada a anuência de participação na pesquisa por parte das adolescentes e/ou de seus responsáveis, elas assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE, Anexo 1) e, em seguida, responderam a um questionário epidemiológico por meio de uma entrevista estruturada confidencial (Anexo 2), realizada pela equipe previamente treinada e, somente após os procedimentos

acima descritos, foi coletada a amostra de sangue.

Em virtude das adolescentes apresentarem habilidades variadas de entendimento, foi fundamental validar o modelo do questionário, por meio de um teste inicial com 20 adolescentes grávidas, entretanto não houve necessidade de reajustes no questionário.

Os critérios considerados para a inclusão das adolescentes grávidas na presente pesquisa foram:

- 1) Pertencer à faixa etária de 12 a 18 anos e estarem em qualquer mês de gestação;
- 2) Acolher a autonomia da adolescente em participar do projeto;
- 3) Aprovarem em responder ao questionário epidemiológico e terem assinado o termo de consentimento livre e esclarecido;
- 4) Pertencer a qualquer origem, raça, cor e religião;
- 5) Estarem matriculadas e em assistência pré-natal na UREMIA.

Os critérios de exclusão na pesquisa foram:

- 1) A não concordância do responsável com maioridade legal,
- 2) A recusa da paciente em participar da pesquisa e a solicitação espontânea da paciente para se retirar da pesquisa.
- 3) Gestantes com marcadores sorológicos previamente conhecidos para HIV, HTLV, CMV e VHB.

2.1.1 Tamanho amostral

A determinação do tamanho amostral foi baseada na estimativa da prevalência de infecções virais na população em geral, utilizando o programa BioEstat 5.0 (Ayres *et al.*, 2007). Portanto, considerou-se uma prevalência esperada de 0,35% para o HIV (para uma

prevalência geral da população de 0,42%), 90% para o CMV (85% de prevalência geral da população), 10% para o VHB (15% de prevalência geral da população), 0,85% para o HTLV (0,9% de prevalência geral da população), o que resultou em um número amostral total de 301 grávidas. O erro amostral (ϵ) assumido no presente cálculo foi de 5% e estipulado um poder de teste de 80%. usado o Bioestat

No entanto, após convit, para participar do estudo, 324 adolescentes grávidas manifestaram interesse em tomar parte do mesmo ficando assim, 324 o numero amostral do presente estudo. No período de agosto de 2009 a novembro de 2009, foi realizada toda a colheita de 10 mL de sangue de cada participante, utilizando-se o sistema de colheita com seringas hipodérmicas e descartáveis (BD, Plastipak – Paraná, Brasil), sendo que o sangue foi imediatamente transferido para dois tubos contendo EDTA como anticoagulante.

Após a coleta, as amostras foram transportadas no mesmo dia até o Laboratório de Virologia, do Instituto de Ciências Biológicas (ICB), da Universidade Federal do Pará (UFPA), para serem processadas. O plasma e as porção celular foram separados por centrifugação a 4.000 rotações por minuto (rpm) durante 10 minutos e, após serem transferidas para um tubo do tipo eppendorf, foram estocados e congeladas à -20°C até o momento de sua utilização.

2.2 MÉTODOS PARA A DETECÇÃO DE ANTICORPOS E ANTÍGENOS

As amostras foram testadas no Laboratório da Virologia do I.C.B. da UFPA para a detecção de anticorpos contra o HIV, o HTLV-1/2, o VHB e o CMV e obedeceram aos protocolos do fabricante, assim como as normas do controle de qualidade e das boas práticas em laboratório.

2.2.1 Detecção de anticorpo para o HIV

Foi utilizado um ensaio imunoenzimático do tipo ELISA (DiaSorin, anti-HIV tetra Elisa, Biotest, Alemanha), que inclui antígenos recombinantes, sendo um do envelope e dois antígenos do capsídeo viral.

A amostra reativa foi encaminhada ao Laboratório Central de Saúde Pública do Estado do Pará (LACEN-PA) para fins diagnóstico e obedeceu a portaria (Portaria nº 59/GM/MS, de 28 de janeiro de 2003).

O LACEN-PA é o local de referência para o diagnóstico do HIV no Estado do Pará. Neste, a amostra soropositiva foi novamente submetida à triagem sorológica para detecção de anticorpos anti-HIV com o método imunoenzimático de micropartículas (AxSYM-System-Abbott, Alemanha), seguida da confirmação por meio de imunofluorescência indireta (IFI) (Bio-Manguinhos Fiocruz, Brasil).

2.2.2 Detecção de anticorpo para o HTLV-1/2

A presença de anticorpos anti-HTLV-1/2 foi pesquisada por meio de um teste imunoenzimático do tipo ELISA (*Test System*, Ortho Diagnostic Systems Inc, USA), que inclui um combinado de quatro antígenos recombinantes: antígeno do envelope do HTLV-1, antígeno do envelope de HTLV-2 e dois antígenos do capsídeo viral do HTLV-1 e do HTLV-2. As amostras sororreagentes para o HTLV foram posteriormente submetidas ao teste confirmatório no Laboratório da Virologia do ICB da UFPA, por meio da técnica da PCR.

2.2.3 Detecção de anticorpos e antígenos VHB

Foram efetuadas determinações de HBsAg, anti-HBs e anti-HBc total em amostras de todas as participantes. Aquelas que apresentaram reatividade no anti-HBc total foram testadas para a presença do anti-HBc IgM, usando o ensaio imunoenzimático do tipo

ELISA (Diasorin, Itália).

2.2.4 Detecção de anticorpos para CMV

A detecção de IgM e IgG para o CMV foi realizada por meio de teste imunoenzimático do tipo ELISA (Diasorin, Itália).

2.3 MÉTODOS DE BIOLOGIA MOLECULAR PARA CARACTERIZAÇÃO DO HTLV E DO HIV

2.3.1 Extração de DNA

A extração de DNA foi realizada a partir da porção celular das amostras soropositivo para o HTLV e para o HIV. Para tanto foram seguidas às instruções do fabricante contidas que é comercializado pela *Puregene* (Gentra Systems, Inc., EUA). Este processo incluiu as etapas de lise celular, precipitação e hidratação do DNA.

2.3.1.1 Lise celular

O protocolo preconizado de lise celular adotou as seguintes etapas:

- 1) Adicionar 300 µL de sangue total a um tubo de eppendorf de 1,5 mL, contendo 900 µl de solução de lise RBC. Inverteu se para misturar e foi incubada a 10 minutos à temperatura ambiente (25°C).
- 2) Centrifugar por 20 minutos, entre 13.000 a 16.000 rpm.
- 3) Remover o sobrenadante com uma pipeta, deixando ao fundo do tubo, o sedimento de leucócitos com resíduos de 10 µl do líquido.
- 4) Agitar vigorosamente, em agitador mecânico (vórtex), para ressuspender o sedimento de células e facilitar a lise celular na etapa seguinte.
- 5) Adicionar 300 µL de solução de lise celular e homogeneizado por pipetagem.

- 6) Submeter a necessária incubação a 37°C para visualizar aglomerados no sedimento.

2.3.1.2 Precipitação de proteínas

O protocolo de precipitação de proteínas adotou as seguintes etapas:

- 1) Permitir a amostra atingir a temperatura ambiente (25°C).
- 2) Adicionar 100 µL de solução de precipitação protéica ao lisado celular.
- 3) Agitar vigorosamente em agitador mecânico, em alta velocidade, por 20 segundos, objetivando uma total homogeneização.
- 4) Centrifugar entre 13.000 e 16.000 rpm, por 3 minutos, para que as proteínas precipitadas formassem um sedimento marrom escuro no fundo do tubo.

2.3.1.3 Precipitação do DNA

O protocolo de precipitação do DNA obedeceu as etapas a seguir:

- 1) Transferir o sobrenadante que contém o DNA (deixar o precipitado no tubo) para um novo tubo de 1,5 mL, contendo 300 µL, de isopropanol a 100%.
- 2) Misturar a amostra, por inversão suave (cerca de 50 vezes), até formar um precipitado visível de DNA.
- 3) Centrifugar entre 13.000 e 16.000 rpm por 1 minuto, para que o DNA forme um precipitado branco visível a olho nu.
- 4) Desprezar o sobrenadante e secar o excesso com papel absorvente.
- 5) Adicionar 300 µL de etanol 70% e inverter o tubo, várias vezes, para lavar o sedimento de DNA.
- 6) Centrifugar entre 13.000 e 16.000 rpm por 1 minuto e desprezar o etanol, cuidadosamente, evitando a perda do DNA.
- 7) Secar o excesso em papel absorvente e deixar a amostra secar ao ar, por 15 minutos.

2.3.1.4 Hidratação do DNA

O protocolo de hidratação do DNA adotou as etapas a seguir:

- 1) Adicionar 100 μL de solução de hidratação de DNA (concentração final de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$).
- 2) Deixar o DNA hidratando durante a noite (entre 12 e 16 horas), à temperatura ambiente.
- 3) Estocar entre 2 e 8°C. Posteriormente, alíquotas de DNA serão usadas diretamente na reação de amplificação descrita a seguir.

2.3.2 Reação em Cadeia Mediada pela Polimerase (PCR)

2.3.2.1 Amplificação do gene *pX* e RFLP do HTLV

A região de 160 pb do gene *pX* foi amplificada com objetivo de investigar a presença de um sítio de restrição (T/CGA) para enzima *Taq1*, o qual está presente apenas no HTLV-2, servindo como critério de exclusão à infecção pelo HTLV-1. As reações de amplificação foram realizadas, primeiramente, em um volume de 50 μL , contendo 500 ng de DNA extraído, 200 μM de cada dNTP (Invitrogen, EUA), 20 pmol/ μL de cada iniciador, KCl 50 mM, MgCl_2 2,0 mM, Tris-HCl pH8,3 10 mM e 0,5 U de Taq DNA polimerase. As amplificações foram realizadas em termociclador da *Perkin Elmer Cetus Corp* (Norwalk CT, EUA). Em cada reação de amplificação, após a desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, serão efetuados 35 ciclos de 40 segundos a 94°C, 30 segundos à 51,6°C e 1 minuto à 72°C. Os ciclos foram seguidos por extensão final de 10 minutos à 72°C.

Na segunda etapa da amplificação (Nested PCR) foi utilizado 5 μL do produto da amplificação anterior, considerando as mesmas condições de reação. Nessas reações foram utilizados pares de iniciadores internos e externos à região gênica, cujas sequências são descritas no Quadro 1.

Quadro 1 – Iniciadores utilizados na amplificação da região *pX*. do HTLV em amostras de adolescentes grávidas de Belém, Pará.

INICIADORES	SEQUENCIA 5'-3'	ETAPA
TR01	5'-TAACTCCCTCTCAGAAGCAGGAGCCG-3'	PCR
TR02	5'-CCATTCTGGCTTTAATTTTACTGGTA-3'	PCR
TR103L	5'-CCTCAATCACTCTTTGGCAAC-3'	NESTED
TR104	5'-AAAATTTAAAGTGCAGCCAAT-3'	NESTED

A análise de RFLP do produto do gene *pX* (159 pb) foi realizada misturando-se 6,0 µL do produto amplificado, 7,0 µL de H₂O 1,5 µL de tampão E (Promega, Madison WI, EUA) e 0,5 µL da enzima de restrição *TaqI* (10 U/µL, Promega, Madison WI, EUA), com posterior incubação à 65°C por 5 horas. A presença do sítio de restrição (T/CGA) pode gerar dois fragmentos (85 pb e 53 pb), presente no HTLV-2 e ausente no HTLV-1.

2.3.2.2 Amplificação do gene *env* e RFLP

Foi realizada a amplificação de uma região de 630pb do gene *env* para identificar e diferenciar os subtipos HTLV-2a, HTLV-2c e HTLV-2b. Na reação foi utilizado um volume total 50 µL, contendo 500 ng de DNA extraído, 125 µM de cada dNTP (*Amresco*®, USA), 20 pmol/µL de cada iniciador, MgCl₂ 3,0 mM, tampão de PCR 1x (KCl 50 mM, Tris-HCl pH 8,3 10 mM) e 0,5 U de *Taq* DNA polimerase (5 U/µL, *Invitrogen*, *Brasil*). O par de iniciadores envolvidos nessa reação foram o E2 (5'-CTGCAGAAGCTA-GCAGGTCTA-3') e o E5 (5'-AGCCAAGTGTCCCTTCG-ACTA-3'). No segundo passo da amplificação (*Nested* PCR) foram utilizados 5 µL do produto da amplificação anterior nas mesmas condições. Os pares de iniciadores internos e externos da região gênica utilizados

foram E1 (5'-CTGCAACAACCTCCATTATCCT-3') e E2 (5'-CTGCAGAAGCTA-GCAGGTCTA-3').

Em cada reação de amplificação, após desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, foram realizados 35 ciclos de 40 segundos à 94°C (desnaturação), 30 segundos à 53°C (hibridização) e 40 segundos à 72°C (síntese). Os 35 ciclos foram seguidos por uma extensão final de 10 minutos à 72°C. Após obter o produto dessa análise, este segue para ser submetido à digestão enzimática a partir de uma mistura de 5,0 µL do material amplificado, 7,3 µL de H₂O, 2,0 µL de tampão D, 0,2 µL de BSA (*Promega, Madison WI, USA*) e 0,5 µL da enzima de restrição *XhoI* (10 U/µL, *Promega, Madison, WI, USA*), com posterior incubação a 37°C por 12 horas. A digestão enzimática permite diferenciar os subtipos pois o produto amplificado HTLV-2b não apresenta o sítio de clivagem (C/TCGAG), observando-se um único fragmento de 630 pb, enquanto que, o HTLV-2a e o HTLV-2c possuem o sítio de restrição que gera dois fragmentos, um de 452 pb e outro de 178 pb (Quadro 2).

Quadro 2 - Perfil do Polimorfismo por Endonucleases de Restrição (RFLP) das regiões genômicas amplificadas.

REGIÃO	ENDONUCLEASE	TIPO/SUBTIPO	FRAGMENTOS
<i>pX</i>	Taq1	HTLV-1 HTLV-2	159 pb 53 pb, 85 pb e 21 pb
<i>Env</i>	Xho1	HTLV-2b HTLV-2a/2c	630 pb 178 pb e 452 pb

2.3.2.3 Amplificação do Gene *pro* do HIV-1

As reações de amplificação foram realizadas, primeiramente, em um volume de 50 µL, contendo 400 ng de DNA extraído, 225 µM de cada dNTP, 250 ng de cada iniciador, tampão PCR 1X (KCl 50mM, Tris-HCl pH 8,3 10 mM), MgCl₂ 2,0 mM, e 0,5 U de *Taq* DNA

polimerase (Invitrogen USA). Na segunda etapa da amplificação (*Nested PCR*) foram utilizados 5 µL do produto da amplificação anterior, considerando as mesmas condições de reação (Janini *et al.*, 1996; Tanuri *et al.*, 1999). Essas reações se deram pela utilização de pares de iniciadores internos e externos (Quadro 3).

Em cada reação de amplificação, após a desnaturação inicial à 94°C por 5 minutos, foram efetivados 35 ciclos de: 30 segundos à 94°C, 30 segundos à 50°C e 30 segundos, com um tempo de dez minutos para a extensão final à 72°C.

Quadro 3 – Iniciadores utilizados nas duas reações de *Nested PCR* da região *pro* do HIV-1.

INICIADORES	SEQUENCIA 5'-3'	ETAPA
DP10	5'- TAACTCCCTCTCAGAAGCAGGAGCCG - 3'	PCR
DP11	5'- CCATTCCTGGCTTTAATTTTACTGGTA - 3'	PCR
DP16	5'- CCTCAAATCACTCTTTGGCAAC - 3'	NESTED
DP17	5'-AAAATTTAAAGTGCAGCCAAT - 3'	NESTED

2.4 ELETROFORESE

Os produtos das amplificações e das digestões enzimáticas foram visualizados após eletroforese (100 V/45 minutos) em gel de agarose a 2%, em tampão TAE 1x (TAE 40x estoque – TrisBase 1,6 M, Acetato de Na 0,8 M e EDTA-Na₂ 40 mM/1000 mL água deionizada), contendo 5µL de brometo de etídio (10mg/mL), mediante a utilização de transiluminador com fonte de luz ultravioleta.

2.5 SEQUENCIAMENTO

Após a PCR do gene *pro* do HIV, o DNA amplificado foi submetido ao sequenciamento automático. A metodologia empregada foi baseada na síntese bioquímica da

cadeia de DNA através do método de Sanger *et al.* (1977) utilizando *kit* da *ABI PRISM™ 310 BigDye Terminator v3.1 Matrix Standards (Applied Biosystems)*. As fitas de DNA foram seqüenciadas, usando-se o equipamento de seqüenciamento automático *ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)*. A técnica foi realizada de acordo com o protocolo abaixo:

1) Para cada reação misturar os seguintes reagentes em um tubo marcado:

• <i>Terminator Ready Reaction Mix</i>	0,5 µL
• Tampão	1,0 µL
• DNA 10-30 ng (produto da PCR purificado)	0,5 µL
• Iniciadores (5,0 pmol/□L)	1,0 µL
• H ₂ O deionizada	<u>7,0 µL</u>
	10,0 µL

O *Terminator Ready Reaction Mix* é composto de *A-Dye Terminator*, *G-Dye Terminator*, *C-Dye Terminator*, *T-Dye Terminator*, dGTP, dATP, dCTP, dTTP, Tris-HCl pH9,0, MgCl₂, Pirofosfato Termo-estável e *AmpliTaq* DNA Polimerase, Fs.

2) Colocar os tubos contendo a mistura no termociclador (*GeneAmp PCR System 2400*) e realizar 35 ciclos de 10 segundos a 94°C, 5 segundos a 57°C e 4 minutos a 60°C. Ao final do processo, resfriar a mistura para 4°C.

2.5.1 Precipitação do DNA Sequenciado

1. Adicionar 40 µL de isopropanol a 65% aos 10 µL da solução anteriormente seqüenciada;
2. Homogeneizar em agitador mecânico;
3. Deixar à temperatura ambiente (25 °C), não expondo a luz, por 15 minutos;
4. Centrifugar por 25 minutos à 14.000 rpm;
5. Desprezar o sobrenadante;

6. Adicionar 300 μL de etanol à 60%;
7. Centrifugar à 14.000 rpm por 5 minutos;
8. Desprezar o sobrenadante;
9. Secar na estufa à 37°C.

2.5.2 Eletroforese do DNA Sequenciado

O sistema de eletroforese utilizou o seqüenciador *ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)*. A corrida foi realizada seguindo o protocolo do fabricante em um capilar de 61 cm, nas seguintes condições: voltagem de corrida 12,2 kV, corrente 3-5 μA , temperatura 50°C, tempo de corrida 2 horas e 45 minutos.

2.6 ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS NUCLEOTÍDICAS

2.6.1 Edição e Alinhamento das Sequências

A alinhamento das seqüências nucleotídicas foi realizado por meio do programa BioEdit operado em Windows (Hall, 1999). As sequencias obtidas no trabalho foram comparadas às seqüências depositadas no GeneBank/NCBI, utilizando-se o *Blast* como ferramenta para a genotipagem (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> e <http://hivdb.stanford.edu/>).

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi montado um banco de dados, utilizando-se o programa Access da plataforma Windows com as informações clinicas e laboratoriais obtidas e colhidas. Foi utilizado o teste do qui-quadrado (χ^2) e o Teste G para avaliar a relação existente das adolescentes grávidas que mostraram positividade e reatividades aos agentes testados. A avaliação do comportamento de risco também foi calculada pelo teste G, com auxílio do

programa BioEstat, versão 5.0 (Ayres *et al.*, 2007) e os resultados com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

2.8 ASPECTOS ÉTICOS

O presente projeto foi submetido e aprovado pela Comite de Ética em Pesquisas com Seres Humanos do Instituto Evandro Chagas e seguiu as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (Resolução 196/1996 do Conselho Nacional de Saúde) (Anexo 3).

Todas as amostras foram obtidas mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 1). Os resultados de cunho diagnóstico foram entregues de forma confidencial para cada uma das participantes do estudo, no local primário da coleta de dados, mediante uma breve explicação do significado dos possíveis resultados e encaminhadas para tratamento específico.

3 RESULTADOS

3.1 CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL SÓCIODEMOGRÁFICO DAS PARTICIPANTES

No presente estudo foi coletado sangue e informações epidemiológicas de 324 adolescentes grávidas atendidas na UREMIA em Belém-Pará. O questionário epidemiológico revelou que 98,1% das participantes (319/324) eram procedentes do Estado do Pará, sendo destas que (248/319(78%)) residiam na capital e 70 (22%) vieram do interior. O número de grávidas provenientes de outros Estados foi de apenas 6 (1,9%) (Tabela 1).

A média de idade das participantes foi de 15,8 anos, sendo a idade mínima 12 anos e a máxima de 18 anos. Das grávidas (84%; 272/324) possuía entre 15 e 18 anos de idade e 16% (52/324) possuía entre 12 e 14 anos (Tabela 1).

Em relação ao grau de escolaridade das adolescentes grávidas, a maioria (65,4%; 212/324) apresentava o ensino fundamental incompleto, 2,8% (9/324) possuíam o ensino fundamental completo, 28,7% (93/324) referiram estar cursando o ensino médio, 2,8% (9/324) finalizaram o ensino médio e apenas 0,3% (1/324) iniciava o ensino superior (Tabela 1).

Tabela 1 - Características sócio-demográficas do grupo de adolescentes grávidas atendidas na UREMIA-SESPA no período de agosto a novembro de 2009

Variável demográfica	Nº	Percentual (%)
Procedência		
Pará		
Capital	248	78
Interior	70	22
Outros Estados	06	1,9
Faixa Etária		
12 a 14	52	16
15 a 18	272	84
Escolaridade		
Ens. Fundamental incompleto	212	65,4
Ens. Fundamental completo	09	2,8
Ens. médio incompleto	93	28,7
Ens. médio completo	09	2,8
Ensino superior incompleto	01	0,3

3.2 DESCRIÇÃO DOS FATORES RELACIONADOS À SAÚDE SEXUAL, REPRODUTIVA DAS ADOLESCENTES GRÁVIDAS ATENDIDAS NA UREMIA-SESPA

No questionário epidemiológico consideraram-se variáveis relacionadas à saúde sexual, saúde reprodutiva e possíveis fatores de risco para a infecção e/ou transmissão dos agentes estudados, tais como: idade da iniciação sexual, uso do método anticoncepcivo, frequência do uso de preservativo, idade do parceiro, evasão escolar, história de vacinação contra o VHB e conhecimento sobre o período fértil.

Em relação à idade do início da atividade sexual, a maioria (60,8%; 197/324) iniciou a vida sexual entre 12 e 14 anos, enquanto que 37,3% (121/324) possuíam entre 15 e 17 anos e 1,8% (6/324) entre 9 e 11 anos. A idade média da iniciação sexual das adolescentes grávidas foi de 14,4 anos (Tabela 2).

No que se refere ao primeiro método de anticoncepcivo, as adolescentes referiram o preservativo masculino (camisinha) (50,9%; 165/324), seguido da pílula anticoncepcional (11,7%; 38/324), anticoncepcional injetável (6,8%; 22/324;), coito interrompido (4%; 13/324) e o intradérmico norplant (0,3%; 1/324). No entanto, 27,8% (90/324) referiram não usar nenhum método anticoncepcivo (Tabela 2).

Quanto à frequência do uso de preservativo sexual, 15,4% (50/324) das participantes referiram o uso constante durante as relações sexuais, 61,4% (199/324) informaram o uso esporádico e 23,14% (75/324) disseram que nunca utilizam (Tabela 2).

No que se refere à idade dos parceiros das adolescentes, observou-se que 46,3% (150/324) das entrevistadas tiveram sua primeira relação sexual com parceiros em idade entre 12 e 18 anos e em 45% (146/324), o parceiro tinha entre 19 a 25 anos. Os demais tinham entre 25 a 42 anos, o que correspondeu a 8,7% (28/324), sendo a idade média desses parceiros de 19,8 anos (Tabela 2).

Algumas adolescentes (9,6% (31/324) não frequentavam a escola quando souberam da gravidez. Porém 36,5% (107/293), das adolescentes grávidas abandonaram os estudos, enquanto 63,4% (186/293) prosseguiram estudando (Tabela 2).

Quanto ao estado de vacinação contra o VHB, a maioria das adolescentes (70,4%, 228/324) respondeu não ter sido vacinada, enquanto 26,8% (87/324) afirmaram já terem sido vacinadas e apenas 2,8% (9/324) não souberam informar a respeito (Tabela 2).

Tabela 2 - Distribuição das variáveis, saúde sexual e reprodutiva das grávidas adolescentes atendidas na UREMIA-SESPA, no período de agosto a novembro de 2009

Saúde sexual e reprodutiva / Fatores de risco	Nº	Percentual (%)
Idade da 1ª relação sexual		
9 a 11	6	1,8
12 a 14	197	60,8
15 a 17	121	37,3
Uso de anticonceptivo		
Norplant	1	0,3
Injeção	22	6,8
Pílula	38	11,7
Camisinha	165	50,9
Coito interrompido	13	4
Nenhum método	90	27,8
Frequência do uso de preservativo		
Sempre	50	15,4
Às vezes	199	61,4
Nunca	75	23,2
Evasão escolar		
Sim	107	36
Não	186	57,4
Não estudava	1	9,6
Idade do parceiro		
12 a 18	150	46,3
19 a 25	146	45,0
25 a 42	28	8,7
Vacinação contra VHB		
Não	228	70,4
Sim	87	26,8
Desconhecida	9	2,8
Idade gestacional das adolescentes e o início do pré-natal		
1 a 2 meses	104	32,1
3 a 4 meses	98	30,2
5 a 6 meses	112	34,6
7 a 9 meses	10	3,1

Quanto ao início do pré-natal, observou-se que 32,1% (104/324) das participantes do estudo iniciaram o pré-natal entre o 1º e 2º mês gestacional; 30,2% (98/324) encontravam-se entre o 3º e o 4º mês gestacional, 34,6% (112/324) estavam entre o 5º e o 6º mês gestacional e 3,1% (10/324) entre o 7º e 9º mês gestacional (Tabela 2)

Em relação ao conhecimento das participantes quanto ao ciclo da fertilidade (período fértil), 47,2% (153/324) responderam que sabiam o que significava, enquanto 52,8% (171/324) afirmaram não ter conhecimento do termo. No entanto, das participantes que responderam que sabiam do significado do período fértil, somente 5,2% (8/153) responderam de forma satisfatória (Gráficos 1 e 2). Considerou-se como resposta satisfatória aquela que referisse que período fértil é o período com maior probabilidade de engravidar, compreendido entre correspondendo aos 10 dias antes e 10 dias após o 1º dia de menstruação.

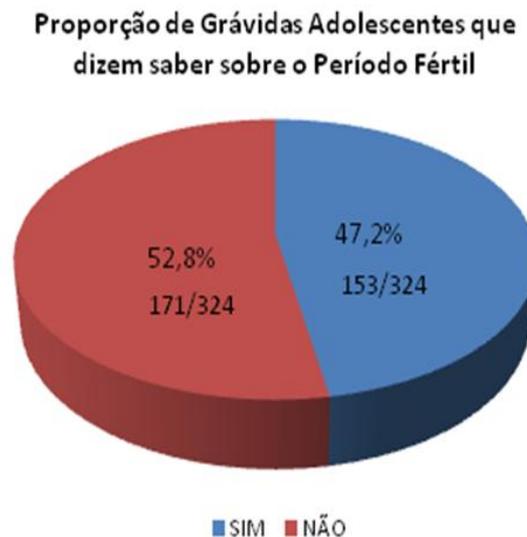


Figura 18- Proporção de grávidas adolescentes que dizem saber sobre o período fértil.

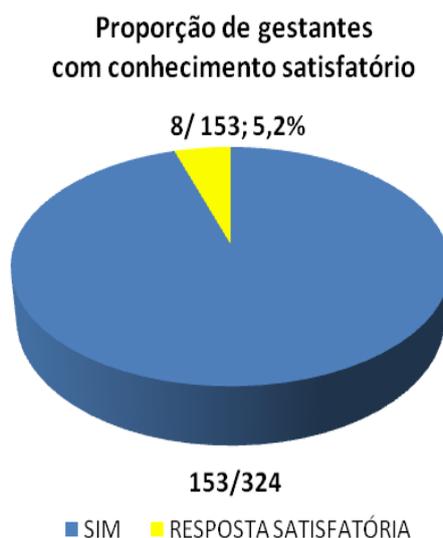


Figura 19- Proporção de grávidas com conhecimento satisfatório.

3.3 RESULTADO DOS TESTES SOROLÓGICOS PARA A PESQUISA DE ANTICORPOS CONTRA HIV, HTLV-1/2, VHB E CMV DA POPULAÇÃO DE GRÁVIDAS ATENDIDAS NA UREMIA

3.3.1 Análise Sorológica Para a Infecção pelo HIV

Das 324 amostras de plasma das grávidas adolescentes investigadas quanto à presença de anticorpos contra HIV e detectou-se uma única amostra (0,3%) sororreagente. Essa soropositividade foi confirmada no Laboratório Central do Estado do Pará (LACEN-PA) e seguiu o protocolo do estabelecido pelo MS (Portaria nº59/GM/MS de 28 janeiro de 2003).

A grávida soropositiva para o HIV possuía 17 anos, procedente da capital, cursava o ensino fundamental e informou que abandonou a escola ao saber da gravidez. Sua primeira relação sexual foi aos 14 anos, sem o uso do preservativo masculino, sendo que o parceiro sexual tinha 20 anos e, ambos eram usuários de drogas não injetáveis. A grávida não soube informar se foi vacinada contra o VHB e

não respondeu de forma correta sobre o que era período fértil. No que se refere às práticas sexuais, a adolescente relatou que a frequência das relações sexuais era diária, a prática de sexo anal esporádica e o uso do preservativo masculino eram ocasionais. Mencionou ter tido dois parceiros sexuais, sendo que um é usuário de droga não injetável(UDNI) e natural de outro estado, e não possuir histórico de IST anterior. Essa grávida também foi sororeativa para CMV IgG e negativa para os demais marcadores contra o HTLV e o VHB.

3.3.2 Análise Sorológica para a Infecção pelo HTLV-1/2

A pesquisa dos anticorpos anti HTLV1/2 (ELISA) revelou que duas grávidas (0,62%) apresentaram sorologia reagente. Ambas as grávidas também foram soropositivas para o CMV (IgG). Uma das participantes apresentou anti-HBc total, sugerindo infecção passada pelo VHB, enquanto que a outra amostra mostrou-se suscetível à infecção pelo VHB, evidenciada pela ausência do marcador anti-HBs isolado..

3.3.3 Análise Sorológica dos Marcadores para a Infecção pelo VHB

Foi observado que 9,3% (30/324) das grávidas participantes do presente estudo tiveram uma infecção passada pelo VHB (presença de anti-HBc-total, ausência de HBsAg e anti-HBc IgM). A infecção aguda pelo VHB, evidenciada pela marcadores HBsAg e anti-HBc IgM, foi observada em 0,6% das grávidas (2/324). O marcador anti-HBs isolado foi encontrado em 16,7% (54/324) das adolescentes, o que denota imunidade vacinal, enquanto que 83,3% (270/324) mostraram-se suscetíveis à infecção por este agente (Tabela 3).

Tabela 3 - Distribuição dos marcadores sorológicos para o VHB investigados nas adolescentes grávidas de Belém, Pará, no período de agosto a novembro de 2009.

Resultado	Marcadores para o VHB							
	Anti-HBs		HBsAg		Anti-HBc Total		Anti-HBc IgM	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Negativo	270	83,3	322	99,4	292	90,2	322	99,4
Positivo	54	16,6	2	0,6	32	9,9	2	0,6

No que se refere às grávidas sororreativas para o HBsAg (0,6%) nestas detectou-se também o anticorpo anti-CMV IgG e ausência dos marcadores sorológicos para HTLV e HIV (Tabela 4).

Tabela 4- Distribuição de outros marcadores sorológicos para o VHB em adolescentes grávidas de Belém, Pará, portadoras do HBsAg no período de agosto a novembro de 2009.

HBsAg (+)	CMV- IgM	CMV- IgG	HIV	Anti- HBs	HTLV	Anti- HBc	Anti-HBc IgM
Individuo 01	-	+	-	-	-	-	+
Individuo 02	-	+	-	-	-	-	+

Foi identificado uma positividade de 9,9% (32/324) somente para o marcador anti-HBc total.

Para avaliar os prováveis fatores de risco para a aquisição do VHB em grávidas, correlacionou-se a presença do HBsAg e anti-HBc total com as variáveis

relacionadas ao comportamento sexual, como a frequência de uso ao preservativo masculino e números de parceiros sexuais. A análise estatística realizada através do teste G revelou que não houve diferença estatisticamente significativa entre a infecção pelo VHB e as variáveis uso de preservativo ($p=0,8487$) e número de parceiros nos últimos meses ($p= 0,6979$).

3.3. 4 Análise Sorológica dos Marcadores para a Infecção pelo CMV

A pesquisa de anticorpos contra o CMV identificou que 96,3% (312/324) das mulheres possuíam anticorpos da classe IgG, enquanto somente 2,2% (7/324) apresentaram o anticorpo IgM, embora 1,54% (5/324) não apresentaram nenhum marcador sorológico contra o CMV.

3.4 EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR

A análise molecular da amostra sororreativa para o HIV revelou a presença do HIV do subtipo B, em relação ao gene da protease.

Em relação à caracterização molecular do HTLV nas duas participantes sororreativas, demonstrou a existência apenas do HTLV-2 (Figura 20), sendo que em apenas uma amostra foi possível amplificar o gene *env*, a qual apresentou o sítio de restrição e gerou dois fragmentos, um de 452 pb e outro de 178 pb sendo, portanto, caracterizada como HTLV-2a/2c (Figura 21).

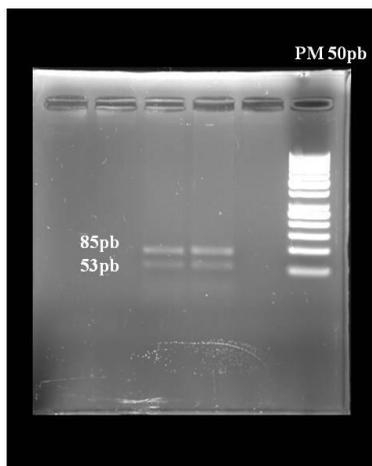


Figura 20 - Fragmento amplificado, de 159 pb, da região *pX* das amostras sororeativas para o HTLV em grávidas adolescentes de Belém, Pará, no período de agosto a novembro de 2009.

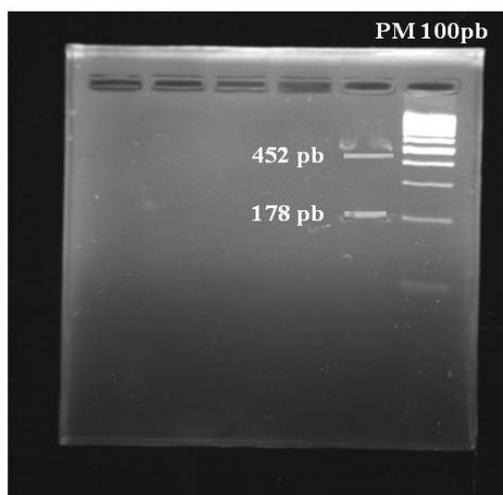


Figura 21 - Produto da digestão enzimática com *XhoI* do fragmento de 630 pb da região *env* do HTLV-2, com padrão característico do subtipo HTLV-2a/2c, no período de agosto a novembro de 2009.

3.5 ANALISE ESTATÍSTICA

Na análise estatística do presente estudo as variáveis, escolaridade e uso do preservativo foram correlacionados com outras variáveis relacionadas a saúde sexual e reprodutiva, estas representadas pela idade gestacional ao iniciar o pré-natal, evasão escolar, frequência no uso de preservativo masculino, informação correta sobre período fértil e grau de escolaridade das grávidas adolescentes.

Foi considerada resposta satisfatória sobre o conhecimento do período fértil quando a resposta vinculasse a data da menstruação com o período que não se poderia manter relação sexual. Ao serem questionadas sobre este saber, as grávidas que responderam de forma satisfatória correspondeu a 2,4% (8/324) (Tabela 5).

Observou-se uma correlação significativa quando utilizou-se o teste G entre a escolaridade e a informação correta sobre conhecimento do período fértil ($p=0,0061$).

Tabela 5 – Distribuição das Grávidas adolescentes segundo a escolaridade e conhecimento sobre período fértil. de Belem –Pará, no período de agosto a novembro de 2009.

Resposta satisfatória	Nível de escolaridade										Subtotal	
	EFI		EFC		EMI		EMC		ES		n	%
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
Não	210	66,5	9	2,8	90	28,7	6	1,8	1	0,3	316	97,5
Sim	2	25	0	0	3	37,5	3	37,5	0	0	8	2,5
Total											324	100

EFI: Ensino fundamental incompleto; EFC: Ensino fundamental completo; EMI: Ensino médio incompleto; EMC: Ensino médio completo, ES: Ensino superior incompleto.

Quanto as variáveis escolaridade e evasão escolar verificou-se que 36,5% evadiram da escola, após saber da gravidez. Dessas, o maior índice de abandono escolar (46,3%) foi identificado entre as grávidas que apresentavam o menor grau de escolaridade (EFI) (Tabela 6).

Após aplicação do teste G, verificou-se que existe associação significativa entre a escolaridade das adolescentes e a evasão escolar ($p=0,0014$).

Tabela 6 - Distribuição das grávidas segundo a escolaridade e a evasão escolar, Belem Pará no período de agosto novembro de 2009.

Evasão escolar	Nível de escolaridade										Sub total	
	EFI		EFC		EMI		EMC		ES		n	%
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
Não	104	55,9	6	3,2	68	36,5	7	3,76	1	0,53	186	63,5
Sim	90	84,1	1	0,9	16	14,9	0	0	0	0	107	36,5
Total											293	100

FI: Ensino fundamental incompleto; EFC: Ensino fundamental completo; EMI: Ensino médio incompleto; EMC: Ensino médio completo, ES: Ensino superior incompleto.

Em relação ao uso de preservativo e a escolaridade, 37,3% das grávidas não utilizavam o preservativo, enquanto que 63,7% referiram o uso do mesmo (Tabela 7). Após aplicação do teste G, verificou-se que houve significância estatística ($p=0,041$) entre estas variáveis.

Tabela 7 – Distribuição das grávidas segundo a escolaridade e o uso de preservativo, Belem Pará no período de agosto novembro de 2009.

Uso de preservativo	Nível de escolaridade										Sub total	
	EFI		EFC		EMI		EMC		ES		n	%
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
Não	90	74,4	3	3,25	26	21,5	1	0,8	1	0,8	121	37,3
Sim	122	60	6	2,9	67	33	8	3,9	0	0	203	63,7
Total											324	100

EFI: Ensino fundamental incompleto; EFC: Ensino fundamental completo; EMI: Ensino médio incompleto; EMC: Ensino médio completo, ES: Ensino superior incompleto.

No que se refere a frequência do uso do preservativo masculino e faixa etária (15,4%; 50/324) afirmaram sempre utilizar preservativo, porém, a maioria (61,4%; 199/324) mencionaram uso esporádico, enquanto que 23,1% (75/324) referiram nunca usar (Tabela 8). Correlacionado as variáveis uso de preservativo e faixa etária verificou-se que não existe associação significativa (Teste G; $p=0,8654$).

Tabela 8 – Gestantes adolescentes que segundo a faixa etária e a frequência do uso de preservativo masculino Belem -Pará no período de agosto a novembro de 2009.

Frequência no uso de preservativo	Faixa etária (anos)						Subtotal	
	12-14		15-17		18-20		n	%
	n	%	n	%	n	%		
Sempre	5	10,0	39	78,0	6	12,0	50	15,4
Às vezes	30	15,1	151	75,9	18	9,0	199	61,4
Nunca	17	22,7	51	68,0	7	9,33	75	23,2
Total							324	100

EFI: Ensino fundamental incompleto; EFC: Ensino fundamental completo; EMI: Ensino médio incompleto; EMC: Ensino médio completo, ES: Ensino superior incompleto.

Quanto às variáveis início do pré-natal e escolaridade, observou-se que 43,8% (142/324) iniciaram o pré natal entre o primeiro e terceiro mês de gravidez, enquanto que 53% (173/324) iniciaram entre o quarto e o sexto mês e 3,1% (10/324), entre o sétimo e o nono mês de gravidez. Das adolescentes grávidas (65,4%) cursavam o ensino fundamental incompleto (Tabela 9). Verificou-se através do teste G que não existe relação significativa entre o início do pré-natal e a escolaridade das adolescentes ($p=0.8654$).

Tabela 9 - Distribuição das grávidas segundo a escolaridade e o início de pré-natal das adolescentes gestantes de Belém, Pará, no período de agosto a novembro de 2009.

Início do pré natal	Nível de escolaridade										Sub total	
	EFI		EFC		EMI		EMC		ES		n	%
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
1 a 3	94	66,1	3	2,1	41	28,8	3	2,1	1	0,7	142	43,8
4 a 6	111	64,5	6	3,5	49	28,5	6	3,5	0	0	172	53,1
7 a 9	7	70	3	30	0	0	0	0	0	0	10	3,1
Total											324	100

EFI: Ensino fundamental incompleto; EFC: Ensino fundamental completo; EMI: Ensino médio incompleto; EMC: Ensino médio completo, ES: Ensino superior incompleto.

4 DISCUSSÃO

A gravidez na adolescência é um fenômeno em ascensão e envolve aspectos relacionados à saúde pública. Muito embora a gestação seja considerada um fenômeno fisiológico, os riscos gestacionais nesta faixa etária continuam incertos quanto ao baixo peso ao nascer do recém nascido, ao número de partos cesarianos, anemia e pré-eclampsia (Magalhães *et al.*, 2006). Todavia, sabe-se que os riscos sociais e econômicos, assim como as intercorrências que acontecem na gestação (infecção urinária, vulvovaginites, doenças hipertensivas, infecções virais, etc.) podem contribuir com resultados neonatais adversos (Magalhães *et al.*, 2006; Amorim *et al.*, 2009).

Este olhar para adolescência exige que se considere o contexto da saúde sexual, reprodutiva, vulnerabilidades e situações de risco que são peculiares a este grupo. Desta forma, faz-se necessário identificar subsídios que relacionam singularidades quanto aos saberes e práticas comportamentais destas jovens.

Um dos indicadores mais usados para os debates sobre iniciação sexual na literatura tem sido a idade da primeira relação sexual. No presente estudo, a idade média da primeira relação sexual foi de 14,4 anos, semelhante idade foi encontrada em estudo com adolescentes de ambos os sexos, de varias regiões do Brasil (14,9 anos) (Paiva *et al.*, 2008), em João Pessoa (Azevedo, 2007) e em São Paulo (Belo e Silva, 2004).

A média de idade das adolescentes grávidas do presente estudo foi de (15,8 anos), a idade gestacional no presente estudo condiz com a afirmativa que é comum que a primeira gravidez se associe à primeira relação sexual e é em torno de um ano. (Rua & Abramovay, 2001). Esta idade de 15,8 anos foi semelhante aos achados em São Paulo (16 anos; Bello& Silva, 2004), porém foi menor quando

comparado ao obtido por Castro & Abramoway (2004) em Belém, que detectou a idade média das gestantes de 17,5 anos.

Esta idade precoce da gravidez em adolescentes de Belém detectadas no presente estudo está de acordo com os índices apresentados pelo SINASC-PA (2007), que tem comprovado o crescimento de mães na faixa etária de 10 a 14 anos. Este rejuvenescimento da fecundidade é comum em países de baixo desenvolvimento e entre jovens de escolaridade mais baixa (Paiva *et al.*, 2008).

Alguns estudos sugerem que o grau de escolaridade favorece a vulnerabilidade para obtenção de uma saúde sexual e reprodutiva satisfatória para perspectivas futuras (Souza, 1998; Cabral *et al.*, 2004).

Muito embora no presente estudo, a maioria das grávidas adolescentes tenham permanecido na escola, um número considerável evadiu-se da mesma (36,5%; 107/293), resultado este menor que o encontrado em adolescentes de São Paulo (51,9%; Bello & Silva, 2004) e maior que os obtidos por Castro *et al.* (2004) em Belém (6,9%), Macapá (6,9%), Maceió (5,2%), Belo Horizonte (1,0%), Cuiabá (1,0%), Curitiba (1,4%), Goiânia (2,2%), Salvador (3,5%), São Paulo (0,2%) e Teresina (4,0%).

A elevada diferença na taxa encontrada no presente estudo pode estar relacionada com o nível escolaridade das grávidas, pois a maioria das adolescentes do presente estudo (63,4%; 186/293) frequentavam o ensino fundamental incompleto. Houve uma relação de significância direta, da evasão escolar com o grau de escolaridade das adolescentes, o que reforça a informação de que quanto menor a escolarização das adolescentes, maior o abandono escolar (Chalem *et al.*, 2007).

Gamio (2000) relatou que o alto índice de evasão escolar pode ser ocasionado por posturas preconceituosas dentro da escola, em relação às alunas mães

solteiras. Em contrapartida, em grávidas paraenses, percebeu-se um novo olhar para o evento gravidez, no cotidiano da escola, representada por admiração, elogios e até honenagens com chá de bebê (Pantoja, 2003).

Quanto ao uso de métodos anticoncepcionais, verificou-se, no presente estudo, que o método escolhido por partes das adolescentes na primeira relação sexual foi o preservativo masculino (62,9%), seguido do anticonceptivo oral (10,1%). Esse resultado foi semelhante ao obtido em Indaiatuba (SP), onde 68,5% das adolescentes relataram o uso de preservativo masculino e 37,5% a pílula (Carvacho *et al.*, 2008), no entanto, foi maior que os obtidos em Campinas (SP), onde 49% das adolescentes gestantes usaram camisinha masculina e 37,3% usaram o anticoncepcional hormonal oral (Bello & Silva, 2004).

Muito embora a camisinha tenha sido indicada como método contraceptivo escolhido pela maioria das adolescentes grávidas de Belém, grande parte destas (61,4%) referiu o uso eventual do preservativo e apenas 15,4% referiram o uso frequente durante as relações sexuais. Em adolescentes, de ambos os sexos, de João Pessoa (PB), 50,6% referiram o uso eventual da camisinha, enquanto que 42% citaram que fazem uso deste regulamente em todas as suas relações sexuais (Azevedo, 2007).

As escolhas dos métodos anticoncepcionais entre adolescentes, direcionando, basicamente, para a camisinha e para a pílula, associado ao uso irregular dos mesmos, pode sugerir um conhecimento inadequado sobre as diversas possibilidades contraceptivas, o que, também, foi observado por Castro & Abranmoway (2004), menciona a existência de um grande desconhecimento sobre os métodos contraceptivos por parte desta parcela da população.

Os parâmetros estabelecidos pelo MS, recomenda a realização da primeira consulta de pré-natal em até 120 dias de gestação, com a realização de um número mínimo de seis consultas sendo, preferencialmente, uma no primeiro trimestre da gestação, duas no segundo trimestre e três no terceiro trimestre (Brasil, 2005).

No presente estudo, constatou-se que uma parcela significativa das gestantes adolescentes (56,2%) procura a primeira consulta pré-natal tardiamente, estando entre o 4º e o 9º mês gestacional. Este quadro também foi encontrado por Spindola & Silva (2009), em gestantes adolescentes do Rio de Janeiro, onde 70,5% delas iniciaram o pré-natal a partir do segundo trimestre. Este achado também foi relatado por Miranda (2009), no Espírito Santo, entre parturientes de várias faixas etárias, onde, apenas, 45,2% das gestantes tinham realizado menos de seis consultas no pré-natal.

O número insuficiente de consultas no pré-natal por parte das adolescentes pode estar relacionado com a dificuldade de acesso aos serviços de saúde, aceitação da gravidez, medo do procedimento obstétrico, vergonha dos pais, assim como a abordagem sobre práticas sexuais, dentre outras (Goldberg *et al.*, 2006; Spindola & Silva, 2009).

Em relação às adolescentes gestantes, o conhecimento satisfatório sobre o período fértil foi relatado por poucas participantes (5,5%), resultado este inferior ao detctados nas primigestas (24%) de Indaíndaituba (SP) (Carvacho *et al.*, 2008) e em adolescentes grávidas (11,5%) de Campinas (SP). Este resultado demonstra um conhecimento insatisfatório sobre os aspectos fisiológicos da reprodução, particularmente, sobre o período fértil, o que poderia contribuir significativamente para a gravidez precoce e, também, representaria risco para a aquisição de alguma IST

por estas adolescentes. Ressalta-se a associação, encontrada no presente estudo, entre o nível de escolaridade e o conhecimento correto sobre o período fértil, tendo sido observado que as poucas respostas satisfatórias foram fornecidas pelas adolescentes que possuíam grau de escolaridade maior.

No presente estudo, a idade média dos parceiros sexuais das gestantes adolescentes foi de 19,5 anos, o que demonstra que elas se relacionaram com parceiros, em média, cinco anos mais velhos. Resultado semelhante também foi encontrado por Chalem *et al.* (2007), na periferia de São Paulo, com adolescentes parturientes, onde a média de idade dos companheiros foi de 21 anos, com uma diferença de quatro anos.

A prevalência do HIV encontrada entre as adolescentes grávidas de Belém é semelhante aos dados nacionais (Brasil, 2009), assim como, também, foi observado no Paraná (0,4%; Sbalqueiro *et al.*, 2001), Sergipe (0,42%; Lemos *et al.*, 2005), Rio Grande do Sul (0,5%; Cardoso *et al.*, 2007) e Espírito Santo (0,6%; Miranda *et al.*, 2009). No entanto, o resultado observado em Belém é maior que o encontrado em gestantes adolescentes de Goiânia (0,03%; Costa *et al.*, 2009).

A gestante soropositiva possuía baixo nível de escolaridade, era usuária de drogas juntamente com o seu parceiro fixo, praticava sexo anal, usava de forma esporádica o preservativo masculino nas relações sexuais e não apresentava história pregressa de IST. Alguns estudos, em gestantes em geral, constataram uma associação significativa entre soropositividade para o HIV e as possíveis dependências químicas (Cardoso, 2007), antecedentes de IST das gestantes e de seus respectivos companheiros, baixa escolaridade, comportamento sexual promiscuo das grávidas e dos respectivos parceiros (Gamio, 1998; Sbalqueiro *et al.*, 2001; Cardoso *et al.*, 2007).

No presente trabalho, identificou-se a presença que o subtipo B do HIV, semelhante ao encontrado em mulheres (mães e gestantes) portadoras do vírus, de diferentes faixas etária do Acre e Tocantins (Costa, 2009), o que corrobora com o achado de Machado *et al.* (2004), que identificaram a maior prevalência do subtipo B em portadores do HIV em Belém.

No Brasil, a infecção pelo HTLV-1/2 encontra-se presente em várias regiões, com prevalências distintas, de um Estado para outro, sendo mais elevadas na Bahia, Pernambuco e Pará (Carneiro-Proietti *et al.*, 2002).

A taxa de prevalência para HTLV-1/2, detectada nas adolescentes grávidas deste estudo (0,62%) foi semelhante à identificada também em gestantes de varias idades de Belém, Pará (0,58%; Souza, 2007) e na Bahia (0,84%; Bittencourt *et al.*, 2001). Entretanto, com relação às gestantes de outras regiões do Brasil, a prevalência do presente estudo foi maior que as identificadas em Botucatu São Paulo (0,2%; Olbrich Neto & Meira, 2004), Goiânia (0,1%; Oliveira & Avelino, 2006) e Mato Grosso do Sul (0,13%; Dal Fabbro *et al.*, 2008; Portela, 2008).

No presente estudo, foi identificado somente o HTLV-2, diferente do encontrado por Souza (2007), que detectou nas gestantes em geral de Belém, Pará, um numero maior de infecção pelo HTLV-1, que é o mais observado na região Norte (Azevedo, 1996; Vallinoto *et al.*, 2002; 2004; Laurentino, 2005). Esta divergência pode estar relacionada ao tamanho amostral das populações examinadas e também ao fato de que o presente estudo se deteve a um segmento único da população, constituída exclusivamente de adolescentes gestantes.

No Brasil, Obdrich (2004) detectou nas gestantes em geral de Botucatu, ambos os tipos do HTLV, enquanto que em Goiânia (Oliveira *et al.*, 2006),

na Bahia (Magalhães *et al.*, 2006) e no Mato Grosso do Sul (Portela, 2008), foi observada somente a presença do HTLV-1.

O padrão epidemiológico de prevalência e à susceptibilidade à infecção pelo VHB de uma região tende a ser definido pelo percentual dos marcadores sorológicos HBsAg, anti-HBc e anti-HBs (Tonial, 2009; Liell *et al.*, 2009; Clemens *et al.*, 2000).

A prevalência encontrada do HBsAg no presente trabalho foi alta (0,62%), quando comparada a identificada na população de adolescentes, de ambos os sexos, de Chapecó, Santa Catarina (0,24%; Scaraveli, 2009). Todavia foi similar às taxas identificadas nos adolescentes e em grávidas em geral das cidades do Rio de Janeiro (0,5%; Lewis-Ximenes *et al.*, 2002), Ribeirão Preto (0,55%; Perim *et al.*, 2005), Blumenau (0,76%; Livramento, *et al.*, 2008), de Itajaí (0,55%; Tonial, 2009) e Passo Fundo (0,7%; Liell *et al.*, 2009).

Por outro lado a taxa detectada em nosso estudo foi menor que a encontrada em gestantes de faixas etária diversas, pertencentes a áreas de alta endemicidade, cuja prevalência detectada variou de 2,1% no Espírito Santo (Lima & Viana, 2009) a 3,2% no Amazonas (Klesslich, 2003).

No Brasil, a prevalência de anti-HBc na população em geral varia de acordo com a região investigada, sendo a menor taxa observada na região nordeste (1,2%) e a maior (21,4%) encontrada na região norte (Clemens *et al.*, 2000; Brasil, 2005).

A soroprevalência do anti-HBc total detectada nas adolescentes gestantes de Belém foi de 9,9% e mostrou-se superior aos achados em adolescentes, de ambos os sexos, pertencentes a regiões de alta endemicidade, tal como Chapecó (1,44%; Scaraveli, 2009) e baixa endemicidade, como Itajaí (1%; Tonial, 2009) e

Blumenau (1,02%; Livramento *et al.*, 2008). Em contrapartida, o percentual do anti-HBc total do presente estudo mostrou-se inferior quanto à descrita em gestantes de várias faixas etárias da Amazônia Ocidental (38,3%; Kiesslich *et al.*, 2003).

O Ministério da Saúde registra que 71% dos adolescentes na faixa dos 11 aos 14 anos e, somente, 52% entre 15 e 19 anos estão imunizados contra o VHB (Brasil 2009). No presente estudo, 26,8% das gestantes adolescentes referiram ser vacinadas contra o VHB mas, apenas, 16,7% apresentaram o anticorpo anti-HBs isolado. Este percentual é inferior ao identificado nos adolescentes em geral de Itajaí (81,8%; Tonial, 2009), Blumenau (98,6%; Livramento, 2009) e Chapecó (87,9%; Scaraveli, 2009).

A baixa prevalência do anticorpo anti-HBs no presente estudo sugere uma provável omissão na efetivação da realização da vacinas de adolescentes paraenses, uma vez que as mesmas já deveriam estar imunizadas contra o VHB, demonstrando uma suscetibilidade a contrair infecção por este agente, o que poderia ter como consequência a transmissão vertical do mesmo.

Os contrastes entre as taxas de prevalência encontradas dos marcadores da infecção pelo VHB, no presente estudo, com as encontradas em áreas de alta endemicidade, podem ser devido a fatores como faixa etária, numero de parceiros sexuais, viés do numero amostral, reduzida imunidade vacinal e ou a possível transmissão horizontal, que é comum nesta região (Bensabath & Leão, 2003)

No que se refere à detecção de anticorpos IgM contra o CMV, a prevalência encontrada no presente estudo foi maior (2,2%) quando comparada à detectada em gestantes (1,4%) de diferente faixas etária, de varias capitais brasileiras (Serra *et al.*, 2004). Esse percentual difere dos resultados obtidos nos estudo realizado por Weirich (1998), em Belém, onde foi observada uma prevalência de 0,06% em

mulheres parturientes e dos estudos conduzidos em gestantes no Mato Grosso do Sul (0,05%; Figueiró-Filho *et al.*, 2007) e em Sergipe (0,2%; Inagaki *et al.*, 2009). A alta prevalência do marcador anti-CMV IgM, no presente estudo, pode ser atribuída a fatores como a demora na negatificação desta classe de anticorpo, reativação do vírus ou reinfeção (Panutti, 1985).

Contrapondo estes resultados, em Helsinki na Finlândia, foi evidenciada uma soropositividade para anti-CMV IgM de 3,8%, em gestantes com alto padrão social e 4,6% nas classes sociais mais baixas (Mustakangas *et al.*, 2000). No presente trabalho, a maioria das adolescentes gestantes pertencia, à rede pública de saúde e de ensino, sugerindo um *status* sócio-econômico menos favorecido. O percentual alto dos marcadores (IgM e IgG) para o CMV no presente trabalho pode estar associada à esta condição social (Yamamoto *et al.*, 1999; Mustakangas *et al.*, 2000; Miura *et al.*, 2006; CDC, 2009). No entanto, Serra *et al.* (2004) não detectaram diferenças na reatividade para os anticorpos anti-CMV IgM em gestantes de classe social mais favorecida de várias cidades do Brasil.

No que se refere à detecção de anticorpos anti-CMV IgG nas gestantes adolescentes de Belém, a soroprevalencia foi alta (96,3%), similar à encontrada em entre parturientes de Belém (90%; Weirich, 1998). Esta observação também foi feita em grávidas de diversas faixas etárias no Mato Grosso do Sul (82%; Figueiró-Filho *et al.*, 2007), Presidente Prudente (96,5%; Oliveira *et al.*, 2002), Rio de Janeiro (84%; Serra *et al.*, 2004) e em Sergipe (76,2%; Inagak *et al.*, 2009).

É importante ressaltar que um pequeno número de participantes do presente estudo, mostrou-se suscetível à infecção pelo CMV (1,54%), o que pode acarretar um risco importante para a infecção e transmissão vertical do referido agente na população estudada. Alguns estudos envolvendo gestantes de idades diversas,

detectaram taxas de suscetibilidade ao CMV variando entre 3,5% (Oliveira *et al.*, 2002) e 17,9% (Figueiró *et al.*, 2007).

5 CONCLUSÕES

- i) A soroprevalência da infecção pelo VHB, na população examinada, foi baixa, considerando a Amazônia brasileira como sendo uma área de alta endemicidade;
- ii) A soroprevalência de anticorpos anti-CMV IgM foi elevada em relação as taxas descritas nas demais regiões do Brasil, enquanto que a soroprevalência de anticorpos anti-CMV IgG mostrou-se compatível com as taxas descritas no Brasil;
- iii) A prevalência do HIV e do HTLV, nas adolescentes gestantes de Belém, foi semelhante ao encontrado na população de grávidas em geral;
- iv) Foi identificado somente o HTLV-2, subtipo 2a/2c, , assim como o subtipo B do HIV em relação ao gene da protease nesta população;
- v) A prevalência do anticorpo anti-HBs isolado detectada no presente estudo mostrou-se inferior às taxas identificadas em gestantes de outras regiões brasileiras, o que sugere uma provável ineficiência na cobertura vacinal destas adolescentes, o que poderia contribuir para uma maior probabilidade de transmissão vertical do VHB;
- vi) Muitas das gestantes adolescentes iniciaram tardiamente o pré-natal (entre o quinto e sexto mês gestacional), provavelmente, devido à falta de esclarecimentos sobre a gravidez, embora não tenha sido observada nenhuma correlação, estatisticamente significativa, entre o início do pré-natal e a escolaridade;
- vii) Apesar do impacto que a gravidez precoce pode causar na vida do adolescente, observou-se que a maior parte desta população decidiu continuar os estudos, mesmo após a descoberta da gestação;

- viii) A discordância entre o conhecimento de contraceptivos e a decisão de usá-lo ou não (saber e fazer) pode refletir a inadequação do conhecimento sobre as diversas possibilidades contraceptivas como um fator de resistência ao uso dos métodos anticonceptivos;
- ix) Não foi identificada nenhuma correlação estatística entre as variáveis relacionadas com comportamento/prática sexual e a aquisição da infecção pelo VHB. No entanto, foi observada uma associação significativa entre o nível de escolaridade e o conhecimento correto sobre o período fértil, e o uso de preservativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABARCA, K. Infecciones En La Mujer Embarzada transmisibles ao Feto. **Revista Chilena Infectologia**, **1**: 41-46, 2003.
- ALMEIDA, M.C.C., AQUINO, E..M.L, GAFFIKIN, L, MAGNANI, R.J. Uso de contracepção por adolescentes de escolas públicas na Bahia,. **Revista de Saúde Pública**, **37(5)**: 566-75, 2003.
- ALTER, J.M. Epidemiology of viral hepatitis and HIV co-infection. **Journal of Hepatology**, **44**: S6–S9, 2006.
- AMORIM, M.M.R., ET AL LIMA, L.A, LOPES, C.V., ARAÚJO, D.K.L., SILVA, J.G.G., CÉSAR, C.L., MELO, A.S.O., LOPES, C.V, ARAÚJO, D.J.L., SILVA, J.G.S., CÉSAR, L.C., MELO, A.S.O. Fatores de risco para a gravidez na adolescência em uma maternidade-escola da Paraíba: estudo caso-controle. **Revista Brasileira Ginecologia Obstetrícia**, **31**: 404-410, 2009.
- AQUINO, J.A., PEGADO, P.A BARROS, L. P. I.A., MACHADO, L.F.A. Soroprevalência de infecções por vírus da hepatite B e vírus da hepatite C em indivíduos do Estado do Pará. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, **41**: 4334-4337, 2008.
- ARAÚJO, A., HALL, W.W. Human T-lymphotropic virus Type II and neurological disease. **Annals of Neurology**, **56**: 10-19, 2004.
- ARRAES, L.C., SAMPAIO, A.S., BARRETO, S., GUILHERME, M.S.A., LORENZATO, F. Prevalence of hepatitis B in parturients and perinatal serologic profile. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, **25**: 571-576, 2003.
- ARMAH, H.B., NARTER-OLAGA, E., ANDREW A., ADJEI, A.A., ASOMANING, K.A., RICHARD K., GYASI, R.K., YAO T., TEY,Y. Seroprevalence of human T-

- cell lymphotropic virus type I among pregnant woman in Accra, Ghana. **Journal of Medical Microbiology**, **55**: 765-700, 2006.
- AVELINO, M.N., PIMENTEL, A.M., FILHO, F.A.R.G. Doenças sexualmente transmissíveis. In: **Tratado de Pediatria**. Lopes, F.A. & Júnior, D.C. (eds). Manolo, São Paulo, 2007. 1193p.
- AZEVEDO, R. L. W. **Representações Sociais da sexualidade na adolescência, associadas à vulnerabilidade ao HIV/Aids**. Dissertação (Mestrado em Psicologia Social) João Pessoa. Universidade Federal da Paraíba. 2007. 108p.
- AYRES, M., AYRES JR, M., AYRES, D. L., SANTOS, A. S. BioEstat 6.0: **Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Sociedade Civil de Mamirauá, Brasília CNPq, 2007.
- AZEVEDO, V.N. Soroepidemiologia do HTLV em populações da Amazônia Brasileira. Dissertação (**Mestrado em Ciências Biológicas**) – Belém, Universidade Federal do Pará & Museu Paraense Emílio Goeldi, 1996. 78p.
- BANKER, D.D. Viral hepatitis (Part-II). Indian journal of **Medical Sciences**, **57**: 415-24, 2003.
- BARCELLOS, N.T., FUCHS, S.C., MONDINI, L.G., MURPHY, E.L. Human T lymphotropic virus type I/II infection: prevalence and risk factors in individuals testing for HIV in counseling centers from southern Brazil. **Sexually Transmitted Diseases**, **33(5)**: 302-306, 2006.
- BARONE, A.A., GONÇALES JUNIOR, F.L. Focaccia, R. Hepatites virais crônicas: diagnóstico e tratamento atual. **Boletim Terapêutico de HIV/Aids, IST e hepatites virais**, **1(4)**: 03-04, 2003.

- BASTOS, F.I., CUNHA, C.B., HACKER, M.A. Sinais e sintomas associados às doenças sexualmente transmissíveis no Brasil, 2005. **Revista de Saúde Pública**, **42(1)**: 98-108, 2008.
- BELO, M.A.V., SILVA, J.L.S. Knowledge, attitudes, and practices on previous use of contraceptive methods among pregnant teenagers **Revista de Saúde Publica**, **38(4)**: 479-487, 2004.
- BENSABATH, F., LEÃO, R.N.Q. Epidemiologia na Amazônia Brasileira. In: **Focaccia R. Tratado das Hepatites Virais**. São Paulo: Atheneu; 2003. p. 11-26.
- BERTOLINI, D., MIYAMOTO, S. Estudo da soroprevalência do HBsAg em grávidas da 15^a Regional de Saúde e da Imunoprofilaxia para os recém-nascidos das grávidas AgHBs positivo - DOI: 10.4025/actascihealthsci.v30i1.4394. **Acta Scientiarum. Health Science**, Brasil, 30 jul. 2008. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciHealthSci/article/view/4394/3089>>. Acesso em 23/04/2010.
- BITTENCOURT, A., SABINO, E.C., COSTA, M.C., PEDROSO, C., MOREIRA, L. No evidence of vertical transmission of HTLV-I in bottle-fed children. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, **44 (2)**: 63-65, 2002.
- BITTENCOURT, A.L., DOURADO, I., FILHO, P.B., SANTOS, M., VALADÃO, E., ALCANTARA, L.C., CASTRO, G. Human T-cell lymphotropic virus type 1 infection among pregnant women in northeastern Brazil. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes** **26**: 490-494, 2001.
- BOWEN, E.F., GRIFFITHS, P.D., DAVEY, C.C., EMERY, V.C., JOHNSON, M.A. Lessons from the natural history of cytomegalovirus. **AIDS**, **10(supl 1)**: S37-S41, 1996.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico - Aids e DST**. Ano III - nº 1 - 01ª - 26ª de 2007 -2008 Semanas Epidemiológicas, Brasília: 2007/2008.

BRASIL, Ministério da Saúde. Coordenação Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids. **Diagnóstico Sorológico da Infecção pelo HIV** (Portaria nº Portaria de Nº 59/GM/MS, de 28 de janeiro de 2003). Brasília: 2003.

BRASIL, R.M., FONSECA, J.C.F., SOUZA, R.B., MIRANDA, B.W.S., MEDEIROS, L.T., Prevalência de marcadores para o vírus da hepatite B em contatos domiciliares no Estado do Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, **36(5)**: 565-570, 2003.

BRASIL. 2005, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Hepatites virais. in: **Guia de vigilância epidemiológica**. 6. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretária de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e Aids. **Guia de manejo clínico do paciente com HTLV**. Brasília: MS, 2004. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Manual técnico para investigação da transmissão de doenças pelo sangue**. Brasília: MS, 2004.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Manual de controle das doenças sexualmente transmissíveis**. 3. ed. Brasília: MS, 2005.

BRASIL. 2005, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Hepatites virais. in: **Guia de vigilância epidemiológica**. 6. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005, p. 409.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Manual de controle das doenças sexualmente transmissíveis**. 3. ed. Brasília: MS, 2007.

- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria De Assistência à Saúde. Coordenação geral do PN-DST /AIDS. **Manual Para Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis**. Brasília: MS, 1997.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção a Saúde, **Marco teórico – saúde sexual e reprodutiva de adolescentes e jovens**. Brasília: MS, 2006.
- BROWN, H.L., ABERNATHY, M.P. Cytomegalovirus infection. **Seminars in Perinatology**, **22**: 260-266, 1998.
- CABRAL, C. S. Contracepção e gravidez na adolescência na perspectiva de jovens pais de uma comunidade favelada do Rio de Janeiro. **Caderno de Saúde Pública**, **19 (Sup. 2)**: S283-S292, 2003.
- CALATTINI, S., CHEVALIER, S.A., DUPREZ, R., BASSOT, S., FROMENT, A., MAHIEUX, R., GESSAIN, A. Discovery of a new human T-cell lymphotropic virus (HTLV-3) in Central Africa. **Retrovirology**, **2(30)**: 1-4, 2005.
- CARDOSO, A.J., HARTE, R.G., BARBOSA, H.C., BARROS, A., SILVA, B, S., REMIEN, R.H., Infecção pelo HIV entre grávidas atendidas nos centros de testagem e aconselhamento em Aids. **Revista de Saúde Pública**, **41**: 101-108, 2007.
- CARNEIRO-PROIETTI A.B., RIBAS JG., CATALAN-SOARES, B.C., MARTINS, M.L., BRITO-MELO, G.E., MARTINS-FILHO, O.A., PINHEIRO, S.R, ARAÚJO, A.Q., GALVÃO-CASTRO, B., OLIVEIRA, M.S., GUEDES, A.C., PROIETTI, F.A. Infection and disease caused by the human T cell lymphotropic viruses type I and II in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **35**: 499-508, 2002.
- CASTRO, M.G., ABRAMOVAY, M., SILVA, L.B., **Juventude e Sexualidade**. UNESCO, Brasília, 2004, p. 425.

- CARVACHO, I. E., SILVA, J.L.P.S., ELLHO, M. B. Conhecimento de adolescentes grávidas sobre anatomia e fisiologia da reprodução. **Revista Associação Médica Brasileira**, **54(1)**: 29-35, 2008.
- CATALAN-SOARES, B.C., PROIETTI, F.A., CARNEIRO-PROIETTI, A.B.F. Os vírus linfotrópicos de células T humanas (HTLV) na última década (1990-2000). Aspectos epidemiológicos. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, **4**: 81-95, 2001.
- CENTERS OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Sexually Transmitted Disease Surveillance**. Department of Health and Human Service, Atlanta, GA: US., CDC., p.190. 2005
- CENTERS OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Sexually transmitted disease surveillance 2006**. Atlanta, GA: US. Department of Health and Human Services, CDC, 2008.
- CHALEM, E., MITSUHIRO, S.S., FERRI, C.P. BARROS, M.C.M., GUINSBURG, R., LARANJEIRA, R. Gravidez na adolescência: Perfil Sócio-demográfico e Comportamental de uma população da periferia de São Paulo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, **23**: 177-186, 2007.
- CLEMENS. S, FONSECA. J, AZEVEDO. T, CAVALCANTI, A, SILVEIRA. T, CASTILHO. M, CLEMENS. R. Hepatitis A and hepatitis B seroprevalence in four centers in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **33**: 1-10, 2000.
- COFFIN, J.M. Retroviridae. In: **Fundamental Retrovirology**. Fields, B.N., Knipe, D.M., Howley, P.M., Chanock, R.M., Melnick, J.L. Monath, T.P., Roizman, B., Straus, S.E. (eds.) Lippincott Raven, Philadelphia, p.763-843, 1996.
- COLIN, D.D., ALCÂNTARA, L.C.J, SANTOS, F.L.N, UCHÔA, R., TAVARES-NETO, J. Prevalência da infecção pelo vírus linfotrópico humano de células T e

- fatores de risco associados à soropositividade em doadores de sangue da cidade de Rio Branco, AC, Brasil (1998-2001). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **36(6)**: 677-683, 2003.
- COLLENBERG, E., OUEDRAOGO, T., GANAMÃ, J., FICKENSCHER, H., KYNAST-WOLF, G., BECHER, H., KOUYATÃ, B., SANGARÃ, L., TEBIT, D.M. Seroprevalence of six different viruses among pregnant women and blood donors in rural and urban Burkina Faso: a comparative analysis. **Journal of Medical Virology**, **78(5)**: 683-692, 2006.
- COMPTON, T., NOWLIN, D. M., COOPER, N. R. Initiation of human cytomegalovirus infection requires initial interaction with cell surface heparan sulfate. **Virology**, **193**: 834– 841, 1993.
- COSTA,Z.B., MACHADO,G.C., AVELINO,M.M.,FILHO,J.M.V.,MINUZZI,M.D.T., TURCHI,M.D.T.,SETFANI,M.A.,SOUZA,W.V., MARTELLI,C.M.T. Prevalence and risk factors for Hepatitis C and HIV-1 infections among pregnant women in Central Brazil *BMC Infectious Diseases* 2009, **9**:116 <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/9/116>
- COSTA, I.B. **Epidemiologia Molecular do Vírus da Imunodeficiência Humana 1 (HIV em mulheres (mães e grávidas) dos estados do Acre e Tocantins, Brasil** Dissertação (Mestrado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários)–Belém, Universidade Federal do Pará ,2009,111p.
- COUTO, J.C.F., RODRIGUES, M.V., MELO, G.E.B.A., MENEZES, G.A., LEITE, J.M. Citomegalovírus e gestação: um antigo problema sem novas soluções. **Femina**, **31(6)**: 509-516, 2003.
- DAL FABBRO, M. M., CUNHA, R.V., BÓIA, M. N., PORTELA, P., BOTELHO, C. A., FREITAS, G. M., SOARES, J., FERRI, J., LUPION, J. HTLV 1/2 infection:

- prenatal performance as a disease control strategy in State of Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **41(2)**: 148-151, 2008.
- DELWART, E.L., MULLINS, J.I., GUPTA, P., JUNIOR, L.G.H., HOLODNIY, M., KATZENSTEIN, D., WALKER, B.D., SINGH, M.K. Human immunodeficiency virus type 1 in blood and semen. **Journal of Virology**, **72**: 617-623, 2000.
- DONATI, M., SEYEDZADEH, H., LEUNG, T., BLOTT, M., ZUCKERMAN, M., EISENSTEIN, E., SAUER, M.T., QUADROS, J.C. Sexualidade na adolescência. In: **Tratado de Pediatria**. Lopes, F.A., & Junior D.C. (eds). São Paulo, Manolo, 2007. p. 365-373.
- EL KHOURI, M., SAVOY, D.L., R.R., FERRAZ, L.F.S., ARANHA, M.L.C., SANTOS, V.A., BURATTINI, M.N., CORBETT, E. P. Seroprevalence of hepatitis B virus and hepatitis C virus in Monte Negro in the Brazilian western Amazon Region. **Clinics**, **60**: 29-36, 2005.
- ESPEJO, X., TSUNECHIRO, M.A., OSIS, M.J.D, DUARTE, G.A., HAMONDESE, L., SOUSA, M.H. Adequação do conhecimentos sobre métodos anticoncepcionais entre mulheres de Campinas, São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, **37(5)**: 583-90, 2003.
- FABBRO, M.M.F.J., CUNHA, R.V., BÓIA, M.N., PORTELA, P., BOTELHO, C.A., FREITAS, G.M.B; LUPION, J. HTLV 1/2 infection: prenatal performance as a disease control strategy in State of Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **41(2)**: 148-151, 2008.
- FATTOVICH, G. Natural history of hepatitis B. **Journal of Hepatology**, **39**: S50-S58, 2003.

FATTOVICH, G., BORTOLOTTI, F., DONATO, F. Natural history of chronic hepatitis B special emphasis on disease progression and prognostic factor. **Journal of Hepatology**, **48**: 335-352, 2008.

Prevalence of antibody to human T cell leukaemia/ lymphoma virus in women attending antenatal clinic in southeast London: retrospective study. **BMJ**, **320**: 92-93, 2000.

FAUQUET, C.M; MAYO, M.A; MANILOFF, I, DESSELBERGER, V., BALL, L.A. Retroviridae. In: **Virus taxonomy classification and nomenclature of viruses. Eight report of the international Committee on taxonomy of Viruses**. Virology Division. International Union of Microbiological Societies. Fauquet, C.M; Mayo, M.A; Maniloff, I, Desselberger, V., Ball, L.A.(eds). Elsevier, Academic press, p. 421-440. 2005.

FERREIRA, M.S. Diagnosis and treatment of hepatitis B. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **33(4)**: 389-400, 2000.

FERREIRA, C.T., DA SILVEIRA, T.R. Hepatites virais: aspectos da epidemiologia e da prevenção. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, **7(4)**: 474-487, 2004.

FEUER, G., GREEN, P.L. Comparative biology of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2. **Oncogene**, **24**: 5996-6004, 2005.

FIGUEIREDO, N.C., PAGE-SHAFER, K.F. E., LIMA., F.E., MIRANDA. E.A. Marcadores sorológicos do vírus da hepatite B em mulheres jovens atendidas pelo Programa de Saúde da Família em Vitória, Estado do Espírito Santo, 2006. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **41(6)**: 590-595, 2008.

FIGUEIRÓ, E.A., SENEFONTE, F.R.A., LOPES, A.H.A., MORAIS, O.O., SOUZA JÚNIOR, V.G., MAIA, T.M., DUARTE, G. Frequência das infecções pelo HIV-1, rubéola, sífilis, toxoplasmose, citomegalovírus, herpes simples, hepatite B, hepatite

- C, doença de Chagas e HTLV I/II em grávidas, do Estado de Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **40**: 181-187, 2007.
- FNUAP. Fundo De Populações Das Nações Unidas. Manual do Multiplicador. **Projeto Amor a vida. .Saúde Reprodutiva –Prevenção das DTSs Aids, FNUAP**, 1997, p.14.
- FOCACCIA , R. **Hepatites Virais : editor científico**. São Paulo: Editora Atheneu, 1997. 387p.
- FONSECA, J.C.F. SOUZA, R.B., TOLEDO, M.L. Prevalence of hepatitis B virus markers within household contacts in the State of Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **36 (5)**: 565-570, 2003.
- FONSECA, J.C.F. Historia Natural da hepatite Crônica B. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **40(6)**: 672-677, 2007.
- FORTUNATO, E.A., SPECTOR, D.H. Regulation of human cytomegalovirus gene expression. **Advances in Virus Research**, **54**: 61–128, 1999.
- FREED, E.O. HIV-1 Gag proteins: Diverse Functions in the Virus Life Cycle. **Virology**, **251**: 1-15, 1998.
- FUJINO, T., NAGATA, Y. HTLV-I transmission from mother to child. **Journal of Reproductive Immunology**, **47**: 197-206, 2000.
- FURNIA, A., LAL, R., MALONEY, E., WIKTOR, S., PATE, E., RUDOLPH, D., WATERS, D., BLATTNER, W., MANNNS, A. Estimating the time of HTLV-I infection following mother-to-child transmission in a breast-feeding population in Jamaica. **Journal of Medical Virology**, **59**: 541-546, 1999.
- GAMIO, X.R. Sexualidad Humana In: **La Sexualidade Humana. México**: Universidade Autonoma del Estado de Mexico. Centro de Investigacion em Ciências Sociales y Humanidades. p147-149, 1998.

- GAYTANT, M.A., STEEGERS, E.A., SEMMEKROT, B.A., MERKUS, H.M., GALAMA, J.M. Congenital cytomegalovirus infections: Review of the epidemiology and outcome. **Obstetrical & Gynecological Survey**, **57**: 245-256, 2002.
- GAYTANT, M.A., GALAMA, J.M., SEMMEKROT, B.A., MELCHERS, W.J., SPORKEN, J.M., OOSTERBAAN, H.P., VAN DOP, P.A., HUISMAN, A., MERKUS, H.M., STEEGERS, E.A. The incidence of congenital cytomegalovirus infections in the Netherlands. **Journal of Medical Virology**, **76**: 71-75, 2005.
- GESSAIN, A., MAHIEUX, R. Epidemiology, origin and genetic diversity of HTLV-1 retrovirus and STLV-1 simian affiliated retrovirus. **Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique**, **93**: 163-171, 2000.
- GRETCH, D. R., KARI, B., RASMUSSEN, L., GEHRZ, R. C., STINSKI, M. F. Identification and characterization of three distinct families of glycoprotein complexes in the envelopes of human cytomegalovirus. **Journal of Virology**, **62**: 875-881, 1988.
- GIR, E., DUARTE, G., MARTINEZ, R., MORIYA, T.M., FIGUEIREDO, J.F.C, COSTA, J.C., MACHADO, A.A. Expressão epidemiológica de outras doenças sexualmente transmissíveis entre portadores de AIDS. **Revista de Saúde Pública**, **28**: 93-99, 1994.
- GIRALDO, P.C.; AMARAL, R.L.G.; GONÇALVES, A.K.; VICENTINI, R.; MARTINS, C.H.; GIRALDO, H.; FACHINI, A.M. Influência da frequência de coitos vaginais e da prática de duchas higiênicas sobre o equilíbrio da microbiota vaginal. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, **27(5)**: 257-262, 2005.

- GIANVECCHIO, R. P., GOLDBERG, T.B. L. Fatores protetores e de risco envolvidos na transmissão vertical do HIV-1. **Caderno de Saúde Pública**, **21**: 581-588, 2005.
- GIRON, C.H., VALDEZ, A.C., TRENEDO, M.Q., PERUGA, A., AVILA, M.H. Características de comportamiento sexual en hombres de la Ciudad de México. **Salud Pública México**, **41**: 95-100, 1999.
- GOLDEBERG, T. B. L., SILVA, C.C. Crescimento e Desenvolvimento Físico dos Adolescentes. In: **Pediatria Clínica**, UNESP, 1ª edição. Petropolis, RJ. p.4-5. 2006.
- GOLDENBERG, P., FIGUEIREDO, M.C.T., SILVA, R.S. Adolescent pregnancy, prenatal care and perinatal outcomes. **Caderno Saúde Pública**, **21**:1077-1086, 2005.
- GONSALBES, H.; GIGANTE, D. Work, schooling, and reproductive health: an ethno-epidemiological study of adolescent women belonging to a birth cohort. **Revista de Saúde Pública**, **22**: 1459-1469, 2006.
- GUINAN, M.E., HARDY, A. Epidemiology of AIDS in women in the United States. **JAMA**, **257**: 2039-2042, 1987.
- GREENE, W.C. The molecular biology of human immunodeficiency virus type 1 infection. *New England Journal of Medicine*, **324**: 308-317, 1991.
- GREENWALD, J.L, BURSTEIN, G.R., PINCUS, J., BRANSON, B. A rapid review of rapid HIV antibody tests. **Current Infectious Disease Reports**, **8**: 125-131, 2006.
- HALL, W.W., KUBO, T., IJICHI, S., TAKAHASHI, H., ZHU, S.W. Humn T cell leukemia/lymphoma virus, type II (HTLV-II): emergence of an important newly recognized pathogen. **Seminars in Virology**, **5**: 165-178, 1994.
- HJELLE, B. Human T-cell leukemia/lymphoma viruses: life cycle, pathogenicity, epidemiology, and diagnosis. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, **115**: 440-450, 1991.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Contagem de População 2007**. Ministério de Planejamento, Orçamento e Gestão. RIO DE JANEIRO, 2007. p. 1-311.

ICTV (**International Committee on Taxonomy of Viruses**). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/index.htm>>. Acessado em 26/02/2007.

INAGAKI, A.D.M., OLIVEIRA, L.A.R., OLIVEIRA, M.F.B., SANTOS, R.C.S., ARAÚJO, R.M., BARRETO, J.A., KARINY, S. P.S., GURGEL, R.Q., MUSSI-PINHATA, M.M., Seroprevalence of antibodies for toxoplasmosis, rubella, cytomegalovirus, syphilis and HIV among pregnant women in Sergipe. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **42**: 532-536, 2009.

ISHAK, R., CAVALCANTE, F., VALLINOTO, A.C.R., AZEVEDO, V.N., ISHAK, M.O.G. HTLV-I associated myelopathy in the Northern Region of Brazil (Belem-Para): serological and clinical features of three cases. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **35**: 243-246, 2002.

ISHAK, R., ISHAK, M.O.G., AZEVEDO, V.N., SANTOS, E.M., VALLINOTO, A.C.R., SARAIVA, J.C.P., CRESCENTE, J.A., HALL, W.W. Detection of HTLV-IIa in blood donors in an urban area of the Amazon region of Brazil (Belém, PA). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **31**: 193-197, 1998.

ISHAK, R., VALLINOTO, A.C.R., AZEVEDO, V.N., LEWIS, M., HALL, W.W., ISHAK, M.O.G. Molecular evidence of mother-to-child transmission of HTLV-IIc in the Kararao village (Kayapo) in the Amazon region of Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **34**: 519-525, 2001.

ISHAK, R., VALLINOTO, A.C.R., AZEVEDO, V.N., ISHAK, M.O.G. Epidemiological aspects of retrovirus (HTLV) infection among Indian populations in the Amazon Region of Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, **19**: 901-914, 2003.

- JANINI, T.M., URIECHTER, M., PERALTA, J.M., VICENTE, ACP., TORRE, ND., PIENIACZEK N.J., LIO, C., RAMOS, A., SORIANO, V.,SCHOCHETMAN, G., RAYFIELD. M.A., PIENIACZEK, D. Horizontal and vertical transmission of human immunodeficiency virus type1 dual infections caused by virus of subtypes B and C. **Journal of Virology**,**74**:1234-1240, 2000.
- JINDAL N, SINGLA N, SHEEVANI, K. R, AGGARWAL, A. Seroprevalence of HIV and other vertically transmitted viral infections among pregnant women of Amritsar (Punjab, North India). **Jornal Tropical Pediatrics**, 54: 145, 2008.
- JOHNSON, L.F., COETZEE, D.J., DORRINGTON, R.E. Sentinel surveillance of sexually transmitted infections in South Africa: a review. **Sexually Transmitted Infectious**, **81**: 287-293, 2005.
- KIESSLICH, D., FRAJI, A.N., CRISPIM, M.A., PEREIRA, R.F., ABRAHIM, N., MARTINHO, S.C., CAMPELLO , T.A.A., VÁSQUEZ, L.S. Prevalence of serologic and molecular markers of hepatitis B virus infection among pregnant women in Amazonas State, Brazil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, **12**: 155-164, 2003.
- KRAJDEN, M., MCNABB, G., PETRIC, M. The laboratory diagnosis of hepatitis B virus. **Canadian Journal of Infect Disease & Medicial Microbiology**, **16**: 65-72, 2005.
- KUMAR, S., TAMURA, K, JAKOBSEN, I.B., NEI, M. MEGA2: **Molecular Evolutionary Genetics Analiyysis software**,Arizona State Univesity, Tempe, Arizona, USA, 2001.
- LANDOLFO, S., GARIGLIO, M., GRIBAUDO, G., LEMBO, D. The human cytomegalovirus. **Pharmacology & Therapeutics**, **98**: 269-297, 2003.
- LAURENTINO R.V., LOPES I.G., AZEVEDO V.N., MACHADO L.F., MOREIRA M.R., LOBATO L., ISHAK M.O., ISHAK R., VALLINOTO A.C. Molecular

characterization of human T-cell lymphotropic virus coinfecting human immunodeficiency virus 1 infected patients in the Amazon region of Brazil.

Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, **100**: 371-376, 2005.

LAZZAROTTO, T., GABRIELLI, L., LANARI, M., GUERRA, B., BELLUCCI, T., SASSI, M., LANDINI, M.P. Congenital cytomegalovirus infection: recent advances in the diagnosis of maternal infection. **Human Immunology**, **65**: 410-415, 2004.

LEE, W.M. Medical progress-Hepatitis B virus infection. **New England Journal of Medicine**, **337**: 1733-1745, 1997.

LE MOS, L.M.D., GURGEL, R.Q.G., FABBRO, A.L.D., Prevalência da infecção por HIV em parturientes de maternidades vinculadas ao SUS, **Revista Brasileira de Ginecologia Obstetricia**; **27(1)**:2005

LEWIS-XIMENEZ, L.L., COIMBRA, A.M., D'ORO, CAVALIERI, A.C.D., CHILELLI, L.A.M., FERREIRA, C.G., TACHIBANA, C.F.Y. Viral hepatitis markers in antepartum and postpartum women in Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **97**: 203-204, 2002.

LEGNIZAMON, G., REECE, E.A. Is serologic screening of all pregnant women for cytomegalovirus warranted? **Obstetrics & Gynecology**, **42**: 49-62, 1997.

LIELL, A.P., WEBER, D., TOSCAN, C. F., FERNANDO., MADALOSSO, L. F. Prevalência do HBsAg em grávidas de Passo Fundo, RS: estudo comparativo entre os sistemas de saúde público e privado. **Arquivos Gastroenterologia**, **46**: 75-77, 2009.

LYNN, W.A., LIGHTMAN, S. Syphilis and HIV: a dangerous combination. **Lancet Infectious Disease**, **4**: 456-466, 2004.

LIGNANI, L.JR., OLIVEIRA, E.L., CARNEIRO, M., GRECO, M., ANDRADE, J., ANTUNES, C.M., GRECO, D.B. Sexually transmitted diseases in homosexual and

- bisexual males from a cohort of human immunodeficiency virus negative volunteers (Project Horizonte), Belo Horizonte, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **95(6)**: 783-785, 2000.
- LIMA, L.H.M., VIANA, M.C. Prevalence and risk factors for HIV, syphilis, hepatitis B, hepatitis C, and HTLV-I/II infection in low-income postpartum and pregnant women in Greater Metropolitan Vitória, Espírito Santo State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, **25**: 668-676, 2009.
- LIVRAMENTO, A., CORDOVA, C.M., TREITINGER, C.S.A. Avaliação do nível de conhecimento dos adolescentes a respeito da transmissão e prevenção das hepatites B e C. **Revista de Patologia Tropical**, **38**: 3, 2009.
- LIW, C.J., KAO, J.H. Hepatitis B virus genotype: what the should clinician know? **Current Hepatitis Reports**, **6**: 17-23, 2007.
- LLEWELYN, M.B. The molecular and cellular biology of the human immunodeficiency virus. **Current Obstetrics & Gynaecology**, **4**: 184-188, 1994.
- MAGALHÃES, T.S. Prevalência da infecção pelo Vírus linfotrófico de células T humanas (HTLV) tipo 1 em grávidas de uma cidade do Recôncavo Baiano. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, **29**: 166-168, 2007.
- MACALINO, G.E., VLAOV, D., COLBY-SANFORD, S. SALAS, C., RICH, J.D. Prevalence and Incidence of Hepatitis B Virus, and Hepatitis C Infections among males In Rhode Island Prisons American. **Journal of Public Health**, **94**: 1218-1223, 2004.
- MAEHAMA, T. Human T cell leukemia virus-1 in pregnancy. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**, **87**: 247-248, 2004.

- MAGALHÃES, M.L.C., FURTADO, F.M., NOGUEIRA, M.B., CARVALHO, F.H.C., ALMEIDA, F.M.L., MATTAR, R., CAMANO, L. Gestação na adolescência precoce e tardia: há diferença nos riscos obstétricos. **Revista Brasileira Ginecologia Obstetricia**, **28**: 446-452, 2006.
- MANAVI, K. A review on infection with human immunodeficiency virus. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology**, **20**: 923-940, 2006.
- MATSUOKA, M., WATANABE, T., KANNAGI, M., BANGHAM, C., GRASSMANN, R., MARRIOTT, S.J., GREEN, P., JEANG, K. The Meeting Report on the 13th International Conference on Human Retrovirology: Human T-Cell Leukemia Virus Research 30 Years after Adult T-Cell Leukemia. **Cancer Research**, **67**: 10638-10641, 2007.
- MILICH, C., HUHES M.K., JONES, J.E. The secreted hepatitis B precore antigen can modulate the immune response to the nucleocapsid: A mechanism for persistence. **Journal of Immunology**, **160**: 2013-2021, 1998.
- MILLER, W. J., MCCULLOUGH, J., BALFOUR, H. H., HAAKE, R. J., RAMSAY, N. K., GOLDMAN, A., BOWMAN, R., & KERSEY, J. Prevention of cytomegalovirus infection following bone marrow transplantation: a randomized trial of blood product screening. **Bone Marrow Transplant**, **7**: 227-234, 1991.
- MIRANDA, A.E., FILHO, R.E., TRINDADE, C.R., GOUVÊA, G.M., COSTA, D.M., OLIVEIRA, T.G., FRANÇA, L.C. DIETZE, R. Prevalence of syphilis and HIV using rapid tests among parturients attended in public maternity hospitals in Vitória, State of Espírito Santo **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **42(4)**: 386-391, jul-ago, 2009

- MIURA, C.S, MIURA, E., MOMBACH, B.A., CHESKY, M. The prevalence of congenital cytomegalovirus infection in newborn infants at an intensive care unit in a public hospital **Jornal de Pediatria**, **82**: 47-49, 2006.
- MOCARSKI, E.S., COURCELLE, C.T. Cytomegalovirus and their replication. **In: Fields Virology. Knipe, D. & Howley P. (eds.)**. Philadelphia, Lippincott, 2001.p. 2629-2673.
- MOURA, E. L., PRAÇA, N. S. Transmissão vertical: expectativas e ações das grávidas soropositiva. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, **14(3)**: 405-413, 2006.
- MUNHOZ, F.M.S. **Experiência e Expectativa da Paternidade na Adolescência Sob a Ótica da Enfermagem**. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) - Curitiba, Universidade Federal do Paraná, 2006. 156p.
- MUNRO, S.C., HALL, B. WHYBIN, L.R., LEADER, L., MAINE, G.T., RAWLINSON, W.D. Diagnosis of and Screening for Cytomegalovirus Infection in Pregnant Women. **Journal of Clinical Microbiology**, **43**: 4713-4718, 2005.
- MUSTAKANGAS, P., SEPPO, S., PIRKKO, A., MARKETTA, A., PENTTIK, K., MARJALEENA, K. Human cytomegalovirus seroprevalence in three socioeconomically different urban areas during the first trimester: a population-based cohort study (2000). **International Journal of Epidemiology**, **29**: 587-591, 2000.
- MUSSI-PINHATA, M.M., YAMAMOTO, A.J. Infecções congênitas e perinatais. **Jornal de Pediatria**, **75**: 15-30, 1999.
- MYLONAKIS, E., PALIOU, M., LALLY, M., FLANIGAN, T.P., RICH, J.D. Laboratory testing for infection with the human immunodeficiency virus: established and novel approaches. **The American Journal of Medicine**, **109**: 568-576, 2000.

- NAUAD, P., ACEBS, L.O. **Infecções Gonocócicas**. In. Doenças Sexualmente Transmissíveis & Aids. Nauad, P. (eds). Porto Alegre, Artes Medicas,1993. p.79.
- NEWELL M.L. Mechanisms and timing of mother to-child transmission of HIV-1. **AIDS**, **12**: 831-837, 1998.
- OLBRICH-NETO, J., MEIRA, D.A. Soroprevalência de vírus linfotrópico de células T humanas, vírus da imunodeficiência humana, sífilis e toxoplasmose em grávidas de Botucatu-São Paulo- Brasil. Fatores de risco para vírus linfotrópico de células T humanas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **37**: 28-32, 2004.
- OLIVEIRA, S.R.,ALVELINO,M.M. Soroprevalencia do virusa linfotropico humano tipo T em grávidas da cidade de Goiania, Brasil. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstreticia**, **28**: 467-482, 2006.
- OLIVEIRA, A. M., LEITE, A.D., SILVA, V.E.A., CHADECKS, C., ZAGO, S.C.S., PRESTES, C., MOLITERNO, R.A. Pesquisa de anticorpos IgG e IgM para citomegalovírus em parturientes e recém-natos do município de Presidente Prudente e região, **24**: 737-739, 2002.
- ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD. Salud y desarrollo del nino y del adolescentes. Disponível em: < http://www.who.int/child6/_adolescenthealth/topics/prevention_care. Acesso em 10/01/2009.
- ORNOY, A., DIAV-CITRIN, O. Fetal effects of primary and secondary cytomegalovirus infection in pregnancy. **Reproductive Toxicology**, **21**: 399-409, 2006.
- PAIVA, V., CALAZANS, G., VENTURI, G., DIAS, R. Age And Condom Use At First Sexual Intercourse of Brazilian Adolescents. **Revista de Saúde Pública**, **42(1)**: 45-53, 2008.

- PANNUTI, C.S., VILAS-BOAS, L.S., ANGELO, M.J., CARVALHO, R.P., SEGRE, C.M. Congenital cytomegalovirus infection. Occurrence in two socioeconomically distinct populations of a developing country. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, **27(2)**:105-107, 1985.
- PANTOJA, A.L.N. Ser alguém na vida: uma análise sócio-antropológica da gravidez/maternidade na adolescência, em Belém do Pará, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, **19**: S335-S343, 2003.
- PERIM, E. B., PASSOS, A.D.C. Hepatite B em grávidas atendidas pelo Programa do Pré-Natal da Secretaria Municipal de Saúde de Ribeirão Preto, Brasil: prevalência da infecção e cuidados prestados aos recém-nascidos. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, **8**: 272-281, 2005.
- PERRIN, L., KAISER, L., YERLY, S. Travel and the spread of HIV-1 genetic variants. **The Lancet Infectious Diseases**, **3**: 22-27, 2003.
- PLACHTER, B., SINZGER, C., JAHN, G. Cell types involved in replication and distribution of human cytomegalovirus. **Advances in Virus Research**, **46**: 195-261, 1996.
- PORTELA, P.C. **Prevalência e diagnóstico laboratorial da infecção pelo HTLV 1/2 em gestantes do Mato Grosso do Sul, no período de 2002 a 2006**. Dissertação (Mestrado Em Ciências da Saúde) Brasília, Universidade de Brasília, 2008. 72p.
- PRIMO, J., SIQUEIRA, I., NASCIMENTO, M.C., OLIVEIRA, M.F., FARRE, L., CARVALHO, E.M., BITTENCOURT, A.L. High HTLV-1 proviral load, a marker for HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis, is also detected in patients with infective dermatitis associated with HTLV-1. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, **42(8)**: 70- 79, 2009 .

- POIESZ, B.J., RUSCETTI, F.W., GAZDAR, A.F., BUNN, P.A., MINNA, J.D, GALLO, R.C. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, 77: 7415-7419, 1980.
- PROIETTI, A.F., CARNEIRO-PROIETTI, A.B.F., CATALAN-SOARES, B.C., MURPHY, E.L. Global epidemiology of HTLV-I infection and associated diseases. **Oncogene**, 24: 6058-6068, 2005.
- RAIMONDO G, POLLICINO T, CACCIOLA I, SQUADRITO G. Occult hepatitis B virus infection. **Journal of Hepatology**, 46: 160-170, 2007.
- REQUEJO, H. I. Z. Worldwide molecular epidemiology of HIV. **Revista de Saúde Pública**, 40: 331-345, 2006.
- RUA & ABRAMOVAY. Avaliação das ações de prevenção às dst/aids e uso indevido de drogas nas escolas de ensino fundamental e médio em capitais brasileiras. Brasília: UNESCO, 2001. 256 p. (Coleção UNESCO).
- SARACENI, C.P. **Vigilância das Hepatites Virais: A Experiência de Vargem Grande Paulista, 1997-1999**. 130p Dissertação (Mestrado em Epidemiologia) – São Paulo, Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2001.
- SANCHES. N.R., FRANÇOSO, L.A. O Adolescente em situação de risco. In: **Tratado de Pediatria**. Lopes FA, & Júnior D.C. (eds). São Paulo, Manolo, p. 418-425. 2007.
- SANTOS, N.S.O., ROMANOS, M.T.V., WIGG, M.D. **Vírus da imunodeficiência humana**. In: Introdução à Virologia Humana. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, , 242 p. 2002.

- SANTOS, F.C., VITVITSKI, L., PARANÁ, L., NETO, J.T., ACUNA, K., JÚNIOR, R.S., Prevalência de infecção pelo VHB em grávidas atendidas em uma maternidade da região Amazônica brasileira. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, **5**: 1-6, 2007.
- SANTOS, D.V, SOUZA, M.M., GONÇALVES, S.H., COTTA, A.C., MELO, L.A., ANDRADE, G.M, BRASILEIRO-FILHO, G. Congenital cytomegalovirus infection in a neonatal intensive care unit in Brazil evaluated by PCR and association with perinatal aspects. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, **42(3)**: 129-132, 2000.
- SBALQUEIRO, R.L., REGGIANI, C.E.G., URBAZETZ, A.A., ANDRADE, R.P., DENIS, J.D.J., CARVALHO, N.S. Estudo da prevalência e variáveis epidemiológicas da infecção pelo HIV em grávidas atendidas na maternidade do Hospital de Clinicas de Curitiba. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, **16**: 40-47, 2004.
- SCARAVELI, N.G. **Prevalência dos Marcadores das Hepatites B e C em Adolescentes de Chapecó**. Dissertação (Mestrado em Farmácia-Análises Clínicas) Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina. 2009. 82p.
- SCHIPPERS, E.F., BEERSMA, M.F.C., LAVRIJSEN, A.P.M., ANNEMIE COLLEN, A., KROES, A.C.M. A case of simultaneous primary HIV-1 and CMV infections. **Journal of Clinical Virology**, **29**: 134–136, 2004.
- SCHRYVER & MEHEUS. **Epidemiologia das DST, situação atual em doenças sexualmente transmissíveis e Aids**. In: Doenças Sexualmente Transmissíveis & Aids. (eds).Paulo Naud, Porto Alegre, Artes Medicas, 1993, p. 5-24.
- SERRA, F., MACHADO, J., NICOLA, M.H., SILVA, M.C.A., JORGE M.C.S., CRUZ, L.E., GIORDANO, M.V.M., SILVA, R.O. Seroprevalence of

- cytomegalovirus infection in pregnant woman of socioeconomically advantaged class from Brazil. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, **21(1)**: 12-15, 2004.
- SEEGER, C., MASON, W.S. Hepatitis B Virus Biology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, **64(1)**: 51-68, 2000.
- SEOW, H.F. Hepatitis B and C in pregnancy. **Current Obstetrics & Gynaecology**, **9**: 216-223, 1999.
- SHIMOTOHNO, K., TAKAHASHI, Y., SHIMIZU, N., GOJOBORI, T., GOLDE, D.W., CHEN, I.S.Y. Complete nucleotide sequence of an infectious clone of human T-cell leukemia virus type II: an open reading frame for the protease gene. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, **82**: 3101-3105, 1985.
- SPINDOLA, T., SILVA, L.F. Perfil epidemiológico de adolescentes atendidas no pré-natal de um hospital universitário. **Revista de Enfermagem**, **13(1)**: 99-107, 2009.
- SIGNORINI, D.J.H.P., MONTEIRO, M.C.M., SÁ, C. A. M, SION, F.S., NETO, H.G.L., LIMA, D.P., MACHADO, J.D.C. Prevalência da co-infecção HIV-sífilis em um hospital universitário da cidade do Rio de Janeiro no ano de 2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **40(3)**: 282-285, 2007.
- SILVA, L.C., GRANATO, C.F.H. **Aspectos peculiares e história natural da hepatite B**. In: Hepatites agudas e crônicas. Silva, L.C. (eds). São Paulo, Sarvier, 2003. p 230-231.
- SILVA, L.C., GRANATO, C.F.H. **Importância e uso clínico dos marcadores virais e sorológicos**. In: Hepatites agudas e crônicas. Silva, L.C. (eds). São Paulo, Sarvier, 2003b. p. 0-79.

SIMMEN, K.A., SINGH, J., LUUKKONEN, B.G.M., LOPPER, M., BITTNER, A., MILLER, N.E., JACKSON, M.R., COMPTON, T., FRUH, K. Global modulation of cellular transcription by human cytomegalovirus is initiated by viral glycoprotein B. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, **98**: 7140-7145, 2001.

SIMON, V., HO, D., ABDOOL KARIM, Q. HIV/AIDS epidemiology, pathogenesis, and treatment. **Lancet**, **368**: 489-504, 2006.

SINASC (Sistemas de Informações sobre Mortalidade e Nascidos Vivos). Disponível em: < [http:// www.datasus.gov.br catalogo .sinasc](http://www.datasus.gov.br/catalogo.sinasc)>. Acesso em: 24/09/2008.

SOARES, V.L., MESQUITA, A.M.T.S., CAVALCANTE, F.G.T., SILVA, Z.P., HORA, V., DIEDRICH, T., SILVA, P.C., MELO, P.G., DACAL, A.R.C., CARVALHO, E.M.F., FELDMEIER, H. Sexually Transmitted Infections in a Female Population in Rural North-East Brazil: Prevalence, Morbidity and Risk Factors. **Tropical Medicine and International Health**, **8 (7)**: 595-603, 2003.

SOUZA, G.F., MAGALHÃES, S.M.M., COSTA, C.M.C., ROCHA FILHO, F.D., MOTA, R.M.S. Soroprevalência e perfil imunofenotípico de células linfóides T em indivíduos soropositivos para o vírus linfotrófico de células T humanas. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, **25(1)**: 33-38, 2003.

SOUZA, H.C A. **Soroprevalencia e Caracterização Molecular da Infecção pelo Vírus Linfotrófico de Células T Humana 1 e 2 em mulheres grávidas, Belém Pará**. 2007. 121p. Dissertação de Mestrado em Biologia de Agentes Infeciosos e parasitários.

SOUZA, M.M.C. **A maternidade nas mulheres de 15 a 19 anos como desvantagem social**. In: Seminário Gravidez Na Adolescência (eds). M. Vieira, M. E. L. Fernandes. 1998. p. 74-91, São Paulo: Associação Saúde da Família.

- SODERBERG-NAUCLER, C., FISH, K. N., NELSON, J. A. Reactivation of latent human cytomegalovirus by allogeneic stimulation of blood cells from healthy donors. **Cell**, **91**: 119– 126, 1997.
- STAGNO, S., PASS, R.F., DWORSKY, M.E. Maternal cytomegalovirus infection and perinatal transmission. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, **25**: 563-576, 1982.
- ST. LOUIS, E., KAMENGA, M., BROWN, C. Risk for perinatal HIV-1 transmission according to maternal immunologic, virologic and placental factors. **The Journal of the American Medical Association**, **269**: 2853, 1993.
- STRAZZA, L., AZEVEDO, R.S., CARVALHO, H.B. MASSAD, E. The vulnerability of Brazilian female prisoners to HIV infection. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, **37**: 771-776, 2004.
- SUCSI, R.C.M. & CARVALHO. **Aids**. In: Tratado de pediatria. Lopes FA, & Júnior D.C., (eds). São Paulo, Manolo, p. 1101-1114. 2006
- SCHWARTZ, S.A., NAIR, M.P.N. Current Concepts in Human Immunodeficiency Virus Infection and AIDS. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, **6**: 295-305, 1999.
- TAKIUTI, A.D. **Programa de atendimento integral ao adolescente; uma proposta de trabalho**. In: Tratado de adolescência um estudo multidisciplinar. Cruz, M.S. (eds). Rio de Janeiro, Editora Cultura Medica, p. 32-47. 1995
- TAYLOR, G. P., BODÉUS, M., COURTOIS, F., PAULI, G., DEL MISTRO, A., MACHUCA, A., PADUA, E., ANDERSSON, S., GOUBAU, P., CHIECO-BIANCHI, L.,SORIANO, V., COSTE, J., ADES, A. E., WEBER, J.N. The seroepidemiology of human T lymphotropic viruses: types I and II in Europe: a prospective study of pregnant women. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndrome**, **38**: 104-109, 2005.

- TAMER, G.S., DUNDAR, D., CALÝSKAN, E., Seroprevalence of Toxoplasma gondii, rubella and cytomegalovirus among pregnant women in western region of Turkey. **Clinical & Investigative Medicine**, **32**: 43-47, 2009.
- TANGY, F. **Molecular Biology of HTLV-I**. In: HTLV, truths and questions. Zaninovic, V. (eds). Colombia, Cali, Feriva Editores,. p. 1-13. 1996.
- TANURI, A.; VICENTE, A. C. P.; OTSUKI, K.; RAMOS, C. A.; FERREIRA O. C.; SCHECHTER, M.; JANINI, L. M.; PIENIAZEK, D.; RAYFIELD, M. A. Genetic variation and susceptibilities to protease inhibitors among subtype b and f isolates in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, **43**: 253-258, 1999.
- TAVARES-NETO, J., ALMEIDA, D., SOARES, M.C., UCHOA, R., VIANA, S., DARUB, R., FARIAS, E., ROCHA, G., VITVITSKI, L., PARANÁ, R. Seroprevalence of hepatitis B and C in the Western Brazilian Amazon region (Rio Branco, Acre): a pilot study carried out during a hepatitis B vaccination program. **Journal Brazilian Infected Disease**, **8**: 133-139, 2004.
- TORO, C., BENITO, F., AGUILERA, A., BASSANIA, S., RODRÍGUEZ, C., CALDERON, E., CABALLERO, E., ALVAREZ, P., GARCÍA, J., RODRÍGUEZ-IGLESIAS, M., GUELAR, A., DEL ROMERO, J., SORIANO, V. Infection with human T lymphotropic virus type I in organ transplant donors and recipients in Spain. **Journal of Medical Virology**, **76**: 268-270, 2005.
- TONIAL, G.C. **Prevalência dos marcadores das hepatites B e C em adolescentes de Itajaí-SC**. Dissertação (mestrado). Programa de Pós-Graduação em Farmácia - Universidade Federal de Santa Catarina, 2009.
- TURNER, B.G., SUMMERS, M.F. Structural Biology of HIV. **Journal of Molecular Biology**, **285**: 1-32, 1999.

UNAIDS/WHO. 2006 Report on the global AIDS Epidemic. Disponível em: <<http://www.unaids.org>>. Acesso em 27/11/2006.

UNAIDS/WHO. Global Summary of the HIV/AIDS epidemic 2007. Disponível em: <<http://www.unaids.org>>. Acesso em: 10/11/2009.

UNAIDS/WHO. Inter-agency task team on young people of the evidence from developing countries- 2006. Disponível em : <<http://www.unaids.org>>. Acesso em: 01/11/2008.

UNAIDS/WHO. Preventing hiv/aids in young people a systematic review of the evidence from developing countries 2007. Disponível em: <<http://www.unaids.org>>. Acesso em: 01/11/2008.

UNICEF. Fundo Das Nações Unidas Para Infância, Adolescência, Escolaridade Profissionalização e Renda. Manual de proposta de políticas públicas para adolescentes de baixa escolaridade e baixa renda Brasília: p. 7-10, 2002

UNICEF. Fundo Das Nações Unidas Para Infância. Situação mundial da infância, 2008. Disponível em: <<http://www.unicef.org.brasil.org>>. Acesso em: 29/11/2007.

URETA-VIDAL, A., GESSAIN, A., YOSHIDA, M., TEKAIA, F., GARIN, B., GUILLEMAIN, B., SCHULZ, T., FARID, R., DE THÉ, G. Phylogenetic classification of human T cell leukaemia/lymphoma virus type I genotypes in five major molecular and geographical subtypes. **Journal of General Virology**, **75**: 3655-3666, 1994.

VALLINOTO, A.C.R., AZEVEDO, V.N., SANTOS, D.E.M., CANICEIRO, S., FCL MESQUITA, F.C.L., HALL, W.W., ISHAK, M.O.G., ISHAK, R. Serological Evidence of HTLV-I and HTLV-II Coinfections in HIV-1 Positive Patients in Belém, State of Pará, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **93(3)**: 407-409, 1998.

- VALLINOTO, A.C.R., ISHAK, M.O.G., AZEVEDO, V.N., VICENTE, A.C.P., OTSUKI, K. HALL, W.W., ISHAK, R. Molecular epidemiology of human T-lymphotropic virus type II infection in amerindian and urban populations of the Amazon region of Brazil. **Human Biology**, **74**: 633-644, 2002.
- VALLINOTO, A.C.R., MUTO, N.A., PONTES, G.S, MACHADO, L.F.A, AZEVEDO V.N., SANTOS, S.E.B, SANTOS, A.K.C.R, ISHAK, M.O.G., ISHAK, R. Serological and molecular evidence of HTLV-I infection among Japanese immigrants living in the Amazon region of Brazil. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, **57**: 156-159, 2004.
- VALLINOTO, A.C.R., PONTES, G.S., MUTO, N.A., LOPES, I.G.L., MACHADO, L.F.A., AZEVEDO, V.N., CARVALHAES, F.A.PL., SANTOS, S.E.B., GUERREIRO, J.F., ISHAK, M.O.G., ISHAK, R. Identification of human T-cell lymphotropic virus infection in a semi-isolated Afro-Brazilian quilombo located in the Marajó Island (Pará Brazil). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **101(1)**: 103-105, 2006.
- VAN DYKE, R.B., HENEINE, W., PERRIN, M.E., RUDOLPH, D., STARSZAK, E., WOODS, T., SWITZER, W.M., KAPLAN, J.E. Mother-to-child transmission of human T-lymphotropic virus type II. **The Journal of Pediatrics**, **127**: 924-928, 1995.
- VIANA, S.O., PARANA, R., MOREIRA, R.C., COMPRI, A.P., MACEDO, V. High prevalence of hepatitis b virus and hepatitis d virus in the Western Brazilian Amazon. **Jornal de Medicina Tropical**, **73(4)**: 808–814, 2005.
- WEIRICH, J. **Infecção congênita pelo citomegalovírus: estudo realizado na Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará**. Dissertação (Mestrado Em Medicina Tropical)-Belém -Universidade Federal do Pará 1998. 120p.

WHITE, D.O., FENNER, F.J. **Medical Virology**. California, Academic Press, 1994. 603p.

VIDAL, N.; KOYALTA, D.; RICHARD, V.; LECHICHE C.; NDINAROMTAN, T.; DJIMASNGAR, A.; DELAPORTE, E.; PEETERS, M. High Genetic Diversity of HIV-1 Strains in Chad, West Central Africa. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **33**: 239–246, 2003.

VIDAL, N., MULANGA, C., BAZEPEO, S., LEPIRA, F., DELAPORTE, E., PEETERS, M. Identification and molecular characterization of subtype A4 in Central Africa. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **22**: 182-187, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Adolescents Health**. Disponível em: <http://WHO.INT/CHILD_adolescents /healt topics /prevention _care adolescents /en/index.html>. Acesso em: 05/03/2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **10 facts on sexually transmitted infections**. Disponível em: < <http://www.who.int/features/factfiles/sexuallytransmitted diseases/en/index.htm>>. Acesso em: 22/10/2008.

YAMAMOTO, A.Y., FIGUEIREDO, L.T.M., MUSSI-PINHATA, M.M. Prevalência e aspectos clínicos da infecção congênita por citomegalovírus. **Jornal de Pediatria**, **1**: 23-28, 1999

YDY, A.R.R., FERREIRA, D., SOUTO, F. J. D., FONTES, C. J. F., Prevalência da infecção pelo vírus linfotrópico humano de células T - HTLV-1/2 entre puérperas de Cuiabá, Estado de Mato Grosso, 2006. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, **4**: 228-232, 2009.

ZHANG, M., WILBE, K., WOLFE, N.D., GASCHEN, B., CARR, J.K., LEITER, T. HIV type 1 CRF13_cpx revisited: identification of a new sequence from Cameroon

and signal for subsubtype J2. **AIDS Research Human Retroviruses**, **11**: 955-960; 2005.

ZELLA, D., MORI, L., SALA, M. Human T-cell leukaemia lymphoma virus and type II infection in Italian drug abusers. **Lancet**, **336**: 575- 576, 1990.

ANEXO 1

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Estou sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa que está sendo desenvolvida pelas seguintes instituições: Universidade Federal do Pará e Unidade de Referência Materno Infantil Adolescente – SESPA. Esta pesquisa servirá como requisito para a tese de doutorado da médica Aubaneide Batista Guerra, matriculada no Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará cujo nome é **Soroprevalência e epidemiologia molecular de agentes virais identificados em adolescentes grávidas atendidas em um centro de referência do Sistema Único de Saúde da cidade de Belém, Pará** que será desenvolvido no Laboratório de Virologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará.

Para que eu decida em participar ou não da pesquisa me foram prestadas as seguintes informações: O pesquisador responsável pelo projeto é o Prof. Dr. Ricardo Ishak, Biomédico, Professor Titular da Universidade Federal do Pará.

- O objetivo da pesquisa é descrever a ocorrência de infecções virais e bacterianas adolescentes grávidas matriculadas no pré-natal de risco da UREMIA
- Durante a pesquisa o paciente deverá responder a um questionário e depois será submetida a coleta de sangue para exame de laboratório
- Essa pesquisa não oferece riscos biológicos, porque as práticas são de uso rotineiro. No entanto, algum desconforto pode ocorrer, tal como vermelhidão no local do braço em que será feita a colheita do sangue. Uma pequena quantidade de sangue (10mL) será colhida e, posteriormente, estocada a -20°C no Laboratório de Virologia da UFPA para pesquisas futuras, caso seja permitido pelo participante.
- Toda nova pesquisa a ser feita com o material estocado será submetida para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa de uma instituição credenciada.
- Serão utilizados materiais esterilizados descartáveis, como agulhas e seringas, não oferecendo risco de contaminação para a pessoa.
- Ninguém é obrigado a participar da pesquisa, assim como qualquer pessoa poderá deixar a pesquisa no momento que quiser, pois não haverá prejuízo pessoal por esta causa.
- Esta pesquisa não oferece qualquer possibilidade de ajuda financeira aos voluntários que participarem desta pesquisa, e não haverá nenhum tipo de despesas para participação da pesquisa. O grande benefício desta pesquisa para todos os que participam, é possibilitar um melhor entendimento infecções virais em grávidas adolescentes, as possíveis co-infecções e orientar condutas clínicas e ou terapêuticas para os casos de infecções sintomáticas e assintomáticos dos adolescentes grávidas com sorologia positiva para as viroses pesquisadas.
- O resultado deste trabalho será convertido em benefício para todos os que participarem através da realização dos testes sorológicos e auxílio dos órgãos competentes caso necessário.
- A participação na pesquisa é sigilosa, isto significa que, somente os pesquisadores ficarão sabendo de sua participação. Os dados utilizados na pesquisa terão uso exclusivo neste trabalho, sem a identificação individual do participante.

Prof. Dr. Ricardo Ishak

Aubaneide Batista Guerra (CRM 1795)

Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Patologia, Laboratório de Virologia, Rua Augusto Corrêa nº1 – Guamá, Fone/fax: (91) 3201-7587

Comitê de Ética em Pesquisa (CEP): Rua Augusto Correa s/n Complexo de salas de aula, sala nº 14
Tel: 3201-8028 e-mail: cepccs@ufpa.br

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Declaro que li as informações acima sobre a pesquisa, que me sinto perfeitamente esclarecido (a) acerca do conteúdo da mesma, assim como seus riscos e benefícios. Declaro ainda que, por minha livre vontade, aceito participar da pesquisa cooperando com a coleta de material para exame, permitindo que o mesmo seja armazenado para pesquisas futuras.

Belém, ____/____/____

Assinatura da participante

Assinatura do Responsável

ANEXO 2

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO

Número:

Prontuário:

Data da coleta de dados: ___/___/___

Procedência: () Capital () Interior () Fora do Estado

Estado: _____

Município: _____ Bairro: _____

1. Data de nascimento: ___ / ___ / ___

Idade: ___ Idade da Mãe: ___

2. Profissão: _____

3. Peso da paciente.....

4. Com quantos meses de gravidez você está?

_____ Meses

5- Vc foi vacinada p/hepatite B? simnão

.....

não sei..... todas as dose.....?

5.1- Já teve hepatite? 1.Sim 2. Não

Qual? 1.HAV 2.HBV 3.HCV

4. Não sabe

5.2. Diagnóstico clínico? 1.Sim 2. Não

Diagnóstico Laboratorial? 1.Sim 2. Não

6-Vc já fez transfusão de sangue ou hemoderivado? Sim---- não----- não sei

7. Quando você iniciou o pré-natal ?

() 1° mês da gravidez

() 2° mês da gravidez

() 3° mês gravidez

() 4° ao 5° mês gravidez

() 6° ao 7° mês gravidez

8. Estado Civil:

() Casada ou amigada () Separada () Viúva (

) Outros

9-Condições de moradia

vivem em casa separada, () vivem

juntos ()

mãe () pai () sogra () outros ()

10. Você continua estudando? ()sim ()não

11. Qual o seu grau de escolaridade:

A- () Não alfabetizado;

B- () médio completo

C- () fundamental incompleto;

D- () fundamental completo

E- () médio incompleto;

F- () universitário

13.→Você abandonou a escola por causa da gravidez ?

() Sim () Não

14. Pretende retornar quando o bebe nascer?

() Sim () Não Não Sei ()

15. Já teve outra gravidez?

() Sim Quantas? _____

() Não

16. Quantos anos você tinha quando ficou grávida a primeira vez? _____ anos

17. Fez pré-natal de quantos? _____

18. Tem filhos?

() Sim Quantos? _____

() Não

19. Amamentou?

() Sim () Não

20. Já teve aborto?

() Sim Se sim: () Espontâneo () Provocado.

() Não

21- Você tem tatuagens ?sim não _____

22. Voce tem pircingng? Sim não

() Sim () Não Quando? _____

Agora necessitamos de algumas informações mais íntimas para entender melhor a saúde reprodutiva

23. Idade que teve sua primeira relação sexual com penetração? -----anos não sabe ()

24. Com quem foi esta Primeira relação?

() Companheiro ou marido

() Namorado

() Amigo

() Parente

() Ficante

() Estupro

() Outros

25. Que idade tinha esta pessoa?

_____ Anos () Não sabe

26. Nesta primeira relação vocês usaram algum método anticoncepcivo?

() Sim () Não () Não lembra () Não

sabe

27. Qual método você usava para evitar a gravidez?

() Pílula () DIU () Injeção () Norplant diaframa

() Camisinha () Coito interrompido () Na coxas

() Relação anal () Nenhum () Outro

28. Com que frequência você, normalmente usava camisinha?

() Sempre () Às vezes () Nunca uso

29. Porque razão não usou nenhum método?

() Não penso sobre isto

() Quero ter um bebê

() Não dá tempo

() Penso que não acontecerá gravidez

() Meu parceiro não quis

- () Não tinha
 () Parceiro não tem risco de passar aids é saudável e fiel
 () Você é mulher e tem vergonha de pedir para ele usar
 () Você é mulher o homem é quem decide se usa ou não
 () Você não conhece camisinha
 () Você não sabe usar camisinha
 () Você perde o tesão na hora de colocar a camisinha
 () Outros

30. Que doenças você já ouviu falar que pode ser transmitida na relação sexual? (deixar ele falar)

- () Sífilis () pneumonia, () Gonorréia
 asma ()
 () AIDS () Herpes () Hepatite B ()
 Citomegalovírus () Nenhuma)diarréia ()
 asma ()
 () Outras. Especifique: _____

31. Você teve alguma destas?

- () Sim () Não

32. Fez tratamento?

- () Sim () Não

33 Quando teve, informou ao seu parceiro?

- () Sim () Não

34. Como elas são transmitidas? (deixar ele falar)

- () Relação sexual () Através de toalhas ()
) Assento sanitário () Tomar banho de piscina ()
) Não sabe explicar () Por mosquito () Outra
 resposta. tosse() Especifique: _____

35. Você sabe quais são transmitida pela mãe e podem causar problemas para o bebê?

- () Sífilis () asma(), rota vírus ()
 pnemonia ()
 Gonorréia () AIDS () Herpes () Hepatite B ()
) Citomegalovírus () Nenhuma () ()
 pnemonia ()
 Outras. Especifique: _____

36. O que deve ser feito para evitá-las ?

- () Usar camisinha na relação sexual
 () Não compartilhar seringas
 () Não tocar no sangue ou ferida do outro
 () Todas as três afirmativas acima
 () Não ter relação sexual
 () Usando métodos contraceptivos (pílulas, DIU,
 diafragma () Não ter relações sexuais com
 prostitutas e homossexuais
 () Não soube responder
 () Outras respostas. Especifique: _____

37. Você sabe como é transmitida a AIDS:

- () Sim () Não
 () uma seringa/agulhas são usadas por mais de
 uma pessoa, se ela é portadora de HIV
 () através da relação sexual com pessoas
 contaminadas
 () através de relação sexual
 () através da mãe para o filho
 () transmitida pelo beijo
 () Quando usa assento sanitário
 () Não tocar na ferida ou lesão do outro
 () Não sabe explicar com é transmitida
 () Outras explicações.
 Especifique: _____
 () Outros especifique

38. Quando você tem dúvida quanto ao tema relacionado ao sexo quem você pergunta a alguém ?

- Sim () não ()
 () Pai
 () Mãe
 () Avós
 () Amigos
 () Vizinho
 () Professor médico / profissional da saúde
 () Ninguém
 () Companheiro
 () Parente.

Qual? _____

39. Você sente orgasmo nas suas relações sexuais? (explicar o que é orgasmo)

- () Sempre () Às vezes () Muito raro ()
 Nunca

40. Qual a frequência de suas relações sexuais quando você tem parceiro?

- 1 () Uma vez por semana; 2 () Duas vezes
 por semana; 3 () Três vezes por semana; 4 ()
 Quatro vezes por semana; 5 () Cinco vezes
 por semana; 6 () seis vezes por semana 7, ()
 todos os dias.

41. A sua preferência sexual:

- () Heterossexual () Bissexual () homossexual

42. Parceiro(s) de (ou em) outro(s) estado(s)?

- () Sim () Não () Não sabe

Se sim, quais estados: _____

43. Parceiro(s) de (ou em) outro(s) país(es)?

- () Sim () Não () Não sabe

Se sim, quais estados: _____

44. Com quantas pessoas diferentes você transou nestes últimos 12 meses?

- () Uma a 2 pessoas () De 3 a 5 a pessoas
 () De 6 a 10 pessoas () Mais de 10 pessoas

45. Motivos para não usar a camisinha ?

- () Parceiro não tem risco de passar AIDS é
 saudável e fiel
 () Você é mulher e tem vergonha de pedir para
 ele usar
 () Você é mulher, o homem é quem decide se
 usa ou não
 () Você não conhece camisinha
 () Você não sabe usar camisinha
 () Você perde o tesão na hora de colocar a
 camisinha
 () Você perde o tesão na hora de colocar a
 camisinha
 () Não tenho acesso (dinheiro ou aonde pegar)
 () nenhuma alternativa

46. Você sabe o que é período fértil?

- () Sim () Não

47. Mantém relações sexuais durante este período fértil? () Sim () Não

48. Já usou algum tipo de droga? () sim () Não ()

- Quais: () álcool () cigarro ()
 maconha () Cola; () outras: _____

49. Uso de droga endovenosa (injetável) alguma vez

() Sim, mas não quer comentar () Sim
 () Não () Não quer
 comentar

50. Se sim: Há quanto tempo faz uso de drogas endovenosas? _____ Anos

1. Parou? () Sim () Não

2. () Ano do último uso: _____

Como você costumava fazer uso de seringa e agulha?

() Sempre sozinho

() dividia com uma pessoa fixa

() dividia com mais de uma pessoa

51. Você já fez uso de drogas injetáveis com seringas ou agulhas compartilhadas com pessoas que são de, ou, normalmente viajam para outros estados?

() Sim () Não () Não sabe

Se sim, quais estados: _____

52. Pessoas que são de, ou, normalmente viajam para outros países?

() Sim () Não () Não sabe

Se sim, de onde: _____

53-Mantem ou já manteve relação sexual

() Com usuário de drogas não-injetáveis

() Com usuário de drogas injetáveis

() Com parceiro(a) transfundido

() Com parceiro hemofílico () Com parceiro(a)

() com múltiplos parceiros (promíscuo).

() com parceiro(a) portador de HIV

54.Sexo anal:

() Sempre () Às vezes () Nunca () Não quer comentar () Não se aplica

55. Sexo com garotos de programa :

() Sim () Não () Não sabe

56-Já fez teste para AIDS?

() Sim () Não () Não sabe

57- História de DST: Sim Não

Frequência: 01 01 a 05

Mais de 05

Quais lembra: Diagnóstico clínico:

Sim Não

Diagnóstico laboratorial:

Sim Não

ANEXO 3



Parecer de Aprovação nº 0013/2009
Protocolo CEP/IEC - Nº 016/2009
CAAE: 0019.0.072.000-09

Ananindeua/PA, 30 de junho de 2009.

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM HUMANOS

“Soroprevalência e epidemiologia molecular de agentes virais identificados em adolescentes grávidas atendidas em Centro de referência do Sistema Único de Saúde da cidade de Belém, Pará”.

Projeto:

Pesquisador Responsável: **AUBANEIDE BATISTA GUERRA**

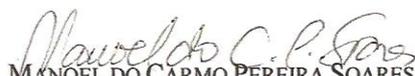
Conforme decisão do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, cientificamos que o projeto em epigrafe foi considerado **aprovado**.

Recomendamos a coordenação que mantenha atualizados todos os documentos pertinentes ao projeto.

Este CEP se incumbirá dos procedimentos de acompanhamento preconizados pela Resolução 196/96 e suas complementares, do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde.

Deverá ser encaminhado relatório anual e, ao final, elaborado um relatório consolidado, incluindo os resultados finais da pesquisa, em um prazo máximo de 60 (sessenta) dias, após a finalização da pesquisa.

Atenciosamente,


MANOEL DO CARMO PEREIRA SOARES
Coordenador do CEP/IEC