



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**SOROEPIDEMIOLOGIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR
DA INFECÇÃO PELO VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T
HUMANAS 1 e 2 (HTLV-1/2) EM MULHERES GESTANTES NA
CIDADE DE BELÉM, PARÁ**

HELEN CRISTIANE ARAÚJO SOUZA

Belém-Pará
2007

HELEN CRISTIANE ARAÚJO SOUZA

**SOROEPIDEMIOLOGIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR
DA INFECÇÃO PELO VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T
HUMANAS 1 e 2 (HTLV-1/2) EM MULHERES GESTANTES, NA
CIDADE DE BELÉM-PA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos R. Vallinoto.

Belém-Pará

2007

Souza, Helen Cristiane Araújo

Soroprevalência e Caracterização Molecular da infecção pelo Vírus Linfotrópico de Células T Humanas 1 e 2 (HTLV-1/2) em mulheres gestantes, Belém-Pará, 2007, 121p, Dissertação de Mestrado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

1. HTLV-1/2 2. Gravidez 3. Soroprevalência 4. Caracterização Molecular

HELEN CRISTIANE ARAÚJO SOUZA

SOROEPIDEMIOLOGIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DA INFECÇÃO
PELO VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS 1 e 2 (HTLV-1/2) EM
MULHERES GESTANTES NA CIDADE DE BELÉM, PARÁ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Rosário Vallinoto
Departamento de Patologia, UFPA

Banca Examinadora: Prof. Dr. Ricardo Ishak
Departamento de Patologia, UFPA

Prof. Dr. Luiz Fernando A. Machado
Departamento de Patologia, UFPA

Prof. Dr. José Alexandre Rodrigues Lemos
Departamento de Genética, UFPA

Prof^a Dra. Marluísa O. Guimarães Ishak (suplente)
Departamento de Patologia, UFPA

Belém, 16 de outubro de 2007

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Joentina e Walfredo (*in memoriam*) e irmãos Waldney, Alan e Alexandre, por todo amor, carinho e compreensão dedicados a mim ao longo da minha vida.

As minhas cunhadas (irmãs de coração) Merían e Valmira e ao meu afilhado Ian, com todo o carinho.

EPÍGRAFE

"A percepção do desconhecido é a mais fascinante das experiências. O homem que não tem os olhos abertos para o misterioso passará pela vida sem ver nada."

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado a oportunidade de realizar esse trabalho e por ter propiciado grandes momentos em minha vida. Nele busco inspiração e forças para enfrentar os obstáculos que nos são postos dia a dia.

Ao meu orientador Antônio Carlos Vallinoto, por ser um exemplo de competência e de dedicação em sua vida acadêmica. Obrigada pela paciência, pelos ensinamentos, disponibilidade, amizade e acima de tudo obrigada por acreditar na realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Ricardo Ishak que me ensinou a ser crítica do ponto de vista científico e por ter-me mostrado a importância da história na evolução da ciência, particularmente no que diz respeito à poliomielite e vacina inventada por Sabin. Devo confessar que antes de conhecê-lo não gostava de história.

Ao Prof. Dr. Luís Fernando por sempre ter-se mostrado disponível em tirar não somente minhas dúvidas, mas dos alunos de modo geral, além de alegrar os nossos dias, tornando o trabalho mais prazeroso.

À Profa. Ms. Vânia Azevedo pelo apoio e incentivo na realização desse trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Virologia que me acolheram e me deram suporte quando precisei. Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos aos amigos Aubaneide, Deivid, Di Paula, Érika, Felipe, Giselle, Iran, Izete, Jackeline, Jamilla, Leonardo, Luana, Lucinda, Maria Helena, Núbia Caroline, Paula, Rafaela, Regiane, Renata, Sandra e Tany. A vocês devo os meus melhores momentos ao longo desses dois anos.

Às grandes amigas, Ethienne Santos, Flávia Oliveira e Rosimar Martins que também compartilharam dos meus momentos de alegria, mas que sempre estiveram comigo nos momentos mais difíceis, me dando força e torcendo para que tudo desse certo, além de terem contribuído na parte prática desse trabalho. A vocês meu muitíssimo obrigada.

Aos amigos do mestrado Aldair, Anderson, Anna Elisabeth, Ivina, Luciana, Joaquim, Ranilda, Renata, Ronaldo, Taciana e Valéria com quem vivi momentos de aperto, mas também de muitas alegrias.

Aos amigos formados ainda na graduação Daniela Soares, Paulo Mendes e Susan Oliveira pela força e por terem compreendido o meu distanciamento durante esse período.

À minha família, pelo amor, carinho, cumplicidade, preocupação e onde eu sempre encontrei apoio e conforto em momentos de grandes dificuldades.

À minha prima Andreza pelo apoio e presença constante em minha vida.

Às pacientes que compreenderam a finalidade do estudo e concordaram em participar da pesquisa.

Às técnicas de laboratório Antoniete Leal e Cleide Borges pelo auxílio prestado durante o período de coleta das amostras.

À UFPA e a CAPES pelo suporte financeiro concedido a mim para que eu pudesse realizar a pesquisa.

Enfim, a todos que contribuíram de forma direta ou indireta na realização desse trabalho.

OBRIGADA!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	8
RESUMO	9
ABSTRAT	10
1 INTRODUÇÃO	11
1.1 FAMÍLIA <i>RETROVIRIDAE</i>	11
1.2 VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS (HTLV).....	12
1.3 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DO HTLV.....	14
1.4 ORGANIZAÇÃO GENÔMICA DO HTLV.....	15
1.5 CICLO DE REPLICAÇÃO DO HTLV.....	21
1.6 MODOS DE TRANSMISSÃO DO HTLV.....	23
1.7 VARIABILIDADE GENÉTICA DO HTLV.....	26
1.8 PATOLOGIAS ASSOCIADAS AO HTLV.....	27
1.9 EPIDEMIOLOGIA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DO HTLV.....	29
1.10 A INFECÇÃO PELO HTLV NA GRAVIDEZ.....	39
1.11 OBJETIVOS.....	45
1.11.1 Objetivo Geral	45
1.11.2 Objetivos Específicos	45
2 MATERIAL E MÉTODOS	46
2.1 POPULAÇÃO INVESTIGADA.....	46
2.2 MÉTODOS LABORATORIAIS.....	46
2.2.1 Ensaio imunoenzimático -ELISA	47
2.2.2 Extração de DNA	47
2.2.3 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e Análise de Polimorfismo por Endonuclease de Restrição (RFLP)	48
2.2.3.1 Amplificação do Gene <i>pX</i> e análise por RFLP.....	49
2.2.3.2 Amplificação do gene <i>env</i> e análise por RFLP.....	50
2.2.3.3 Amplificação da região 5' <i>LTR</i> do HTLV-1.....	51

2.2.3.4	Amplificação da região 5' <i>LTR</i> do HTLV-2.....	52
2.2.4	Eletroforese.....	53
2.2.5	Purificação do produto da PCR.....	53
2.2.6	Seqüenciamento do ácido nucleotídico.....	53
2.2.6.1	Precipitação do DNA Seqüenciado.....	55
2.2.6.2	Eletroforese do DNA Seqüenciado.....	55
2.3	ANÁLISE DAS SEQÜÊNCIAS NUCLEOTÍDICAS.....	55
2.3.1	Edição e Alinhamento das Seqüências.....	55
2.3.2	Análise Filogenética.....	56
2.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	57
3	RESULTADOS.....	57
4	DISCUSSÃO.....	71
5	CONCLUSÕES.....	88
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	89
	ANEXOS	

LISTA DE FIGURAS

	página
Figura 1 - Representação esquemática da estrutura morfológica do HTLV.....	14
Figura 2 - Representação esquemática do genoma do HTLV.....	17
Figura 3 - Ciclo Replicativo do HTLV.....	22
Figura 4 - Distribuição geográfica do HTLV-1/2 e STLV-1.....	30
Figura 5 - Fragmento amplificado de 159 pb da região <i>pX</i>	58
Figura 6 - Produto da digestão enzimática com <i>TaqI</i> a partir do fragmento de 159 pb da região <i>pX</i>	59
Figura 7 - Produto da amplificação do fragmento de 630 pb da região <i>env</i> do HTLV-2	59
Figura 8 - Produto da digestão enzimática com <i>XhoI</i> do fragmento de 630 pb da região <i>env</i> do HTLV-2.....	60
Figura 9 - Fragmento amplificado de 800 pb da região 5' <i>LTR</i> do HTLV-1.....	61
Figura 10- Fragmento amplificado de 788 pb da região 5' <i>LTR</i> do HTLV-2.....	61
Figura 11- Árvore filogenética enraizada mostrando as relações filogenéticas entre as cepas de HTLV-1 isoladas no presente estudo com outras cepas disponíveis no <i>GenBank</i>	64
Figura 12- Árvore filogenética enraizada mostrando a relação filogenética entre a cepa de HTLV-2 isolada no presente estudo com outras cepas disponíveis no <i>GenBank</i>	65

RESUMO

A infecção pelo HTLV-1/2 já foi investigada em diversas populações, mostrando prevalência variável conforme a área geográfica, grupos étnicos e subpopulações analisadas. Em estudos brasileiros foi observada uma maior prevalência nos Estados da Bahia e do Pará. O presente estudo teve como objetivo avaliar a prevalência do HTLV em mulheres grávidas na cidade de Belém, Pará, por meio de técnicas sorológicas e moleculares. Foram coletadas 1.027 amostras de sangue e alíquotas de plasmas foram testadas para a presença de anticorpos anti-HTLV-1/2, utilizando o método imunoenzimático do tipo ELISA. A confirmação da infecção e diferenciação dos tipos e subtipos virais foi realizada por meio da Reação em Cadeia mediada pela Polimerase em duas etapas (*Nested* PCR) através da amplificação gênica das regiões *pX*, *env* e *5'LTR* seguido da análise de RFLP e seqüenciamento. Foram detectados seis (0,58%) casos de sororreatividade para o HTLV que posteriormente foram confirmados pela amplificação de um fragmento de 159 pb da região *pX*. A análise de RFLP com a enzima *TaqI* mostrou que quatro (66,7%) amostras eram positivas para HTLV-1 e duas (33,3%) para HTLV-2. Uma das amostras HTLV-2 teve o fragmento de 630 pb do gene *env* amplificado. A análise com a endonuclease *XhoI* mostrou a presença de um perfil de RFLP característico dos subtipos HTLV-2a/2c. Duas amostras HTLV-1 e uma HTLV-2 tiveram a região *5'LTR* amplificada e seqüenciada. Por meio da análise filogenética foi possível classificar as amostras HTLV-1 como Cosmopolita Transcontinental e a HTLV-2 como pertencente ao subtipo HTLV-2c. Esse estudo mostra a relevância de se introduzir o teste para HTLV na triagem pré-natal, a fim de reduzir transmissão vertical e horizontal em nosso estado.

ABSTRACT

HTLV-1/2 infection was already investigated in several populations, showing variable prevalence according to the geographical area, ethnic groups and analyzed subpopulations. In Brazilian studies a larger prevalence was observed in the States of Bahia and Pará. The present study aimed to evaluate the prevalence of HTLV in pregnant women in the Belém city, Pará, through serologicals and molecular assays. One thousand and twenty-seven (1.027) blood samples were collected and plasma aliquots were tested for the presence of antibodies anti-HTLV-1/2, using enzyme immunoassay ELISA (*Ortho Diagnostic Systems Inc., USA*). The confirmation of the infection and types and subtypes differentiation was determined by a Nested Polymerase Chain Reaction (*Nested PCR*) targeting the *pX*, *env* and *5'LTR* regions followed by RFLP analysis and sequencing of the products amplified. It were detected six (0,59%) cases of seroreactivity for anti-HTLV that were confirmed by the amplification of a 159 pb fragment from the *pX* region. The RFLP analysis with the enzyme *TaqI* showed that four (66,7%) samples were positive for HTLV-1 and two (33,3%) for HTLV-2. One out of the HTLV-2 samples had a fragment of 630 pb of the *env* gene amplified. The analysis with the endonuclease *XhoI* showed the presence of a profile characteristic of the HTLV-2a/2c subtypes. Two samples HTLV-1 and one HTLV-2 had the *5'LTR* region amplified and sequenced. The phylogenetic analysis classified the samples HTLV-1 as Cosmopolitan subtype, subgroup Transcontinental and HTLV-2 as belonging to the HTLV-2c subtype. That study shows the relevance of introducing the test for HTLV in the prenatal selection, in order to reduce vertical and horizontal transmission in our State.

1- INTRODUÇÃO

1.1- FAMÍLIA *RETROVIRIDAE*

Os retrovírus foram descobertos há mais de 80 anos sendo, considerados como responsáveis pelo aparecimento de sarcoma em galinhas. Mais tarde atribuiu-se aos retrovírus o aparecimento de adenocarcinoma mamário e de leucemias em camundongos, aumentando assim o interesse da comunidade científica (Gallo, 2005).

Os membros da família *Retroviridae* causam infecção em todas as espécies de vertebrados, principalmente mamíferos e aves. Dentre as doenças associadas aos retrovírus temos as neoplasias, as doenças neurológicas, as imunodeficiências e as doenças hematológicas (Coffin, 1996).

Atualmente a família *Retroviridae* é dividida em duas subfamílias e sete gêneros, sendo essa divisão baseada nas propriedades morfológicas, biológicas e patogênicas dos vírus dessa família (Burmeister, 2001). A subfamília Orthoretrovirinae inclui os gêneros *Alpharetrovirus*, *Betaretrovirus*, *Gammaretrovirus*, *Deltaretrovirus*, *Epsilonretrovirus* e *Lentivirus*. Na subfamília Spumaretrovirinae, é encontrado apenas um único gênero denominado de *Spumavirus* (Fauquet *et al.*, 2005).

O gênero *Deltaretrovirus* no qual está incluído o Vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV), objeto de nosso estudo, é constituído de quatro espécies: *Vírus da leucemia bovina* (BLV), *Vírus linfotrópico de células T de primatas 1* (PTLV-1), *Vírus linfotrópico de células T de primatas 2* (PTLV-2) e *Vírus linfotrópico de células T de primatas 3* (PTLV-3) (Fauquet *et al.*, 2005; ICTV, 2005). Cada espécie de PTLV é constituída de cepas encontradas em humanos e símios, sendo denominadas de Vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV) e Vírus linfotrópico de células T de símios

(STLV). Assim a espécie PTLV-1, inclui as cepas de HTLV-1 e STLV-1, a PTLV-2 é formada pelas cepas de HTLV-2 e STLV-2 e finalmente a PTLV-3 que inclui o HTLV-3 e o STLV-3 (Calattini *et al.*, 2005).

Ainda inclui-se neste gênero o HTLV-4, sendo proposta por Wolfe *et al.* (2005) como membro de uma nova espécie do gênero *Deltaretrovirus*, designada como *Vírus linfotrópico de células T de primatas 4* (PTLV-4).

1.2- VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS (HTLV)

O Vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV) era comumente dividido em dois tipos: o HTLV-1 e o HTLV-2, compartilhando aproximadamente 65% de homologia na seqüência nucleotídica (Gessain, 2004; Feuer & Green, 2005; Wolfe *et al.*, 2005).

Recentemente, foram descobertos, na África Central, dois novos tipos de HTLV, denominados de HTLV-3 e de HTLV-4. As análises filogenéticas demonstraram que o HTLV-3 tem forte associação com STLV-3 e que o HTLV-4 não parece estar relacionado com nenhuma linhagem de HTLV ou STLV atualmente conhecida (Callatini *et al.*, 2005; Wolfe *et al.*, 2005).

O HTLV-1 e o HTLV-2, melhor caracterizados do ponto de vista epidemiológico e molecular, parecem ter resultado de múltiplas transmissões interespecies ocorridas para o homem a partir de primatas não humanos (Parrish *et al.*, 2004).

O HTLV-1 foi o primeiro retrovírus humano a ser isolado e o primeiro a ser mostrado como causa de câncer humano (Poiesz *et al.*, 1980). A detecção e o isolamento do HTLV-1 foi em 1979, e a primeira descoberta veio da análise de uma linhagem de célula T

estabelecida por J. Minna e A. Gazdar a partir de um paciente, recebendo a denominação de linfoma cutâneo de células T (Gallo, 2005). O HTLV-2 foi isolado a partir de linfócitos de um paciente com leucemia de células pilosas (Kalyanaraman *et al.*, 1982).

De acordo com a Agência Internacional para pesquisa em Câncer (*International Agency for Research on Cancer- IARC*) os patógenos que causam câncer em humanos são divididos em dois grupos: i) o grupo 1- que definitivamente são carcinogênicos e ii) o grupo 2- que provavelmente podem ser carcinogênicos (Herrera *et al.*, 2005). O HTLV-1 está no primeiro grupo e é o agente causal da Leucemia/Linfoma de Células T do Adulto (LLcTA), um tipo raro de leucemia. O HTLV-1 também está associado a uma mielopatia crônica chamada de Paraparesia Espástica Tropical/Mielopatia Associada ao HTLV-1-PET/MAH (Hinuma *et al.*, 1981; Gessain *et al.*, 1985).

Os retrovírus HTLV-1 e HTLV-2 estão intimamente relacionados, apresentam propriedades biológicas semelhantes, tropismo, *in vivo*, para linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ maduros, respectivamente, e modos comuns de transmissão (Richardson *et al.*, 1990; Ijichi *et al.*, 1992).

Em estudos anteriores demonstrou-se que a infecção pelo HTLV-1 está associada principalmente com linfócitos T CD4⁺, podendo também infectar linfócitos T CD8⁺ e linfócitos B. Pessoas infectadas pelo HTLV-1, assintomáticas, apresentam uma reatividade imune maior que aqueles que desenvolvem LLcTA. Essa reatividade parece estar relacionada com uma regulação imunológica da expansão de células T transformadas (Poiesz *et al.*, 2000). O HTLV-2 infecta preferencialmente as células T CD8⁺ e a infecção está associada com a expansão clonal de células T (Cimarelli *et al.*, 1996).

1.3- CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DO HTLV

A partícula viral esférica mede de 80 a 100nm de diâmetro. Apresenta um genoma com duas moléculas de RNA iguais, de cadeia simples e polaridade positiva, medindo aproximadamente 9 Kb, envolvido por um capsídeo protéico constituído pelas proteínas p15, p19 e p24 (White & Fenner, 1994; Tangy, 1996), formando juntos o nucleocapsídeo ou core (Hjelle, 1991). No core também estão presentes as enzimas transcriptase reversa, integrase, protease e RNase H que são essenciais para o estabelecimento da infecção viral (Höllsberg, 1999). Essa estrutura está coberta por um envelope constituído de uma bicamada lipídica de origem celular que contém as glicoproteínas virais gp46 e gp21 codificadas pelo gene viral *env* (Tangy, 1996; Le Blanc *et al.*, 2001; Gessain, 2004; Figura 1).

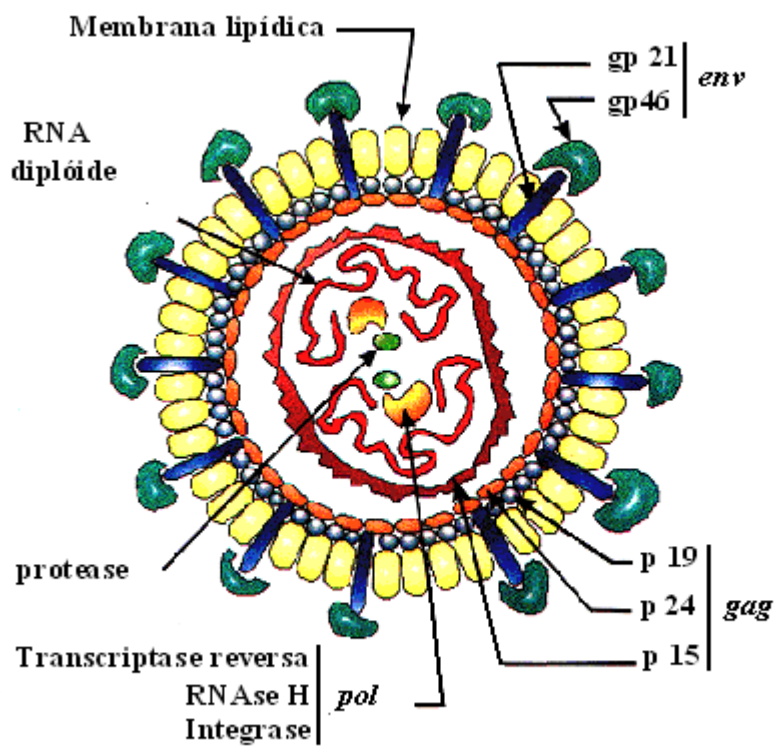


Figura 1- Representação esquemática da estrutura morfológica do HTLV (adaptado de Tangy, 1996).

1.4- ORGANIZAÇÃO GENÔMICA DO HTLV

A estrutura genética do HTLV-1 e do HTLV-2 é semelhante aos dos outros retrovírus (Seike *et al.*, 1983; Shimotohno *et al.*, 1985; Figura 2). Nas extremidades 5' e 3' encontram-se duas seqüências repetidas não codificantes, conhecidas como longas repetições terminais (*LTR- Long Terminal Repeats*) e que contém o sítio de ligação para a RNA polimerase e para as regiões regulatórias que controlam o nível da transcrição viral (Hjelle, 1991; Hall *et al.*, 1996; Ferreira Jr. *et al.*, 1997). Essas seqüências contém todos os sinais para o início e o término da transcrição, além de serem importantes para a integração proviral, o processamento do mRNA viral e a transcrição reversa (Seike *et al.*, 1983).

O genoma do HTLV-1/2 apresenta três genes estruturais: *gag*, *pol* e *env* (Seike *et al.*, 1983; Shimotohno *et al.*, 1985). O gene *gag* codifica as proteínas do core (p19, p24, p15); o *pol* codifica a transcriptase reversa e a integrase, e o gene *env* codifica as glicoproteínas do envelope (gp46 e gp21). O genoma viral ainda contém genes que codificam proteínas regulatórias (Tax e Rex) da expressão viral (Shimothono *et al.*, 1985; Hjelle, 1991; Ciminale *et al.*, 1992).

O gene *gag* é o primeiro a ser transcrito e posteriormente traduzido. As proteínas resultantes desse gene constituem os principais componentes dos retrovírus, tendo papel central na replicação viral, nos passos iniciais e tardios do ciclo replicativo do vírus. Constituem unidades próprias de montagem, suficientes para a formação e liberação das partículas virais, mesmo na ausência de qualquer outra proteína viral. A clivagem dessas proteínas é necessária para dar origem às proteínas da matriz (p19 e p24) e do capsídeo (p15) (Le Blanc *et al.*, 2001; Gessain, 2004; Mazurov *et al.*, 2005).

O gene *pol* codifica as enzimas virais necessárias à replicação. Essa região possui 3 funções básicas: i) codifica a transcriptase reversa (RT), uma DNA polimerase dependente de RNA, necessária para a transcrição do RNA viral em DNA; ii) codifica a RNase H que remove a fita de RNA da fita dupla híbrida RNA-DNA, para a produção da segunda fita de DNA; iii) codifica a integrase (IN) necessária para a integração do provírus ao genoma da célula hospedeira (Hjelle, 1991; Coffin, 1996; Burmeister, 2001). Sobreposta aos genes *gag* e *pol* encontra-se a região *pro* que codifica uma protease responsável pela clivagem das proteínas virais de *gag* e *pol* (Shimothono *et al.*, 1985).

O gene *env* codifica as duas glicoproteínas do envelope viral. Essas proteínas são sintetizadas por uma precursora (gp62) que é clivada em duas glicoproteínas: gp46 e gp21. A gp46 está envolvida na ligação a um receptor celular e a gp21, ancorada ao envelope viral, auxilia a fusão do envelope à membrana celular. Ambas são expressas na superfície da célula infectada (Hall *et al.*, 1994; Coffin, 1996; Grange *et al.*, 1998; Le Blanc *et al.*, 2001). As glicoproteínas gp46 e gp21 demonstraram ser altamente imunogênicas nos indivíduos infectados e são cruciais no desenvolvimento do processo infeccioso (Rudholf *et al.*, 1993). Evidências recentes mostraram que o receptor celular para as glicoproteínas do envelope pode ser um transportador de glicose-GLUTI-1 (Gessain, 2004; Coskun & Sutton, 2005; Manel *et al.*, 2005).

O HTLV-1 e o HTLV-2 são os únicos retrovírus que possuem uma seqüência longa, denominada de região *pX*, localizada entre o gene *env* e a região 3'*LTR* do genoma (Seike *et al.*, 1983; Cann *et al.*, 1985; Shimotohno *et al.*, 1985) que codifica várias proteínas virais regulatórias e acessórias. A mais notável proteína regulatória viral é a proteína transativadora Tax com 40 kD (Cann *et al.*, 1985; Seike *et al.*, 1986; Hjelle, 1991;

Hall *et al.*, 1996; Grasmann *et al.*, 2005). Essa proteína regula a expressão de genes virais e celulares, ligando-se à fatores de transcrição ou à outras moléculas celulares citoplasmáticas (Kashanchi & Brady, 2005).

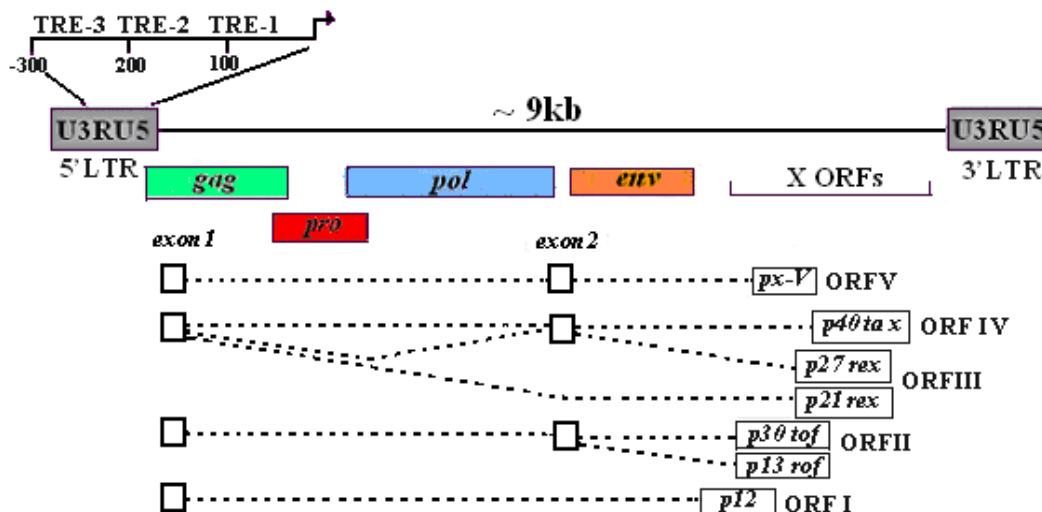


Figura 2- Representação esquemática do genoma do HTLV (adaptado de Shuh & Beilke, 2005).

A expressão do gene viral é regulada primariamente pelo promotor localizado na região 5'*LTR*, que após a transcrição e tradução resulta na síntese da proteína Tax. Esse peptídeo é um potente transativador do principal promotor localizado na região 5'*LTR*, como, também, de outros promotores de vários genes celulares, incluindo a cadeia α do receptor de interleucina-2 (IL-2R), a IL-1, a IL-2, a IL-3, a IL-6, o MHC de classe I, a proteína relacionada ao hormônio da paratireóide (PTHrP), a β -globina, o c-fos, o c-jun, o GM-CFS, o NF- κ B e o TNF- β (Franchini, 1995; Ferreira Jr. *et al.*, 1997; Oshima *et al.*, 1997; Wycuff *et al.*, 2004; Sun & Yamoka, 2005).

A região *pX* contém cinco regiões de leitura aberta, conhecidas como ORFs (*Open Reading Frames*) que são: x-I, x-II, x-III, x-IV e x-V. As ORFs x-III e x-IV codificam as proteínas Rex e Tax, respectivamente (Ciminale *et al.*, 1992; Ferreira Jr. *et al.*, 1997; D'agostino *et al.*, 2001, Feuer & Green, 2005).

As ORFs x-I, x-II e x-V estão envolvidas na codificação de proteínas acessórias, como é o caso da p12 e p13/p30 codificadas respectivamente pelas ORFs x-I e x-II do HTLV-1 e das proteínas p10, p11 e p28 codificadas pelas ORFs x-I, x-II e x-V do HTLV-2, respectivamente. O papel funcional dessas proteínas na biologia do HTLV ainda não está bem compreendido (Ferreira Jr. *et al.*, 1997; D'agostino *et al.*, 2001; Feuer & Green, 2005), no entanto, têm sido sugerido que essas proteínas são essenciais para o estabelecimento da infecção viral, o aumento da ativação do linfócito T e para a alteração da transcrição do gene e a função mitocondrial (Albrecht & Lairmore, 2002).

Tax e Rex são proteínas que regulam juntamente a expressão viral. A primeira é uma ativadora transcricional do genoma viral e a última é supressora do *splicing* dos transcritos virais (Kashanchi & Brady, 2005; Yoshida, 2005).

A função primária da Tax é ativar a expressão gênica no DNA proviral do HTLV-1 via LTR, por meio de três repetições de 21pb (Zhao & Giam, 1992) conhecidas como elementos responsivos a Tax (TRE ou TxRE -1,-2 e -3), que intermediam o potencial de transativação da Tax (Shush & Beilke, 2005).

A proteína Tax é essencial para a replicação viral e para o início da transformação maligna, acarretando no desenvolvimento da leucemia de células T do adulto. A transformação de células T pelo HTLV é resultante da desregulação dos genes

envolvidos com o crescimento e sobrevivência dessas células, assim como da função dos fatores celulares envolvidos no controle do ciclo celular e reparo de DNA. Acredita-se que a Tax seja o elemento chave no desenvolvimento das doenças associadas ao HTLV-1 (Jeang *et al.*, 2004; Sun & Yamoka, 2005), sendo responsável pelo crescimento anormal e imortalização das células infectadas por este vírus (Oshima *et al.*, 1997).

A Tax direciona a transcrição do gene via elemento responsivo-cAMP (CRE) localizado na longa repetição terminal (*LTR*) (Jeang *et al.*, 2004) e estimula os fatores de transcrição através da interação de uma série de complexos proteína-DNA e proteína-proteína (Zhao & Giam, 1992; Orden *et al.*, 1999), além de ser capaz de modular a atividade de alguns fatores de transcrição celular, como o da proteína de ligação do elemento responsivo do AMP cíclico/fator ativador da transcrição (CREB/ATF), NF-kB, fator responsivo do soro (SRF), NF-AT e p53 (Ferreira Jr. *et al.*, 1997; Wicuff *et al.*, 2004; Sun & Yamoka, 2005). Essa proteína é considerada oncogênica, uma vez que transforma e imortaliza fibroblastos de roedores e linfócitos T humanos (Grassmann *et al.*, 2005).

A Tax do HTLV-1 e do HTLV-2 tem localização diferente na célula. A Tax-1 (HTLV-1) localiza-se principalmente no núcleo, enquanto que a Tax-2 (HTLV-2) predomina no citoplasma (Turci *et al.*, 2006a).

A proteína Rex é uma reguladora pós-transcricional da expressão do gene viral (Ferreira Jr. *et al.*, 1997). Essa proteína de 27 kD atua no *splicing* e no transporte de mRNA do núcleo para o citoplasma. A sequência necessária para a atuação da Rex é chamada de elemento responsivo a Rex (ERRX) e está localizada na região 3' *LTR*. A Rex contém um domínio de ligação de RNA e uma região variável conhecida como domínio de ativação que poderia interagir com os fatores celulares. A ligação direta ao ERRX na região

3' não traduzida do RNA viral é necessária para translocação do mRNA para o citoplasma e sua expressão. Além da ligação da Rex a regiões alvo, é necessária a ação de fatores celulares adicionais para que ocorra tradução das proteínas estruturais (Ballaun *et al.*, 1991; Bogerd *et al.*, 1992; Rehberger *et al.*, 1997).

A Rex age pós-transcricionalmente para aumentar os níveis citoplasmáticos dos mRNA com único evento de processamento do tipo *splicing (env)* e sem evento de processamento do tipo *splicing (gag/ pol/ pro)*. O mecanismo exato de ação da Rex é desconhecido, porém a sua expressão diminui o *splicing* e aumenta a estabilidade dos mRNA. A atividade dessa proteína pode ser afetada através da fosforilação, resultando em acúmulo de mRNA *unspliced* e decréscimo da síntese de proteínas de *gag* (Black *et al.*, 1991; Ciminale *et al.*, 1992; Kusuhara *et al.*, 1999; Kashanchi & Brady, 2005).

Dois possíveis mecanismos têm sido propostos para explicar a ação dessa proteína regulatória. A Rex poderia promover o transporte do mRNA sem evento do tipo *splicing* pela dissociação dos spliceossomos, antes da completa reação de *splicing* ou poderia estabelecer um caminho independente de *splicing* para o transporte do mRNA (Black *et al.*, 1991; Rehberger *et al.*, 1997).

As proteínas Tax e Rex do HTLV-1 e do HTLV-2 são reguladas negativamente pelas proteínas acessórias p30 e p28, respectivamente, codificadas pela matriz de leitura aberta II (ORF-II) da região *pX*, agindo como reguladoras negativas pós-transcricional da replicação viral (D'Agostino *et al.*, 2001; Albrecht & Lairmore, 2002; Younis *et al.*, 2004). A p30II e a p28II retém os mRNA codificados pelos genes *tax* e *rex* dentro do núcleo, resultando em uma redução específica das proteínas Tax e Rex (Nicot *et al.*, 2004; Younis *et al.*, 2004).

1.5- CICLO DE REPLICAÇÃO DO HTLV

A replicação viral inicia quando ocorre a interação das glicoproteínas virais ao receptor presente na superfície da célula alvo. A penetração do nucleocapsídeo pode ocorrer por meio de dois mecanismos: fusão do envelope viral à membrana da célula hospedeira ou por endocitose mediada por receptores (White & Fenner, 1994; Gessain, 2004; Figura 3).

A entrada do vírus na célula alvo é mediada pelas glicoproteínas do envelope gp46 que se liga ao receptor celular e pela gp21 que funde o envelope viral com a membrana da célula alvo. Após a adsorção ocorre a penetração do core viral no citoplasma da célula, com posterior liberação do RNA viral (Tangy, 1996; Tallet *et al.*, 2000).

O HTLV apresenta uma forma pouco usual de replicação quando, após a penetração na célula, libera o RNA viral, que é transcrito em DNA complementar de dupla fita pela ação da enzima transcriptase reversa; este DNA penetra no núcleo onde se integra ao DNA celular, formando o DNA proviral (Hjelle, 1991; Catalan-Soares *et al.*, 2001; Gessain, 2004).

A transcriptase reversa (TR) inicia sua função a partir da molécula de tRNA na extremidade 5', que corresponderá aos fragmentos R e U5. Depois 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 seqüência 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 seqüências duplicadas conhecidas como *LTR* compostas das regiões U3, R e U5 (White & Fenner, 1994; Coffin, 1996; Kashanchi & Brady, 2005).

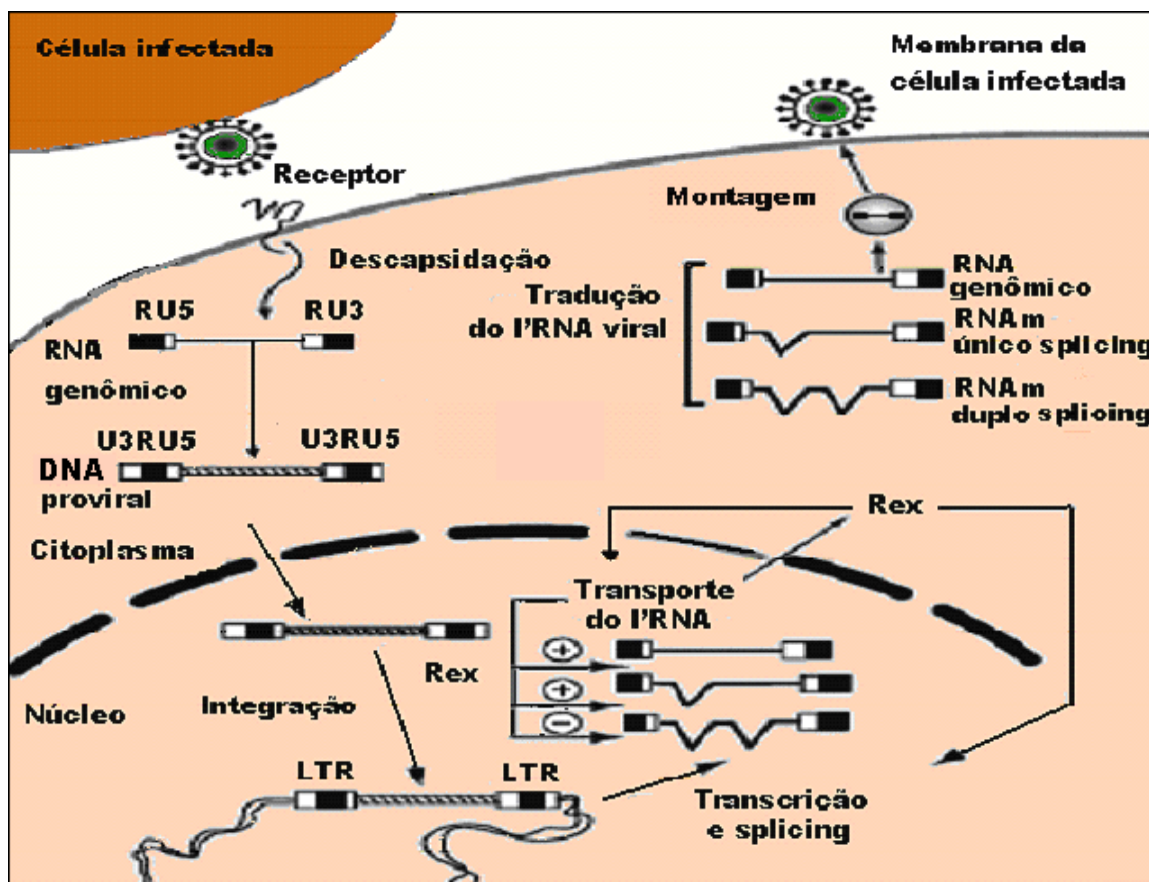


Figura 3- Ciclo replicativo do HTLV (adaptado de Gessain, 2004).

Após a migração do DNA viral para o núcleo por ação da Rex, ocorre a integração do mesmo com o genoma celular pela ação 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 de todos os mRNA necessários para a síntese de proteínas. No entanto, para

que ocorra o início da transcrição é necessário que a seqüência *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).

Na transcrição do DNA proviral em RNA, três espécies de mRNA são formados: um mRNA genômico sem evento de processamento do tipo *splicing* (*unspliced*), que codifica as proteínas precursora de *gag* e de *pol*, um mRNA subgenômico (4,3Kb) com um evento de processamento do tipo *splicing*, que codifica a proteína precursora que dará origem às proteínas do envelope, e um mRNA (2,1 Kb) com duplo evento de processamento do tipo *splicing*, que codifica as proteínas regulatórias Tax e Rex (Ciminale *et al.*, 1992; Ferreira Jr. *et al.*, 1997).

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).

1.6- MODOS DE TRANSMISSÃO DO HTLV

Os modos de transmissão do HTLV são semelhantes aos do HIV-1. Ambos são transmitidos por meio da relação sexual desprotegida, da transfusão sanguínea e/ou hemoderivados, do compartilhamento de agulhas e seringas entre usuários de drogas endovenosas e do aleitamento materno (Sugiyama *et al.*, 1986; Hjelle 1991; Ferreira Jr. *et al.*, 1997).

A transfusão sanguínea e/ou de hemoderivados é uma importante forma de disseminação do HTLV-1 em áreas endêmicas, porém tem sido minimizada por meio de

programas de triagem sorológica em bancos de sangue. Doadores de sangue de países como Japão, Estados Unidos, França, Canadá, Portugal, Suécia, Holanda, Reino Unido e Finlândia são rotineiramente testados para a presença de anticorpos anti-HTLV-1/2 (Zervou *et al.*, 2004). No Brasil, a triagem para o HTLV se tornou obrigatória por meio da portaria nº 1376 de 19 de novembro de 1993, do Ministério da Saúde (Sáez-Alquézar & Sabino, 2000; Catalan-Soares *et al.*, 2001). A transmissão do HTLV-1 pela via hematogênica ocorre por transfusão de componentes celulares do sangue (sangue total e leucócitos), mas não a partir de soro ou plasma derivados de sangue contaminado por HTLV-1, uma vez que é rara a presença de partículas virais livres no plasma (Bangham, 2000; Nicot, 2005).

A transmissão do HTLV-2 pela via parenteral assume grande importância entre os usuários de drogas endovenosas (UDE) e os doadores de sangue na América do Norte e do Sul e na Europa, sendo considerado endêmico nesses continentes (Hall *et al.*, 1996; Ishak *et al.*, 1998).

A principal rota de transmissão para as crianças é o leite materno, porém não se pode descartar as vias intra-uterina e saliva, uma vez que foram confirmadas a presença de DNA proviral por meio de reação em cadeia mediada pela polimerase em amostras de sangue de cordão umbilical e também em saliva (Fujino & Nagata, 2000).

A transmissão do HTLV-1 deve-se principalmente ao tempo de amamentação prolongado (superior a seis meses) no período pós-natal (Furnia *et al.*, 1999). Estudos soropidemiológicos de mulheres grávidas e seus filhos têm mostrado que a amamentação é de grande importância na transmissão do vírus (Hino *et al.*, 1996; Ureta-Vidal *et al.*, 1999). A transmissão da mãe para o filho ocorre em 20% da prole de uma mãe

infectada, e está relacionada à carga proviral das mães, aos altos títulos de anticorpos e ao tempo prolongado de amamentação (Proietti *et al.*, 2005). Impedindo o aleitamento materno, ou limitando o tempo de amamentação por mães portadoras do HTLV, pode-se reduzir o risco da transmissão perinatal (Fujino & Nagata, 2000).

A via intra-uterina também contribui para a transmissão do HTLV, embora a transmissão por esta via seja menos freqüente que o aleitamento materno. A presença do HTLV-1 nos linfócitos do sangue do cordão umbilical indica passagem transplacentária das células infectadas. A infecção fetal depende da imunidade protetora do feto e da proteção dada ao mesmo pelos anticorpos maternos adquiridos através da placenta (Bittencourt, 1998; Catalan-Soares *et al.*, 2001).

A transmissão intra-uterina, explica o porquê, de crianças não alimentadas com leite materno também adquirirem a infecção (Bittencourt *et al.*, 2002).

A transmissão perinatal pelo HTLV-2, também foi evidenciada em crianças amamentadas por leite materno e crianças alimentadas artificialmente, e parece ocorrer em taxas semelhantes ao HTLV-1 (Van Dike *et al.*, 1995). Essa rota de transmissão é de grande importância entre as populações ameríndias do Brasil (Ishak *et al.*, 1995; Azevedo, 1996; Bittencourt, 1998, Ishak *et al.*, 2001).

A doação de órgãos também contribui para a transmissão do HTLV. Segundo Toro *et al.*, (2005) a triagem para detecção de anticorpos anti-HTLV-1/2 não é muito recomendada nos países ocidentais. Em 2001, foram documentados os primeiros casos de infecção por HTLV-1 adquiridos por transplantes de órgãos na Europa.

1.7- VARIABILIDADE GENÉTICA DO HTLV

Os subtipos de HTLV-1 apresentam alto grau de conservação da sequência nucleotídica, sendo que a divergência dos nucleotídeos entre os isolados do HTLV-1 é de aproximadamente 4% e depende da região do genoma analisado (Komuriam *et al.*, 1991).

Com base em estudos de epidemiologia molecular a partir de análises das repetições terminais longas (*LTR*) e de sequências do gene *env* (envelope) o HTLV-1 é dividido nos seguintes subtipos: 1a (Cosmopolita), 1b (África Central), 1c (Melanésia), 1d, 1e, 1f e 1g (África Central) (Miura *et al.*, 1997; Salemi *et al.*, 1998; Van Dooren *et al.*, 2001, Wolfe *et al.*, 2005) e o HTLV-2 nos subtipos 2a, 2b, 2c e 2d (Hall *et al.*, 1992; Ishak *et al.*, 1995; Hall *et al.*, 1996; Vandamme *et al.*, 1998).

O subtipo cosmopolita do HTLV-1 é subdividido em quatro subgrupos: Transcontinental (A), Japonês (B), Oeste Africano (C) e Norte Africano (D) (Ureta-Vidal *et al.*, 1994; Miura *et al.*, 1997; Ramirez *et al.*, 2002; Gessain, 2004).

A maioria das divergências nucleotídicas entre os isolados é caracterizada por mutações pontuais e parece não estar relacionado a diferenças de patogenicidade. A variabilidade do HTLV parece refletir a origem geográfica e/ou a migração de populações antigas carregando o vírus (Komuriam *et al.*, 1991; Ferreira Jr. *et al.*, 1997; Salemi *et al.*, 1999).

Por meio de análises do RFLP, uma heterogeneidade genética expressiva tem sido demonstrada entre os subtipos HTLV-2a e HTLV-2b (Hall *et al.*, 1992; Eiraku *et al.*, 1996). A divergência de sequência nucleotídica entre esses isolados varia de 4 a 7%, dependendo da região genômica analisada do provírus (Dube *et al.*, 1993; Hall *et al.*, 1994).

O subtipo HTLV-2c tem sido identificado em populações indígenas e urbanas do Brasil (Ishak *et al.*, 1995; Eiraku *et al.*, 1996; Vallinoto *et al.*, 2002). As seqüências nucleotídicas do *env*, *pX* e *LTR* do HTLV-2c estão mais filogeneticamente relacionadas ao HTLV-2a, porém a seqüência de aminoácidos para Tax é semelhante ao do HTLV-2b. Análises da função da proteína Tax dos isolados HTLV-2a, HTLV-2b e HTLV-2c, demonstraram propriedades transativadoras semelhantes para a Tax do HTLV-2b e do HTLV-2c. Os subtipos HTLV-2b e 2c possuem uma substituição nucleotídica (T→C) no códon de parada da seqüência codificadora da proteína Tax, o que confere uma extensão adicional de 25 aminoácidos a mais da seqüência que é produzida pelo HTLV-2a (Eiraku *et al.*, 1996).

O HTLV-2d mostrou-se diferente dos outros isolados por análises das regiões genômicas, no entanto a proteína Tax (344aa) desse subtipo apresenta um comprimento intermediário entre as proteínas Tax do HTLV-2a (331aa) e do HTLV-2b (356aa) (Vandamme *et al.*, 1998).

1.8- PATOLOGIAS ASSOCIADAS AO HTLV

Várias são as patologias associadas à infecção pelo HTLV, mas duas estão claramente relacionadas com este retrovírus. O HTLV-1 está associado à Leucemia/Linfoma de células T do adulto (LLcTA) e a uma doença neurológica conhecida como Paraparesia Espástica Tropical ou Mielopatia Associada ao HTLV-1 (PET/MAH) (Hinuma *et al.*, 1981; Gessain *et al.*, 1985). O HTLV-2, apesar da homologia com o HTLV-1 não é consistentemente associado a nenhuma doença humana até o momento,

embora desordens neurológicas semelhantes a PET/ MAH tenham sido observadas em pacientes portadores da infecção (Hall *et al.*, 1994;1996; Araújo & Hall, 2004).

Clinicamente a LLcTA é classificada em quatro tipos: forma *smoldering* (pré-leucêmica), aguda, linfoma e crônica (Hjelle, 1991; Franchini, 1995; Ministério da Saúde, 2004), sendo que a distribuição geográfica é bem variada (Manns *et al.*, 1999).

Os principais sinais e sintomas da LLcTA são astenia, dor abdominal, tosse, artropatia, ascite, diarreia e infecções repetidas (Ministério da Saúde, 2004). Os achados clínicos e laboratoriais incluem lesões de pele e linfocitose persistentes, com os linfócitos apresentando aspecto de células em flores, linfadenopatia, hepatoesplenomegalia, níveis elevados de lactato desidrogenase, hipercalcemia, hiperbilirrubinemia (Hollberg & Hafler, 1993; Ferreira Jr. *et al.*, 1997; Manns *et al.*, 1999), podendo ocorrer lesões osteolíticas (Schater *et al.*, 2003) e, raramente, lesões orais (Albuquerque *et al.*, 2005).

A PET/MAH é uma mielopatia crônica, caracterizada por uma paraparesia lentamente progressiva que afeta principalmente as áreas piramidais, associada a um distúrbio variável do esfíncter e anormalidades sensoriais (Hjelle, 1991). Tipicamente atinge adultos entre 35 e 49 anos de idade (Touzé *et al.*, 1996). A doença pode ocorrer também na infância e adolescência, mas é rara (Rodgers-Johnson *et al.*, 1990; Oliveira *et al.*, 2004). Afeta principalmente as mulheres e assemelha-se à esclerose múltipla. Os sintomas incluem fraqueza ou rigidez em ambas as pernas, dor lombar e incontinência urinária, hiperreflexia e distúrbios sensoriais (Araújo & Andrada-Serpa, 1996; Ferreira Jr. *et al.*, 1997; Manns *et al.*, 1999; Araújo & Hall, 2004). Com a progressão da doença, outros sintomas podem ser notados, como constipação, impotência, distúrbio intestinal, disfunção erétil e diminuição da libido (Ferreira Jr. *et al.*, 1997; Ministério da Saúde, 2004).

Outras patologias associadas à infecção pelo HTLV-1 são: a uveíte, a poliartrite, a polimiosite, a pneumonia broncoalveolar, a tiroidite auto-imune, a dermatite infecciosa na criança, a síndrome de Sjögrens, a cirrose biliar primária e a estrogiloidíase (Manns *et al.*, 1999; Catalan-Soares *et al.*, 2001; Ministério da Saúde, 2004; Harada *et al.*, 2005; Proietti *et al.*, 2005).

1.9- EPIDEMIOLOGIA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DO HTLV

O HTLV-1 é um vírus cosmopolita, com ampla distribuição mundial. É endêmico em algumas áreas como o Japão, o Caribe, a África, a América do Sul e as ilhas da Melanésia (Hjelle, 1991; Ureta-Vidal *et al.*, 1994; Franchini, 1995; Hall *et al.*, 1996; Ferreira Jr. *et al.*, 1997).

A soroprevalência entre diferentes faixas etárias varia de acordo com a região geográfica, os grupos étnicos e a subpopulação de risco (Gessain, 2004; Figura 4). Em áreas altamente endêmicas, como o sudoeste do Japão, a taxa de soroprevalência pode chegar até 37%, enquanto que em outras áreas não-endêmicas, como a França, a prevalência é cerca de 0,004% entre os doadores de sangue.

O HTLV-1 está presente em todas as regiões brasileiras com prevalência variável. No entanto, pesquisas em doadores de sangue mostram que a prevalência é maior nos Estados da Bahia e de Pernambuco (Ministério da Saúde, 2004).

Segundo Catalan-Soares *et al.* (2001) a soroprevalência no Brasil entre os doadores de sangue varia de 0,08% a 1,35%, dependendo do Estado brasileiro e do tamanho da amostra.

O HTLV-2 é prevalente, principalmente, entre as populações indígenas da região Amazônica. No entanto, estudos conduzidos por Ishak *et al.* (1998) e Vallinoto *et al.* (2002) demonstraram a ocorrência da infecção por HTLV-2c entre os doadores de sangue de uma área urbana da região Amazônica.

Em áreas consideradas não endêmicas para o HTLV, as infecções são encontradas principalmente nos grupos de alto risco que são os imigrantes e seus descendentes, os contatos sexuais e os usuários de drogas endovenosas atendidos em clínicas de doenças sexualmente transmissíveis (Vrieling & Reesink, 2004).

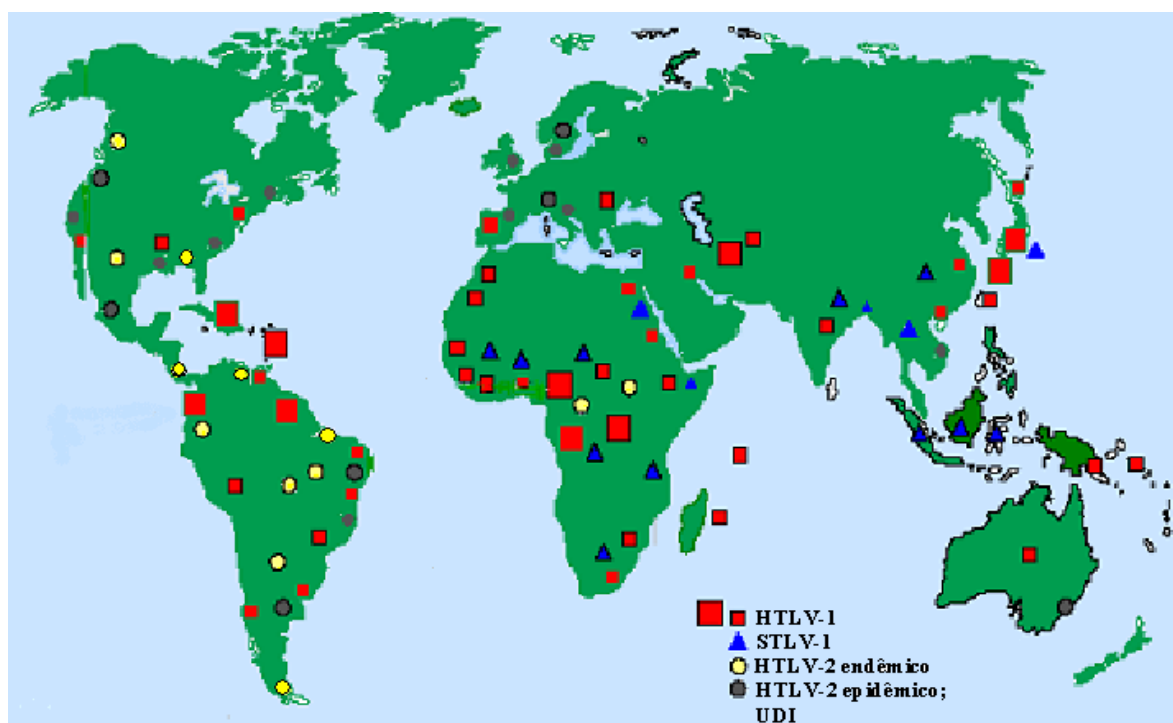


Figura 4- Distribuição geográfica do HTLV-1/2 e STLV-1 (adaptado de Gessain, 2004).

Estima-se que em todo o mundo 10 a 20 milhões de pessoas possam estar infectadas pelo HTLV-1, sendo que a maioria dos indivíduos infectados permanecem clinicamente assintomáticos ao longo de suas vidas, contudo, com potencial para continuar transmitindo o vírus (Araújo & Hall, 2004). Em relação ao HTLV-2 nenhuma estimativa está atualmente disponível para o número global de infecções causadas por este retrovírus (Araújo & Hall, 2004; Edlich *et al.*, 2000). Aproximadamente 4% dos indivíduos infectados e 10% dos infectados via perinatal desenvolvem sintomas de LLcTA, enquanto que 3% desenvolvem sintomas de PET/MAH (Poiesz *et al.*, 2001; Bangham, 2000). Alta incidência de LLcTA têm sido encontrada na Guiana Francesa e em negros e mulatos nos Estados da Bahia e de Pernambuco (Proietti *et al.*, 2005). A maioria dos casos de PET/MAH no Brasil ocorre nas regiões Nordeste (Fortaleza, Recife e Salvador) e Sudeste (Rio de Janeiro e São Paulo), e estão associadas principalmente à promiscuidade sexual e transfusão sanguínea (Araújo & Andrada-Serpa, 1996).

Em revisão realizada por Proietti *et al.* (2005) taxas de soroprevalência relativamente altas foram encontradas no sudoeste do Japão (acima de 10%), vários países do Caribe, incluindo Jamaica e Trinidad (acima de 6%), países da África Sub-Sahariana, como Camarões e Guiné-Bissau (5%) e áreas localizadas do Iran e Melanésia (inferior a 5%).

Em diferentes regiões de Papua Nova Guiné a taxa de soroprevalência para HTLV-1 varia entre 0 a 14,6% (Takao *et al.*, 2000).

Merle *et al.* (2002) avaliaram a ocorrência de uveíte em 200 pacientes infectados por HTLV-1 (77 soropositivos e 123 com PET/ MAH) na Martinica. A uveíte

foi encontrada em 29 casos (14,5%), mostrando que a infecção por HTLV-1 aumenta a ocorrência de doenças oculares.

Na República de Gana, a prevalência para o HTLV-1 foi de 0,7% em 808 doadores de sangue (Ampofo *et al.*, 2002).

Abbaszadegan *et al.* (2003) conduziram um estudo para estimar a prevalência em doadores de sangue na cidade de Mashhad, província do Iran. Nesse estudo participaram 28.926 doadores, dos quais 228 (0,78%) foram positivos para o HTLV, sendo 208 (91,2%) amostras HTLV-1 e 11 (4,82%) HTLV-2.

Países como Líbano (0,052%), Kwait (0,02%), Grécia e Arábia Saudita (0,06%) apresentam prevalência baixa para o anti-HTLV 1/2 entre os doadores de sangue (Al-Mufti *et al.*, 1997; Naman *et al.*, 2002; Zervou *et al.*, 2004; Fawaz *et al.*, 2005).

No Chile, 1% da população em geral é portadora do HTLV-1 e 0,3% a 0,7% dos doadores de sangue são soropositivos para o vírus. Em populações indígenas do Chile essa prevalência aumenta chegando até 60,5% (Miura *et al.*, 1997; Ramirez *et al.*, 2002).

Estudo conduzido por Sanches-Palacios *et al.* (2003) em 568 mulheres peruanas, mostrou uma prevalência de 2,5% para anticorpos HTLV-1, demonstrando que o vírus é endêmico em mulheres peruanas assintomáticas, sendo que as infecções estavam associadas principalmente à transmissão sexual, vertical e parenteral. Outro estudo realizado em uma área não endêmica da Argentina demonstrou a transmissão intra-familiar do HTLV-1, reforçando a infecção por estas rotas de transmissão. Nesse estudo foram analisados uma doadora de sangue e 13 membros de sua família. Análises sorológica e molecular mostraram que quatro membros estavam infectados (a doadora de sangue, o marido, o filho e a nora). As seqüências *LTR*, *env* e *tax* do provírus infectando os membros

da família eram idênticas, sugerindo fortemente a transmissão intra-familiar (Gastaldello *et al.*, 2005).

Nas regiões endêmicas a prevalência aumenta com a idade e é maior no gênero feminino, sendo mais acentuada após os 40 anos. A explicação mais provável para essa diferença é a transmissão por via sexual ser mais eficiente do homem para a mulher (Hall *et al.*, 1996). Entretanto, a infecção pelo HTLV-2 nas tribos do grupo Kayapó, parece não estar associada preferencialmente a um dos gêneros (Ishak *et al.*, 1995).

A endemicidade do HTLV-1 está associada principalmente à transmissão perinatal através do leite materno de mães portadoras da infecção (Sugiyama *et al.*, 1986). Em estudo conduzido por Bittencourt *et al.* (2002) em 41 crianças, com idade variando de 3 a 39 meses, filhas de mães portadoras, não alimentadas com leite materno não foi detectado nenhum caso de transmissão materno-fetal, reforçando o fato de que a transmissão materno-fetal por outras vias não é comum.

O HTLV-2 é mais prevalente entre usuários de drogas injetáveis (UDE) nas Américas do Norte e do Sul, no sudeste da Ásia, na Europa, nos grupos nativos das Américas e em alguns grupos de pigmeus na África (Hall *et al.*, 1994; 1996; Ishak *et al.*, 1995; Ferreira Jr. *et al.*, 1997; Salemi *et al.*, 1999).

Zunt *et al.* (2006a) investigaram a prevalência do HTLV-2 em 2.561 UDE, na cidade Washington (EUA). Nesse estudo foram observados 190 casos positivos para o HTLV-2, com prevalência de 7,4%.

Na Espanha, De La Fuente *et al.* (2005) avaliaram a prevalência de anti-HTLV em usuários de heroína injetável e não injetável. Nenhum caso de infecção por HTLV-1 foi detectado. A prevalência encontrada para o HTLV-2 foi de 2,75%, sendo que

nenhum caso de infecção por HTLV-2 foi detectado entre os usuários de heroína não injetável, fato este que poderia ser atribuído à baixa taxa de transmissão sexual do HTLV-2.

Em Portugal a prevalência para o HTLV foi avaliada em 583 usuários de drogas com infecção pelo HIV. Foram detectados três casos positivos para o HTLV-2, com prevalência de 0,51% (Silva *et al.*, 2005). A análise filogenética demonstrou que as três amostras positivas pertenciam ao subtipo HTLV-2b.

Turci *et al.* (2006b) investigaram a taxa de prevalência do HTLV-2 em uma população de usuários de drogas endovenosas na Itália. As amostras também foram triadas para a infecção pelo HIV-1 (*Vírus da imunodeficiência humana 1*) e HTLV-1. Nessa população as amostras foram positivas para HIV-1 e HTLV-2, não se constatando casos positivos para HTLV-1. Além disso, eles demonstraram que a frequência do HTLV-2 era maior entre os HIV-1 positivos (6,7%) do que entre os HIV-1 negativos (1,1%) e que os indivíduos apenas infectados por HIV-1 progrediam a AIDS (*Síndrome da Imunodeficiência adquirida*) mais rapidamente que os indivíduos co-infectados HIV-1/HTLV-2, sugerindo que o HTLV-2 exerce um papel protetor. Outro estudo conduzido em imigrantes e prisioneiros da Itália mostrou prevalência de 0,3% para o HTLV-1 e 0,1% para o HTLV-2 entre os imigrantes, enquanto que nos prisioneiros a prevalência para o HTLV-1 foi de 1,4% e para o HTLV-2 de 0,8% (Ansaldi *et al.*, 2003).

O papel protetor do HTLV-2 em pacientes portadores do HIV-1 já havia sido anteriormente demonstrado por Willy *et al.* (1999). Um paciente co-infectado com HIV-1 e HTLV-2 apresentou alta contagem de linfócitos T CD4⁺ e baixa carga viral de HIV-1 sem terapia antiretroviral por um período superior a seis anos.

Estudo conduzido por Gutiérrez *et al.* (2004) mostrou uma prevalência de 0,2% para o HTLV-1 em imigrantes trabalhadoras do sexo em Madri, Espanha, não se detectando nenhum caso positivo para o HTLV-2.

Na Alemanha a prevalência entre os doadores de sangue foi de 0,021% (Schätzl *et al.*, 2005).

Diop *et al.* (2006) avaliaram a prevalência do HTLV em 4.900 doadores de sangue do Senegal. Prevalência observada nesse estudo foi de 0,16%, sendo observados sete casos positivos para HTLV-1 e um caso para HTLV-2. Análises moleculares demonstraram que as amostras positivas para HTLV-1 eram do grupo cosmopolita e a amostra positiva para HTLV-2 pertencia ao subtipo c, sendo este subtipo prevalente na região amazônica brasileira (Vallinoto *et al.* 2002; Laurentino *et al.*, 2005).

A prevalência do HTLV foi investigada em 2.703 homens que fazem sexo com homens no Peru. Desses 56 (2,1%) estavam infectados pelo HTLV-1 e 35 (1,3%) pelo HTLV-2. Dentre os pacientes analisados 338 estavam infectados pelo HIV-1, sendo encontrado nove (2,7%) casos de co-infecção com o HTLV-2 (Zunt *et al.*, 2006b).

Léon *et al.* (2003) pesquisaram a prevalência do vírus em doadores de sangue em Caracas, Venezuela. A análise sorológica mostrou uma prevalência de 0,2% para o HTLV nessa população.

Pando *et al.* (2004) estudaram a prevalência do HTLV em 174 portadores do HIV na Argentina. Oito amostras foram positivas para anticorpos anti-HTLV, com taxa de prevalência de 4,6%.

Guimarães *et al.* (2001) conduziram um estudo entre 171 UDE na cidade do Rio de Janeiro. Neste estudo, foram detectados 29 (17%) casos de sororreatividade para o

HTLV, sendo a maior proporção encontrada para o HTLV-1 (75,9%) quando comparado ao HTLV-2 (24,1%). De forma semelhante essa proporção também foi maior para o HTLV-1 (72,4%) entre os UDE de Salvador (BA) (Dourado *et al.*, 1999).

Taxa de prevalência de 1,6% (1/63) foi encontrada entre presidiários de Manhanaçu, Minas gerais (Catalan-Soares *et al.*, 2000).

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). A prevalência encontrada entre os participantes desse estudo foi de 2,4%.

Avaliação da prevalência do HTLV também foi realizada em portadores do HIV-1 em Londrina, Paraná. Nesse estudo foram analisados 758 indivíduos, dois quais 6,4% estavam co-infectados com o HTLV (Morimoto *et al.*, 2005).

Pesquisa conduzida por Dourado *et al.* (2003) na população de Salvador mostrou uma prevalência de 1,76% em 1385 indivíduos triados para anticorpos anti-HTLV.

Em estudo conduzido na cidade do Acre, Rio Branco, a prevalência encontrada para o HTLV foi de 0,11% em 11.121 doadores de sangue, sendo nove casos positivos para o HTLV-1 e três para o 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).

A soroprevalência do HTLV foi estudada por Mena-Barreto e colaboradores (2005) em índios Guaraní, no sul do Brasil. Em 52 indivíduos envolvidos no estudo, três (5,76%) foram sororreativos para o HTLV-2.

Azevedo (1996) estudou a prevalência do HTLV em populações indígenas da Amazônia brasileira. Foram analisados 1.549 indivíduos, dos quais 104 reagiram para o

HTLV-2, cinco para o HTLV-1, e cinco apresentaram padrão sorológico indeterminado pela técnica de *Western blot*. Prevalência elevada para o HTLV-2 foi encontrada entre as tribos Kayapó (32,3%), Tiriyo (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.

Para avaliar a prevalência de co-infecção HIV/HTLV, Vallinoto *et al.* (1998) estudaram amostras de sangue de 149 pacientes portadores do HIV. Foram identificados quatro casos positivos para HTLV-1 (2,7%) e sete casos positivos para HTLV-2 (4,7%).

Laurentino *et al.* (2005) estudaram 169 amostras de sangue de pacientes infectados por HIV-1 no município de Belém-Pa. Nesse estudo, 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, que segundo esses autores é um fato distinto de outras áreas urbanas do Brasil.

Ishak *et al.* (2002) evidenciaram, pela primeira vez, a associação de PET/MAH e HTLV-1 na região Norte. Três indivíduos com 37, 40 e 57 anos apresentavam diagnóstico clínico de paraparesia espástica tropical. A análise sorológica por *Western blot* demonstrou que as amostras eram positivas para HTLV-1.

Para avaliar a ocorrência de doenças neurológicas, um estudo foi conduzido por Leite *et al.* (2003) em doadores de sangue da cidade do Rio de Janeiro. Nesse estudo as manifestações neurológicas foram maiores para os indivíduos positivos para o HTLV-1 (36,2%) do que para os indivíduos negativos (14,8%) a esse vírus, fato este que corrobora que a infecção por HTLV-1 está realmente associado a desordens neurológicas.

Em outro estudo, Macedo *et al.* (2004) procuraram correlacionar a presença do HTLV com desordens neurológicas observadas em 190 pacientes na cidade de Belém. Desses, 15 (7,9%) indivíduos apresentaram sororreatividade para HTLV pela técnica de *Western blot*, sendo dez pacientes positivos para HTLV-1, três para HTLV-2 e uma apresentou co-infecção HTLV-1/2.

Silva *et al.* (2002) documentaram o primeiro caso de desordem neurológica semelhante à PET/MAH associado à infecção pelo HTLV-2 no Brasil. Uma mulher de 55 anos de idade apresentava uma síndrome caracterizada por paraparesia espástica, reflexos hiperativos e incontinência urinária. Análises moleculares da região *tax* revelaram um padrão de HTLV-2 que, posteriormente, foi confirmado pelo seqüenciamento da região 5'*LTR*, sendo que o subtipo encontrado foi o HTLV-2a.

Olindo *et al.* (2005) estudaram a relação entre carga proviral do HTLV-1 e o desenvolvimento de PET/MAH. Nesse estudo a carga proviral foi seis vezes menor em portadores assintomáticos quando comparados aos pacientes com PET/MAH, e significativamente maior em pacientes com rápida progressão da doença do que aqueles com progressão lenta. Assim, a carga proviral poderia ser usada como marcador de progressão da doença e no monitoramento da triagem terapêutica.

1.10- A INFECÇÃO PELO HTLV NA GRAVIDEZ

“O período gestacional não é isento de infecções que comprometam a saúde materno-fetal, de forma especial aquelas que se apresentam assintomáticas ou subclínicas. Os riscos da transmissão materno-fetal são fatores limitantes para o desenvolvimento e vitalidade do futuro conceito” (Reiche *et al.*, 2000).

A literatura mostra evidências da importância em saúde pública de estudos soroepidemiológicos de doenças infecciosas transmissíveis verticalmente, as denominadas infecções congênitas e perinatais (Figueiró-Filho, 2007). Tal transmissão pode ocorrer durante a gestação, no momento do parto ou durante o aleitamento materno (Bittencourt, 1998).

Estudos realizados com gestantes detectaram a ocorrência de mulheres infectadas pelo HTLV.

Em áreas altamente endêmicas, como o Japão, a soroprevalência do HTLV-1 em mulheres grávidas foi de 4–5% (Hino *et al.*, 1996). Na Europa, a prevalência foi de 0,6% e os estudos de soroprevalência realizados neste continente demonstram que a maioria das mulheres grávidas positivas para o HTLV-1 eram nascidas na África ou no Caribe (Fujino & Nagata, 2000).

Maehama (2004) conduziu um estudo para avaliar a taxa de prevalência do HTLV-1 em 17.207 mulheres grávidas na cidade de Okinawa (Japão). Anticorpos para HTLV-1 foram encontrados em 670 das 17.207 mulheres analisadas, representando uma taxa de 3,9% nessa população.

Kaplan *et al.* (1992) estudaram a transmissibilidade do HTLV-2 em 236 mulheres grávidas, envolvidas em estudo de transmissão vertical do HIV-1. Mulheres consideradas positivas para HIV-1 foram aconselhadas a não amamentar seus filhos. Dentre as mulheres analisadas, 21 (8,9%) foram positivas para o HTLV-2. Amostras de sangue periférico foram coletadas de 20 crianças, desde o nascimento até os 36 meses de idade. A análise por meio da amplificação gênica, não detectou infecção em nenhuma das crianças, reforçando o fato de que a transmissão perinatal está associada, principalmente, ao aleitamento materno.

A prevalência encontrada por Van Dicke *et al.* (1995) em Nova Orleans (EUA) foi de 0,54%, sendo que 8 foram positivas para HTLV-1 e 30 para HTLV-2. Foram avaliadas ainda nesse estudo 19 crianças para identificar a transmissão vertical ou horizontal. Nenhuma dessas crianças estava infectada pelo HTLV, no entanto, a avaliação de 16 indivíduos, irmãos dessas crianças e menores de 10 anos de idade, mostrou a infecção pelo HTLV-2 em dois deles, sendo que um foi alimentado com leite materno e o outro não.

Armah *et al.* (2006) avaliaram a prevalência do HTLV em mulheres gestantes na cidade de Accra, em Gana. Nesse estudo foram coletadas amostras de 960 mulheres. Foram detectados 24 casos positivos para o HTLV, representando uma prevalência de 2,5%. Prevalência semelhante nesse país foi encontrada em outro estudo realizado com mulheres que recebiam assistência pré-natal. Foi observada uma prevalência de 2,7% para o HTLV-1 entre 517 pacientes analisadas (Apea-Kubi *et al.*, 2006).

Na República Democrática do Congo, a prevalência para o HTLV foi avaliada em 1.166 gestantes, sendo encontrada uma taxa de 3,7% (Delaporte *et al.*, 1995).

Melo *et al.* (2000) estudaram a prevalência do vírus em duas populações distintas de Moçambique, compostas por mulheres grávidas e por mulheres com histórico de DST. A prevalência encontrada no primeiro grupo foi de 0,7% (1/132) e no segundo grupo foi de 2,3% (4/171). Dentre as pacientes com DST foram detectados três (1,7%) casos de co-infecção HIV/HTLV.

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).

A prevalência da infecção pelo HTLV na Martinica foi determinada em 467 mulheres grávidas. Nesse estudo foram detectados nove (1,93%) casos de positividade para o HTLV-1 (Mansuy *et al.*, 1999).

Hong-Chuan *et al.* (2004) avaliaram a taxa de transmissão vertical em uma população de 339 mulheres da Jamaica. A soropositividade para HTLV-1 foi encontrada em 212 mulheres, mas apenas 101 forneceram amostras de sangue e de leite materno para comparação de carga proviral. A média da carga proviral nas amostras analisadas foi de 1,3% (variação de 0.009%-80.0%) para sangue periférico comparado a 0,24% (variação de 0.006%-19.1%) no leite. Coletas de sangue periférico também foram realizadas em 104 crianças, sendo que destas, 23 (22%) estavam infectadas. Dentre as crianças infectadas, o provírus foi detectado no leite materno recebido por 22 (95,7%) das crianças amamentadas, caracterizando a transmissão perinatal do vírus.

Taylor *et al.* (2005) realizaram um estudo na Europa (Bélgica, França, Alemanha, Itália, Portugal, Espanha e Inglaterra) para avaliar a prevalência de HTLV-1/2 em 234.078 mulheres grávidas. A infecção por HTLV foi confirmada em 96 mulheres

(4,1 por 10.000), sendo que 73 apresentavam infecção por HTLV-1, 17 por HTLV-2 e 6 não se pode determinar o tipo viral. A maioria dos casos de infecção por HTLV-2 foi encontrada na Espanha.

Na Eslovênia, a prevalência para o HTLV foi avaliada em 10.369 mulheres grávidas. Nesse estudo, apenas uma apresentou sororreatividade para o HTLV-1, com prevalência de 0,01% (Poljak *et al.*, 1998).

Tseliou *et al.* (2006) avaliou a prevalência do HTLV entre as mulheres da Grécia. Dentre as 2.016 mulheres triadas quanto à presença do HTLV, não foi detectado nenhum caso de infecção para esse vírus.

Machuca *et al.* (2000) conduziram um estudo em 20.366 mulheres grávidas, em doze cidades diferentes na Espanha. A prevalência encontrada para o HTLV foi de 0,064%, sendo que onze mulheres foram positivas para o HTLV-2 e duas para o HTLV-1.

Em estudo realizado na cidade de Londres foi encontrada uma prevalência de 0,37% para HTLV-1 e 0,01% para HTLV-2 em 8.656 mulheres grávidas (Donati *et al.*, 2000).

Vários estudos têm sido realizados para determinar a prevalência do HTLV na Guiana Francesa, uma área considerada endêmica para o HTLV-1. Ureta-Vidal *et al.* (1999), avaliaram a taxa de transmissão vertical, em 81 mulheres soropositivas para HTLV-1 e 216 crianças com faixa etária de 18 meses a 12 anos de idade, filhos dessas mães portadoras. A soropositividade foi detectada em 21 crianças, com uma taxa de transmissão vertical ou pelo leite de 9,7%. Outro estudo realizado nesse mesmo país mostrou uma prevalência de 3,8% para anticorpos HTLV-1 em 3.834 mulheres grávidas (Tortevoye *et al.*, 2000). Posteriormente, Carles *et al.* (2004), encontraram uma

prevalência de 4,4% e Tortevoye *et al.* (2005) de 3,44% também em mulheres grávidas deste país.

Alárcon *et al.* (2006) avaliaram a prevalência do HTLV em 2.492 mulheres grávidas no Peru. Nesse estudo foi encontrada uma alta prevalência para o HTLV-1 (1,7%), porém não se detectando nenhum caso de HTLV-2. Outro estudo realizado na cidade de Ayacucho, no Peru, mostrou uma prevalência de 0,5% para o HTLV-1 em 602 mulheres gestantes (Juscamaita *et al.*, 2004).

A frequência de infecção por HTLV-1 em mulheres grávidas é relativamente alta na Bahia. Bittencourt *et al.* (2001) conduziram um estudo com 6.754 mulheres. Testes sorológicos e moleculares mostraram uma prevalência de 0,84% (57 mulheres) para o vírus, sendo que os dados epidemiológicos demonstraram que a maioria dessas mulheres (88,5%) foi amamentada na infância. Magalhães (2006) estudou a prevalência do HTLV em 408 mulheres gestantes na cidade de Cruz das Almas, na Bahia. Foram detectados quatro (0,98%) casos positivos para o HTLV-1, não se observando nenhum caso positivo para o HTLV-2.

Evidência de transmissão vertical 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).

Broutet *et al.*, (1996) avaliaram a prevalência do HTLV entre grávidas do Rio de Janeiro. Nesse estudo foram avaliadas 814 mulheres, das quais duas (0,24%) foram encontradas ser positivas para o vírus, sendo uma para HTLV-1 e outra HTLV-2.

Em Botucatu-SP, Olbrich Neto & Meira (2004) realizaram um estudo para avaliar a prevalência de doenças sexualmente transmissíveis em 913 mulheres grávidas. A prevalência encontrada para anti-HTLV-1/2 foi de 0,2%.

Oliveira & Avelino (2006) estudaram a prevalência desse vírus em 15.484 mulheres grávidas na cidade de Goiânia, Estado de Goiás. Nesse estudo, foram encontrados 16 casos de resultados positivos para o HTLV-1, com uma prevalência de 0,1%, sendo que não foi detectado nenhum caso de HTLV-2.

Figueiró-Filho *et al.* (2005, 2007) avaliaram a prevalência do HTLV entre as grávidas do Estado de Mato Grosso do Sul. A prevalência encontrada em ambos os estudos foi de 0,1%. A transmissão mãe-filho foi avaliada em oito crianças, sendo que todas foram positivas para o HTLV.

Segundo Hisada *et al.* (2001) a infecção perinatal com HTLV-1 é considerada um fator de risco para desenvolver a LLcTA, uma vez que indivíduos que adquirem a infecção em uma fase posterior da vida desenvolvem em menor proporção a LLcTA.

Considerando-se que a maioria dos indivíduos que desenvolvem LLcTA foram infectados perinatalmente e que ainda existem poucos estudos sobre prevalência de HTLV-1/2 em gestantes comparado a outros grupos de risco, em especial na região Norte, se faz relevante realizar esse estudo, uma vez que o Estado do Pará é considerado uma região endêmica para o HTLV.

1.11- OBJETIVOS

1.11.1- Objetivo Geral

O presente estudo tem como objetivo avaliar a prevalência da infecção pelo Vírus linfotrófico de células T humanas 1 e 2 (HTLV-1/2) em mulheres grávidas no município de Belém, Pará.

1.11.2- Objetivos Específicos

- 1- Descrever a prevalência da infecção pelo HTLV em mulheres grávidas;
- 2- Determinar os tipos e subtipos moleculares do HTLV circulantes na população em estudo;
- 3- Identificar por meio da PCR, possíveis resultados sorológicos falso-negativos para anticorpos anti-HTLV;
- 4- Estabelecer o perfil epidemiológico da infecção na amostra populacional em estudo e identificar os possíveis fatores associados à transmissão do HTLV.

2- MATERIAL E MÉTODOS

2.1- POPULAÇÃO INVESTIGADA

Para avaliar a prevalência da infecção pelo HTLV-1/2 foi realizado um estudo transversal com 1.027 mulheres gestantes residentes no município de Belém-PA. As amostras analisadas foram provenientes da Unidade de Referência de Doenças Infecciosas e Parasitárias Especiais (UREDIFE) e da Unidade de Referência Especializada Materno-infantil e Adolescente (UREMIA), unidades estas em que mulheres grávidas são encaminhadas para realizar o teste de triagem para o HIV.

A coleta nas unidades básicas de saúde foi realizada no período de outubro de 2005 a janeiro de 2007. As pacientes investigadas foram informadas sobre o estudo realizado e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo1), concordando em participar da pesquisa. Quando não era possível a assinatura pela paciente a mesma era feita por um(a) responsável. Após a coleta da amostra as participantes foram entrevistadas por meio de um questionário padronizado (Anexo 2) contendo informações pessoais e possíveis fatores de risco para contrair o vírus.

2.2- MÉTODOS LABORATORIAIS

A obtenção das amostras de sangue (5 mL) foi realizada por um sistema de colheita a vácuo, em tubos contendo EDTA como anticoagulante. As amostras devidamente identificadas foram enviadas ao Laboratório de Virologia da Universidade Federal do Pará, onde foi realizado o processamento das mesmas. As amostras foram centrifugadas para obtenção do plasma e das células mononucleares do sangue periférico (PBMC). Alíquotas de plasma e células foram identificadas com um código para cada participante e

armazenadas a -20°C, para posterior realização de testes sorológicos e de biologia molecular.

2.2.1- Ensaio imunoenzimático -ELISA

As amostras foram triadas para detecção dos anticorpos anti-HTLV-1/2. Utilizou-se o ensaio imunoenzimático (ELISA, *Ortho Diagnostic Systems Inc., USA*), procedendo-se a análise conforme as instruções do fabricante. O teste utiliza uma combinação de quatro antígenos recombinantes: um antígeno do envelope do HTLV-1, um antígeno do envelope do HTLV-2 e dois antígenos do capsídeo viral do HTLV-1 e do HTLV-2. As amostras positivas para a sorologia, posteriormente foram testadas por biologia molecular para confirmação da infecção e distinção dos tipos de HTLV.

Com o objetivo de determinar possíveis casos de falso-negativos, as amostras com valores de densidade óptica (D.O) na faixa de 10% abaixo do valor de *cut-off*, seriam submetidas à pesquisa de DNA proviral por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR).

2.2.2 - Extração de DNA

As amostras com sorologia positiva ou sugestiva para HTLV-1/2, de acordo com o especificado no item 2.2.1, foram submetidas à extração de DNA, a partir de células mononucleares do sangue periférico (PBMC), utilizando o kit da *Puregene (Puregene Gentra Systemes Inc., USA)*.

2.2.3- Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e Análise de Polimorfismo por Endonucleases de Restrição (RFLP)

As amostras que apresentaram reação sorológica positiva foram posteriormente submetidas à amplificação gênica por PCR, realizado em duas etapas (*Nested PCR*), a partir do DNA extraído das células mononucleares do sangue periférico (PBMC). Essa técnica visou a amplificação de três regiões genômicas: *pX*, *env* e *5'LTR* do DNA proviral do HTLV-2 e *pX* e *5'LTR* do HTLV-1. A amplificação desses segmentos genômicos foi realizada em termociclador da *Perkin-Elmer* (*Perkin-Elmer, Cetus Corp., USA*). Após a PCR, os produtos amplificados das regiões *pX* (159 pb) e *env* (630 pb) sofreram digestão por endonuclease de restrição (Quadro 1) e o segmento *5'LTR* do HTLV-1 (800 pb) e do HTLV-2 (788 pb) foram submetidos à análise de seqüenciamento das bases nucleotídicas.

Quadro 1- Perfil do Polimorfismo por Endonucleases de Restrição (RFLP) das regiões genômicas amplificadas.

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

2.2.3.1- Amplificação do gene *pX* e análise por RFLP

A amplificação do gene *pX* (159 pb) foi realizada para investigar a presença de um sítio de restrição (T/CGA) para a enzima *TaqI*, o qual está presente somente no HTLV-2, servindo para confirmar o resultado obtido por sorologia e diferenciar a infecção por HTLV-1 e por HTLV-2.

A reação de amplificação foi realizada em um volume final de 50 μL contendo 500ng de DNA extraído, 200 μM de cada dNTP (desoxinucleotídios) (*Amresco*®, *USA*), 20 pmol/ μL de cada iniciador, MgCl_2 2,0 mM, tampão de PCR 1x (KCl 50mM, Tris-HCl pH 8,3 10 mM) e 0,5 U de *Taq* DNA polimerase (5 U/ μL , *Invitrogen*, *Brasil*). O par de iniciadores empregados na primeira reação foi o TR101 (5'-TTCCC-AGGATTTGGACAGAG-3') e o TR102 (5'-GGGTAAGGACCTTGAGGGTC-3'). Após a desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, para cada reação de amplificação foram realizados 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 40 segundos, hibridização a 51,6°C por 30 segundos e síntese a 72°C por 1 minuto, que foram seguidos por uma extensão final de 10 minutos a 72°C. No segundo passo da amplificação (*Nested* PCR), 5 μL do produto amplificado foram utilizados, considerando as mesmas condições de reação, empregando-se os iniciadores TR103L (5'-CGGATACCCAGTCTACGTGTT-3') e TR104 (5'-GAGCCGATAACGCGTCCATCG-3').

Para a análise de RFLP do produto amplificado da região *pX*, uma mistura de 20,0 μL do produto da PCR, 14,6 μL de H_2O , 4,0 μL de tampão E, 0,4 μL de BSA (*Promega*, *Madison WI*, *USA*) e 0,5 μL da enzima de restrição *TaqI* (10 U/ μL , *Promega*, *Madison WI*, *USA*) foi realizada e, posteriormente, incubada a 65°C por 5 horas, com o

objetivo de verificar a presença do sítio de restrição (T/CGA), que gera dois fragmentos (85 pb e 53 pb), presentes somente no HTLV-2 (Quadro 1).

2.2.3.2- Amplificação do gene *env* e RFLP

Para identificar e diferenciar os subtipos HTLV-2a, HTLV-2c e HTLV-2b, foi realizada a amplificação de uma região de 630pb do gene *env*. O volume total da reação foi de 50 μ L, na qual foram empregados 500 ng de DNA extraído, 125 μ M de cada dNTP (*Amresco*®, USA), 20 pmol/ μ L 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/ μ L, *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 μ L do produto da amplificação anterior e um par de iniciadores internos à região anteriormente amplificada composto de E1 (5'-CTGCAACAACCTCCATTATCCT-3') e E2 (5'-CTGCAGAAGCTA-GCAGGTCTA-3'), nas mesmas condições descritas acima.

Em cada reação de amplificação, após desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, foram realizados 35 ciclos de 40 segundos a 94°C (desnaturação), 30 segundos a 53°C (hibridização) e 40 segundos a 72°C (síntese). Os 35 ciclos foram seguidos por uma extensão final de 10 minutos a 72°C. Posteriormente o produto dessa análise foi submetido à digestão enzimática, realizada a partir de uma mistura de 5,0 μ L do material amplificado, 7,3 μ L de H₂O, 2,0 μ L de tampão D, 0,2 μ L de BSA (*Promega, Madison WI, USA*) e 0,5 μ L da enzima de restrição *Xho*I (10 U/ μ L, *Promega, Madison, WI, USA*), com posterior

incubação a 37°C por 12 horas. Com a digestão enzimática é possível diferenciar os subtipos, uma vez que o produto amplificado do 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 1).

2.2.3.3- Amplificação da região 5'LTR do HTLV-1

O produto da amplificação da região 5'LTR (800 pb) foi utilizado na análise de seqüenciamento de nucleotídeos e posterior reconstrução da árvore filogenética.

Para a amplificação da região 5'LTR as reações foram realizadas em um volume final de 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). Na primeira reação de amplificação o par de iniciadores utilizados foi o LTR-I.01 (5'-TGACAATGACCATGAGCCCCAA-3') e o LTR-I.02 (5'-CGCGGAA-TAGGGCTAGCGCT-3'). No segundo passo da amplificação (*Nested PCR*) foram utilizados 5,0 µL do produto da amplificação e o par de iniciadores LTR-I.03 (5'-GGCTTAGAGCCTCCCAGTGA-3') e LTR-I.04 (5'-GCCTAGGGAATAAAG-GGGCG-3'), internos à região anteriormente amplificada, utilizando as mesmas condições de reação.

Em cada reação de amplificação, após a desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, foram efetuados 35 ciclos de 40 segundos a 94°C (desnaturação), 30 segundos a

57°C (hibridização) e 1 minuto a 72°C (síntese). Os 35 ciclos foram seguidos por uma extensão final de 10 minutos a 72°C.

2.2.3.4- Amplificação da região 5'LTR do HTLV-2

O produto da amplificação da região 5'LTR (788 pb) foi utilizado na análise de seqüenciamento de nucleotídeos e posterior reconstrução da árvore filogenética.

A amplificação da região 5'LTR foi realizada em um volume final de 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) em cada reação. O par de iniciadores usados na primeira reação de amplificação foi o F-IILTR (5'-TCGCG-ATGACAATGGCGACTAGCCTC-3') e o *Long Gag* (5'-GGGGGCTTTGGGTATTG-GAGTTGGG-3'). No segundo passo da amplificação (*Nested PCR*) foram utilizados 5,0 µL do produto da amplificação e o par de iniciadores Mo16 (5'-GCCTC-CCAAGCCAGCCAC-3') e MSW-Gag (5'-GGGAAAGCCCGTGGATTTGCC-CCAT-3'), utilizando as mesmas condições de reação.

Em cada reação de amplificação, após a desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, foram efetuados 35 ciclos de 40 segundos a 94°C (desnaturação), 30 segundos a 57°C (hibridização) e 1 minuto a 72°C (síntese). Os 35 ciclos foram seguidos por uma extensão final de 10 minutos a 72°C.

2.2.4- Eletroforese

Os produtos das ampliações e das digestões enzimáticas foram visualizados após eletroforese (100 V/45 minutos) em gel de agarose a 1,5, 2, 3%, conforme o tamanho dos fragmentos amplificados, em tampão TAE 1x (TAE 50x estoque – TrisBase 1,6 M, Acetato de Na 0,8 M e EDTA-Na₂ 40 mM/1000 mL água deionizada), contendo 5 µL de brometo de etídio (10mg/mL), mediante a utilização de transiluminador com fonte de luz ultra-violeta.

2.2.5- Purificação do produto da PCR

A reação de purificação dos produtos amplificados da região 5'*LTR* a partir da PCR teve como objetivo melhorar o processo de seqüenciamento de bases nucleotídicas. O processo de purificação seguiu o protocolo da *QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Inc., USA)*.

2.2.6- Seqüenciamento do ácido nucleotídico

Após a purificação do produto da PCR das regiões 5'*LTR* do HTLV-1 e do HTLV-2, o DNA foi submetido ao seqüenciamento automático pelo método de terminação de cadeia por didesoxirribonucleotídeos marcados com substância fluorescente (Sanger *et al.*, 1977), utilizando o *kit* da *ABI PRISM™ 310/377 BigDye Terminator v3.1 Matrix Standards (Applied Biosystems)*. As fitas de DNA foram seqüenciadas em ambas as direções, usando-se o equipamento de seqüenciamento automático *ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)*.

A reação de seqüenciamento foi realizada em um volume final de 10 μL , contendo 10-30 ng de produto de PCR purificado, *Terminator Ready Reaction Mix*, tampão, iniciadores (5,0 pmol/ μL) e H_2O deionizada (Quadro 2).

Quadro 2- Composição da reação de seqüenciamento

REAGENTES	VOLUME (μL)
<i>Terminator Ready Reaction Mix</i>	0,5
Tampão	1,0
DNA 10-30 ng (produto da PCR purificado)	0,5
Iniciadores (5,0 pmol/ μL)	1,0
H_2O deionizada	7,0
Total	10,0

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, MgCl_2 , Pirofosfato Termo-estável e *AmpliTaq* DNA Polimerase, FS.

O seqüenciamento das amostras foi realizado no termociclador *GeneAmp PCR System 2400* (*Perkin-Elmer, Cetus Corp., USA*), no qual foram efetuados 35 ciclos de 10 segundos a 94°C, 5 segundos a 58,5°C e 60°C (HTLV-2 e HTLV-1, respectivamente) e 4 minutos a 60°C. Ao final do processo, a mistura foi resfriada à 4°C.

2.2.6.1- Precipitação do DNA Sequenciado

Para a precipitação do DNA sequenciado foram adicionados 40 µL de isopropanol a 65% aos 10 µL da solução de reação de sequenciamento. Posteriormente a solução foi homogeneizada em agitador mecânico e deixada à temperatura ambiente, ao abrigo da luz durante 15 minutos. Em seguida, a solução foi centrifugada por 25 minutos a 14000 rpm. O sobrenadante foi então desprezado e adicionou-se ao precipitado 300 µL de etanol a 60%. Foi realizada uma nova centrifugação a 14000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi novamente desprezado e o precipitado ficou secando à temperatura ambiente por aproximadamente 20 minutos.

2.2.6.2- Eletroforese do DNA Sequenciado

O sistema de eletroforese utilizou o sequenciador *ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)*. A corrida foi realizada seguindo o protocolo do fabricante em um capilar de 61 cm preenchido com o polímero *POP-6 (Performance Optimized Polymer 6, Applied Biosystems, USA)*, nas seguintes condições: voltagem de corrida 12,2 kV, corrente 3-5 µA, temperatura 50°C, tempo de corrida 2 horas e 45 minutos.

2.3- ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS NUCLEOTÍDICAS

2.3.1- Edição e Alinhamento das Sequências 5'LTR

Para a análise comparativa entre as sequências nucleotídicas é necessário que as mesmas estejam perfeitamente alinhadas, considerando o pareamento de bases homólogas. A edição das sequências foi realizada utilizando o programa *BioEdit*

versão 5.0.9 (Hall, 1999) e o alinhamento por meio do programa *Clustal X* (Thompson *et al.*, 1997) operado em Windows.

2.3.2- Análise Filogenética

As seqüências nucleotídicas da região 5'*LTR* foram utilizadas para estabelecer as relações filogenéticas entre os HTLV-1 e os HTLV-2 isolados neste estudo, assim como, com outras seqüências previamente descritas na literatura e que estão disponíveis no *Genbank*. Essas seqüências foram avaliadas para efeito de comparação e discussão, com o auxílio do método de Agrupamento de Vizinhos (*Neighbor-Joining*) para reconstrução das relações filogenéticas.

O agrupamento de vizinhos é um método que faz referência à distância genética entre as amostras, agrupando-as de acordo com a maior similaridade (Saitou & Nei, 1987). O método estabelece, primeiramente, os cálculos para o percentual de divergências entre todos os pares de seqüência, corrigindo estes valores para múltiplas substituições ao usar o modelo de Kimura 2-parâmetros e as distâncias corrigidas são usadas para gerar as árvores filogenéticas. Para a realização deste método também foi utilizado o programa MEGA4 – *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* versão 4.0 (Tamura *et al.*, 2007). A sustentação estatística da árvore filogenética foi efetuada por meio da análise de *bootstrap* que gera 1.000 réplicas do banco de dados.

2.4- ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos no presente estudo foram analisados através de testes estatísticos, utilizando o programa Bioestat versão 4.0 (Ayres *et al.*, 2005). Foram avaliadas características sócio-demográficas e epidemiológicas, para estabelecer os principais fatores de risco associados à transmissão pelo HTLV. Para avaliar a distribuição das variáveis categóricas entre os grupos (HTLV positivo e HTLV negativo) foi aplicado (para cada categoria) o teste binomial conforme recomendado por Ayres *et al.*, 2005, sendo que o poder estabelecido de decisão α foi de 0,05, aceitando-se a hipótese de nulidade quando $\alpha > 0,05$ e rejeitando-se a nulidade e aceitando-se a resposta alternativa quando $\alpha \leq 0,05$.

3- RESULTADOS

3.1- SOROLOGIA

A análise sorológica da presença de anticorpos específicos para HTLV-1/2 mostrou a ocorrência de sororreatividade em seis (0,58%) das 1.027 amostras testadas. Com relação à pesquisa de possíveis resultados falso-negativos na análise por ELISA, não foram constatados valores de densidade ótica próximo ao valor do *cut-off* (D.O abaixo de 10% do valor do *cut-off*) em nenhuma das amostras que pudessem posteriormente ser retificados por meio da biologia molecular.

3.2- CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR

3.2.1- Região *pX*

As amostras que foram positivas por ELISA foram submetidas à amplificação da região *pX* (159 pb) para confirmar a infecção pelo HTLV. As seis amostras positivas tiveram esse segmento amplificado, confirmando o resultado obtido na sorologia, e excluindo-se, portanto, casos de resultados falso-positivos (Figura 5).

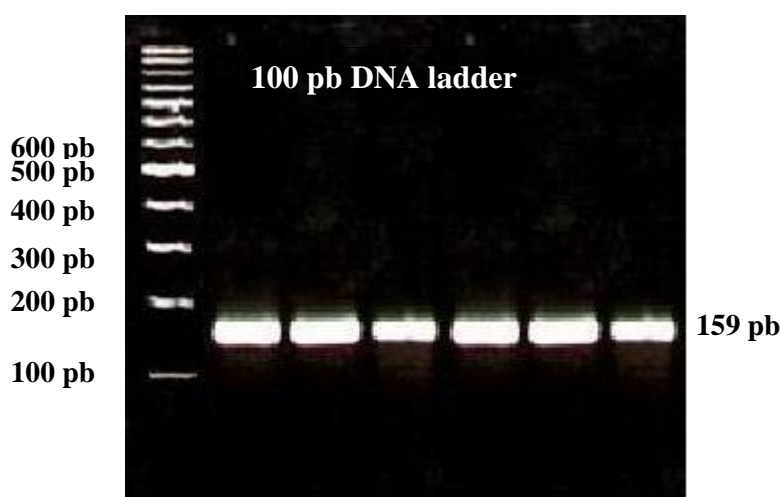


Figura 5- Fragmento amplificado de 159 pb da região *pX*.

Após a amplificação da região *pX*, as amostras foram submetidas a análise de RFLP, utilizando-se a endonuclease *TaqI*, a qual permite a diferenciação dos tipos virais encontrados. Quatro das seis amostras testadas, não apresentaram o sítio de restrição para esta enzima, sendo classificadas como HTLV-1. As duas outras amostras apresentaram o sítio de restrição (T/CGA), gerando dois fragmentos, um de 53 pb e outro de 85 pb, sendo classificadas, portanto, como HTLV-2 (Figura 6).

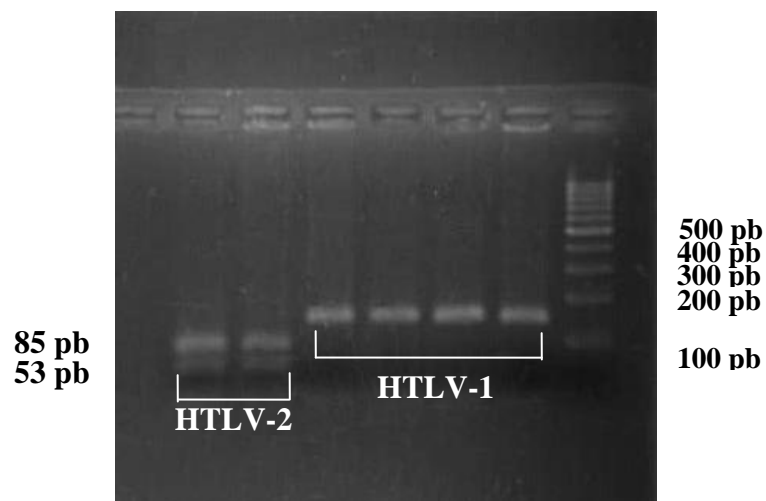


Figura 6 - Produto da digestão enzimática com *TaqI* a partir do fragmento de 159 pb da região *pX*.

3.2.2- Região *env*

As duas amostras classificadas como HTLV-2 foram submetidas à amplificação do gene *env* (630 pb), para posterior análise por RFLP, para diferenciação dos subtipos virais encontrados. Apenas uma delas pôde ter o segmento correspondente ao gene *env*, amplificado (Figura 7).

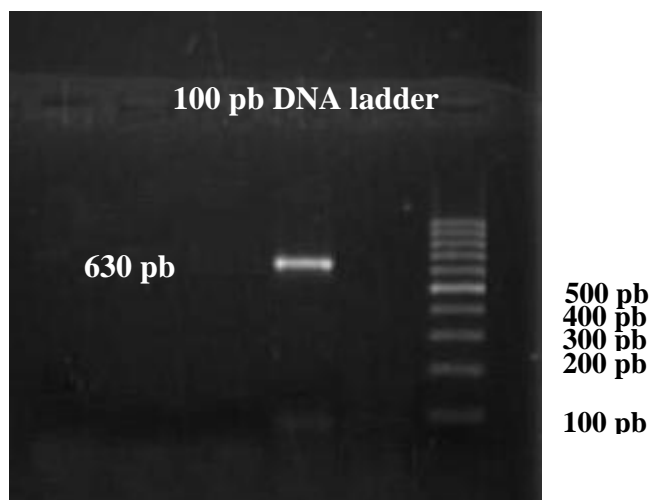


Figura 7- Produto da amplificação do fragmento de 630 pb da região *env* do HTLV-2.

O produto amplificado do gene *env* foi posteriormente submetido à análise de RFLP com a enzima *Xho*I. Essa amostra apresentou o sítio de restrição para esta enzima, gerando dois fragmentos, um de 452 pb e outro de 178 pb, sendo classificada, portanto, como HTLV-2a/2c (Figura 8).

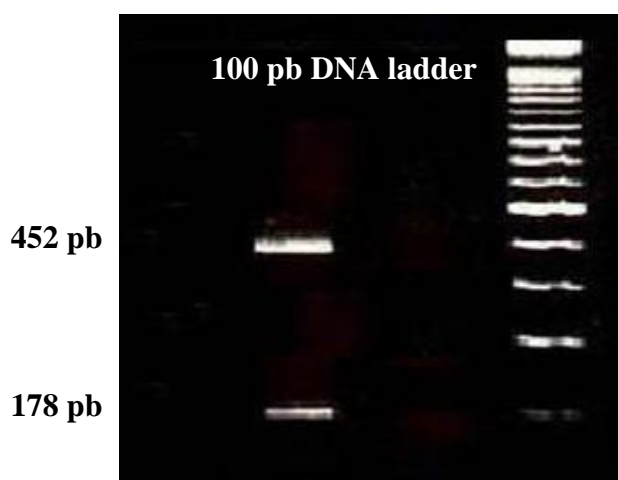


Figura 8- Produto da digestão enzimática com *Xho*I do fragmento de 630 pb da região *env* do HTLV-2.

3.2.3- Região 5'*LTR* do HTLV-1

As amostras classificadas como HTLV-1, foram submetidas à amplificação da região 5'*LTR* (800 pb) para posterior seqüenciamento e análise filogenética. Apenas duas das quatro amostras classificadas como HTLV-1 puderam ter esse segmento amplificado e seqüenciado (Figura 9).

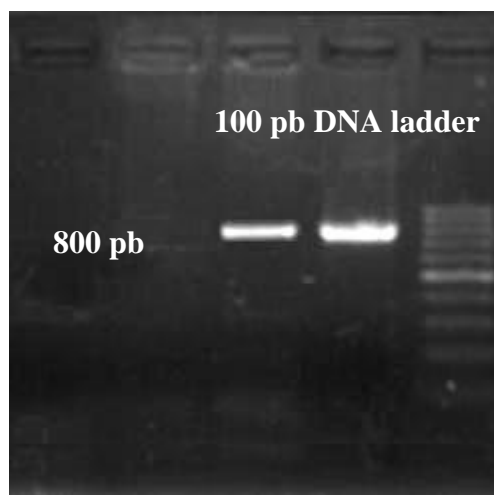


Figura 9 – Fragmento amplificado de 800 pb da região 5' *LTR* do HTLV-1.

3.2.4- Região 5' *LTR* do HTLV-2

As duas amostras classificadas como HTLV-2, foram submetidas à amplificação da região 5' *LTR* (788 pb) para posterior seqüenciamento e subsequente análise filogenética. Apenas uma delas teve esse segmento amplificado e seqüenciado (Figura 10).

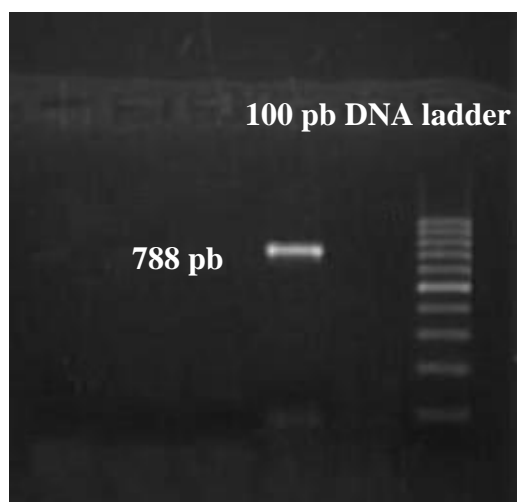


Figura 10 – Fragmento amplificado de 788 pb da região 5' *LTR* do HTLV-2.

3.2.5- Análise das Sequências de Bases Nucleotídicas da região 5'*LTR* do HTLV

Por meio da reação de seqüenciamento de bases nucleotídicas, pôde-se reconstruir um segmento equivalente a 730 pb da região 5'*LTR* do HTLV-1 e outro segmento de 780 pb da região 5'*LTR* do HTLV-2. As regiões seqüenciadas correspondentes a região 5'*LTR* do HTLV-1 foram comparadas entre si, com a cepa protótipo do HTLV-1, HTLV-1_{ATK} (Seike *et al.*, 1983) e com outras seqüências disponíveis no *GenBank*. O mesmo foi realizado com a amostra HTLV-2, cuja seqüência foi comparada com as cepas protótipo do HTLV-2a (HTLV-2_{MOT} Shimotohno *et al.*, 1985) e HTLV-2b (HTLV-2_{NRA}, Lee *et al.*, 1993) e com outras seqüências disponíveis no *GenBank*.

A análise comparativa entre seqüências nucleotídicas da região 5'*LTR* do HTLV-1 isoladas no presente estudo (BELG148 e BELG259), identificou uma similaridade média de 99,4% e a comparação das amostras isoladas, com o protótipo HTLV-1_{ATK} mostrou uma similaridade média de 97,8%. Com relação ao isolado HTLV-2 (BELG712), a comparação com as cepas protótipo HTLV-2a e HTLV-2b mostrou um percentual de similaridade de 80,6% e 78%, respectivamente.

3.2.6- Análise Filogenética

A árvore filogenética obtida a partir da comparação das seqüências nucleotídicas da região 5'*LTR* das amostras de HTLV-1 isoladas no presente estudo com outros 50 isolados disponíveis no *Genbank*, mostra claramente que as amostras BELG148 e BELG259 se agruparam no clado composto pelos isolados do subtipo Cosmoplita, subgrupo Transcontinental, com valor de *bootstrap* de 56% (Figura 11).

A análise filogenética da seqüência nucleotídica da região 5'*LTR* da amostra positiva para o HTLV-2 (BELG712) com outros 57 isolados descritos no *Genbank*, mostrou que o isolado do presente estudo se agrupou com as outras cepas descritas como HTLV-2c, associação esta sustentada por um valor de *bootstrap* de 57% (Figura 12).

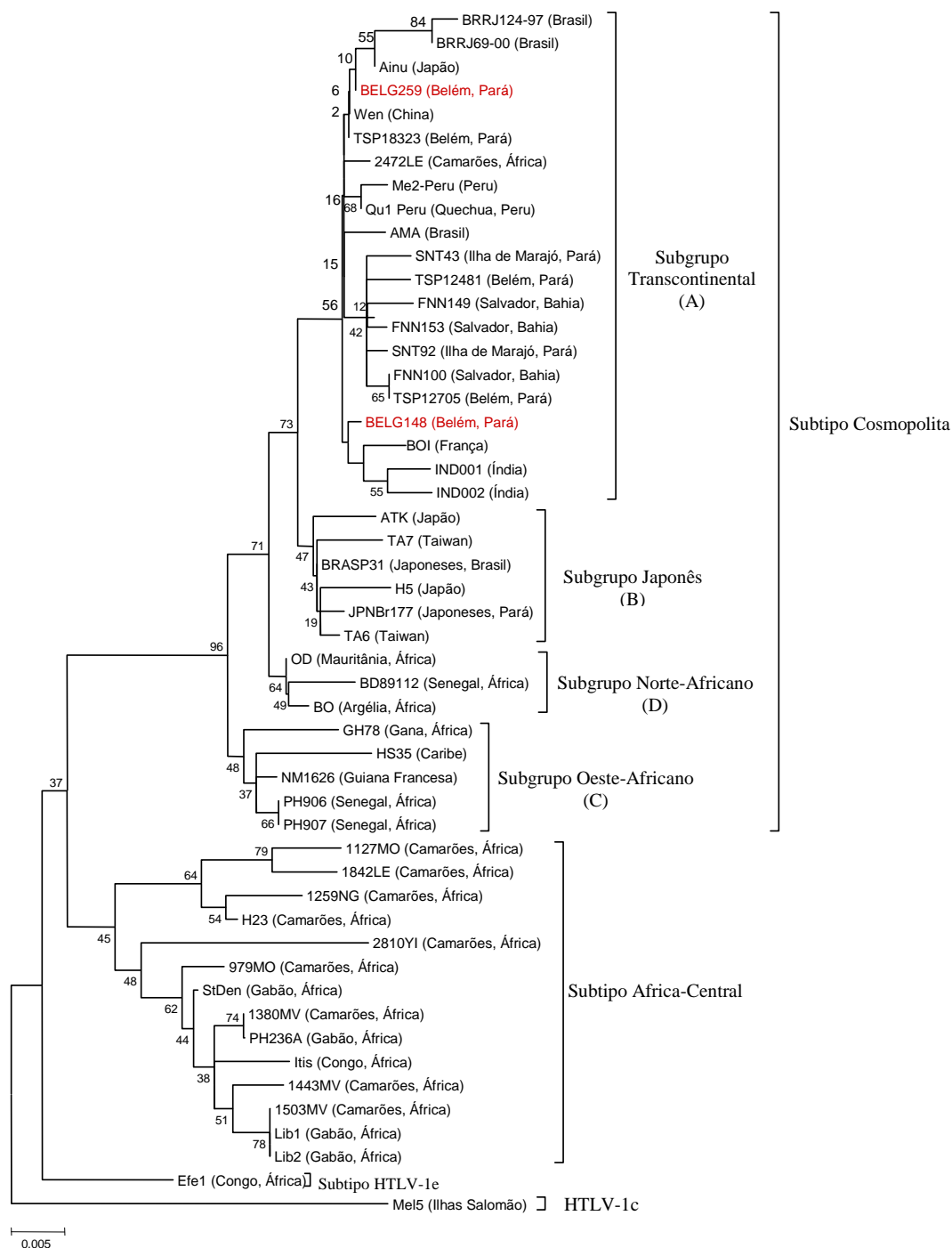


Figura 11- Árvore filogenética enraizada, mostrando as relações filogenéticas entre as cepas do HTLV-1 descritas no presente estudo (amostras em vermelho; BELG148 e BELG259) com aquelas disponíveis no *GenBank*. A árvore foi construída usando o modelo de agrupamento de vizinhos (*Neighbor-Joining*) após o alinhamento de 370 nucleotídeos da região 5' *LTR*. O teste de sustentação estatística (*bootstrap*) foi aplicado usando 1.000 réplicas.

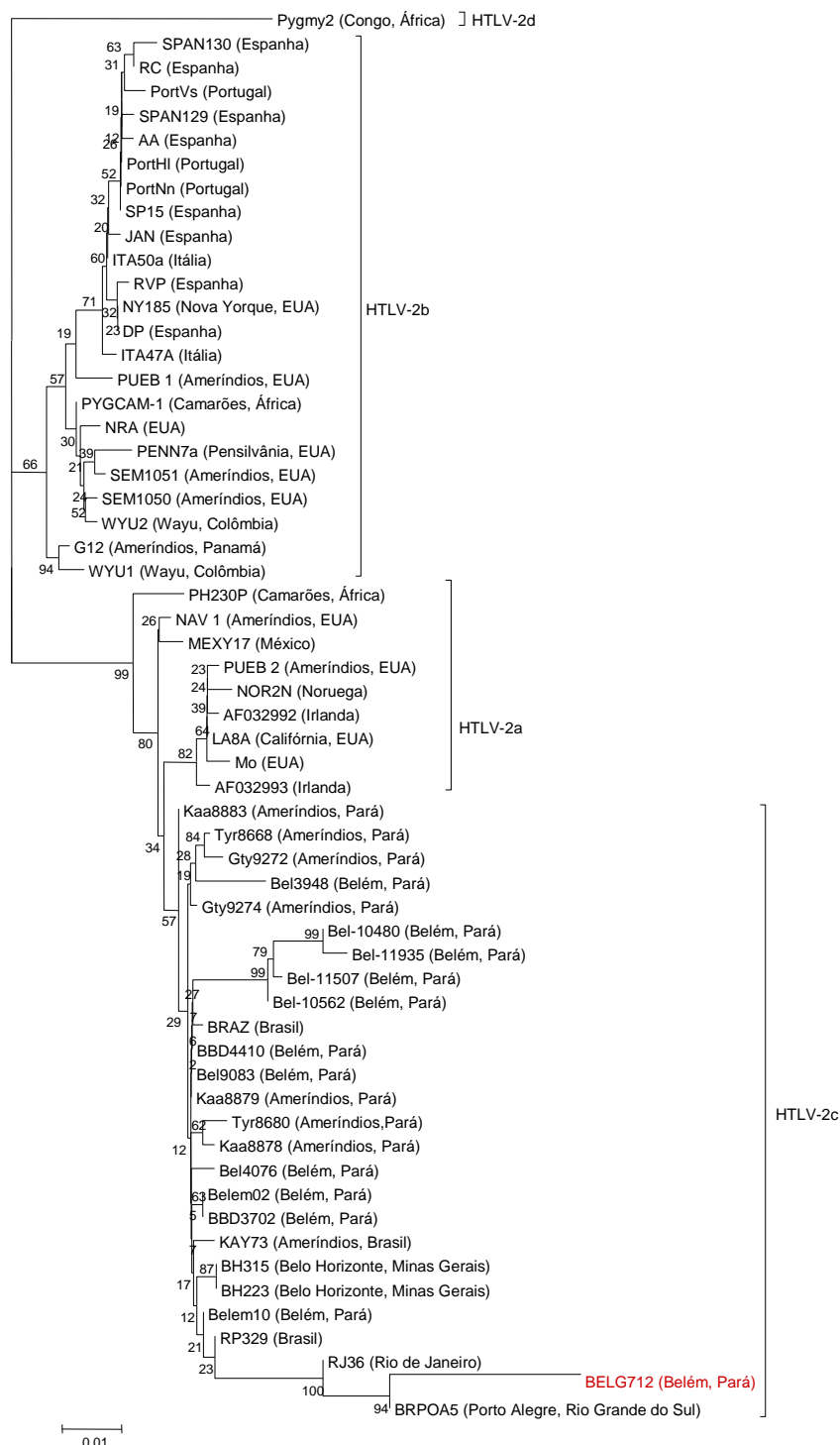


Figura 12- Árvore filogenética não enraizada, mostrando as relações filogenéticas entre as cepas do HTLV-2 descritas no presente estudo (amostra em vermelho; BELG712) com aquelas disponíveis no *GenBank*. A árvore foi construída usando o modelo de agrupamento de vizinhos (*Neighbor-Joining*) após o alinhamento de 530 nucleotídeos da região 5' *LTR*. O teste de sustentação estatística (*bootstrap*) foi aplicado usando 1.000 réplicas.

3.2.7- Aspectos Epidemiológicos da População Estudada

A análise estatística dos dados obtidos no presente estudo foi realizada com o programa Bioestat versão 4.0 (Ayres *et al.*, 2005). Embora a soroprevalência tenha sido determinada em 1.027 mulheres, foi possível somente a análise de 923 inquéritos epidemiológicos.

A média de idade das pacientes envolvidas no estudo foi de $22,6 \pm 6,1$ e as mesmas foram agrupadas conforme suas faixas etárias em cinco estratos (Tabela 1).

Foram avaliadas nesse estudo informações sociodemográficas e epidemiológicas, utilizando o teste binomial, com nível de significância de 0,05 para verificar os possíveis fatores de associação à transmissão do HTLV (Tabelas 2 e 3).

Tabela 1- Distribuição das pacientes conforme faixa etária

Classes	Fi	Freq.relativa (%)
12 — 18	286	30,99
19 — 25	370	40,09
26 — 32	201	21,78
33 — 39	55	5,96
40 — 46	11	1,19
Total	923	100,00

Entre as grávidas infectadas pelo HTLV quatro eram primigestas e duas estavam na sua terceira gestação.

Para verificar se a variável idade estava ou não associada à transmissão do HTLV, as mulheres foram divididas em dois grupos, que incluiu menores ou iguais e maiores de 18 anos de idade.

Comparando mulheres soropositivas e soronegativas para o HTLV, a análise estatística demonstrou que a variável idade não está associada ao aumento da infecção pelo HTLV (Tabela 2), apesar de ter sido verificada uma prevalência maior desse vírus em mulheres maiores de 18 anos de idade, observando-se nesse grupo quatro casos de resultado positivo para o HTLV.

Com relação ao estado civil não foi observada diferença estatisticamente significativa entre casadas e solteiras, assim como também não foi observada diferença significativa entre as mulheres com menor e maior nível de instrução (Tabela 2). Dentre as pacientes analisadas, quatro (0,43%) eram analfabetas, seis (0,65%) eram alfabetizadas, 425 (46,05%) tinham o 1º grau, 457 (49,51%) tinham o 2º grau, 23 (2,49%) tinham o nível superior e oito (0,87%) não se obteve a informação.

A análise quanto à renda familiar na positividade para o HTLV, também não mostrou diferença entre as mulheres com maior ou menor nível sócio-econômico (Tabela 2).

Tabela 2- Análise das características sócio-demográficas e a associação desses fatores com a transmissão do HTLV.

Variável	N (%)	HTLV-negativo	HTLV-positivo	<i>p</i>
Idade				
≤ 18	286 (30,99)	284	2	0,9007
>18	637 (69,01)	633	4	0,9007
Escolaridade				
Fundamental	435 (47,54)	433	2	0,4844
Médio	457 (49,95)	453	4	0,4111
Superior	23 (2,51)	23	0	0,6931
Estado civil				
Casadas/amigadas	319 (34,75)	317	2	0,9417
Solteiras*	599 (65,25)	595	4	0,9417
Renda Familiar				
<1	77 (8,88)	76	1	0,5011
1-3	678 (78,20)	674	4	0,4923
4-7	105 (12,11)	104	1	0,7314
8-10	5 (0,58)	5	0	0,8515
>10	2 (0,23)	2	0	0,9059

Solteiras* Neste grupo foram incluídas mulheres desquitadas e divorciadas.

No que diz respeito ao uso de drogas não endovenosas, 536 (58,07%) informaram usar algum tipo de droga, sendo que as mais citadas foram álcool e cigarro, seguida de maconha e cocaína. Dentre as variáveis conhecidas como fatores potencialmente associados à transmissão pelo HTLV, não foi relatado uso de drogas endovenosas em nenhuma das pacientes.

A hemotransfusão foi observada em 28 (3,03%) das mulheres analisadas, porém, entre as pacientes portadoras do HTLV este fator não foi relatado, assim como o histórico de DST e a relação sexual com parceiros promíscuos ou usuários de drogas endovenosas. Entretanto, não se pode descartar a relevância desses fatores na transmissão

do HTLV, uma vez que dentre as pacientes soronegativas, três estavam infectadas pelo HIV-1 e o restante relatou outras DST como: HPV, gonorréia, herpes genital e sífilis, totalizando 78 (8,45%) mulheres com histórico de DST das 923 avaliadas por inquérito epidemiológico.

Dentre as portadoras do HTLV apenas uma tinha tatuagem, sendo que este fator não foi significativo na contribuição da prevalência do HTLV na amostra analisada.

Com relação à prática do sexo anal, este fator não foi estatisticamente significativo quando comparado entre as mulheres positivas e as negativas para o HTLV. O mesmo foi observado quanto ao uso do preservativo, ainda que 89,5% das mulheres afirmassem não usar o preservativo ou não usá-lo com regularidade quando mantinham relação sexual com seus parceiros.

Dentre as variáveis analisadas, a única que assumiu valor estatisticamente significativo e, portanto, sendo considerada como fator associado à transmissão do HTLV foi a relação sexual com trabalhador comercial do sexo. Das oito pacientes que mantiveram esse tipo de relação, uma foi considerada positiva para o HTLV (Tabela 3).

Tabela 3- Análise das variáveis epidemiológicas como fatores de associação à transmissão do HTLV.

Variável	N (%)	HTLV-negativo	HTLV-positivo	<i>p</i>
Tatuagem				
Sim	166 (17,98)	165	1	0,9328
Não	757 (82,02)	752	5	0,9328
Sexo anal*				
Sim	340 (36,84)	338	2	0,6975
Não	487 (52,76)	483	4	0,6975
Sexo com T.C.S [§]				
Sim	8 (0,87)	7	1	< 0,0001
Não	915 (99,13)	910	5	< 0,0001
Uso do preservativo				
Sim	97 (10,5)	97	0	0,3049
Não	826 (89,5)	820	6	0,3997
Nº de parceiros				
Até 1	886 (96,0)	880	6	0,6155
Mais de 1	37 (4,0)	37	0	0,6155

Sexo anal*- não foram consideradas as repostas não quer comentar e não se aplica (96; 10,4%).

T.C.S[§] - Trabalhador comercial do sexo.

4- DISCUSSÃO

4.1- SOROEPIDEMIOLOGIA DO HTLV

A soroprevalência do HTLV-1/2 varia conforme a região geográfica e as subpopulações analisadas. Vários estudos foram propostos para estimar a prevalência em doadores de sangue, usuários de drogas injetáveis, trabalhadores comerciais do sexo, pacientes com desordens neurológicas e grávidas (Gessain, 2004; Vrieling & Reesink, 2004).

Embora vários estudos sobre a soroprevalência do HTLV nessas subpopulações tenham sido realizados, ainda, existem poucos estudos envolvendo mulheres grávidas em nível de Brasil e principalmente da Região Norte. Assim sendo, esse estudo objetivou determinar a soroprevalência e o subtipo de HTLV presente em grávidas residentes no município de Belém, Pará, Brasil.

No presente trabalho, a soroprevalência observada foi de 0,58%. Taxas semelhantes foram encontradas em outros estudos envolvendo mulheres grávidas. Em dois estudos realizados na Bahia, a prevalência encontrada foi de 0,84% e 0,98%, respectivamente (Bittencourt *et al.*, 2001; Magalhães, 2006). Uma prevalência de 0,5% foi verificada no Peru (Juscamaita *et al.*, 2004), embora essa prevalência tenha sido considerada baixa em relação a outros estudos realizados nesse país. Em outro estudo realizado na cidade de Londres, a prevalência encontrada para anticorpos anti-HTLV foi de 0,39% (Donati *et al.*, 2000). Em Moçambique foi encontrada uma prevalência de 0,7% entre as gestantes (Melo *et al.*, 2000). Prevalência de 0,5% foi observada na cidade de Burkina Faso, no oeste da África (Collenberg *et al.*, 2006).

A taxa de prevalência encontrada para o HTLV em nosso estudo, foi menor quando comparada às encontradas em outros países considerados endêmicos para esse vírus, como Martinica (1,7%), Guiana Francesa (3,8%), Japão (3,9%), Peru (1,7%) e Gana (2,5%) (Mansuy *et al.*, 1999; Tortevoye *et al.*, 2000; Maehama, 2004; Alárcon *et al.*, 2006; Armah *et al.*, 2006). No entanto, a taxa encontrada no trabalho foi maior quando comparada às taxas de países considerados não endêmicos, como Eslovênia (0,01%), Espanha (0,06%), e outros países da Europa (0,007 a 0,11%) (Poljak *et al.*, 1998; Machuca *et al.*, 2000; Taylor *et al.*, 2005).

Prevalência menor em gestantes foi observada em outros estudos brasileiros, como nos Estados de Goiás e Mato Grosso do Sul, onde a prevalência encontrada foi de 0,1% (Figueiró-Filho *et al.*, 2005, 2007; Oliveira & Avelino, 2006) e Ceará e São Paulo, que mostraram taxa de aproximadamente 0,2% para o HTLV (Broutet *et al.*, 1996; Olbrich Neto & Meira, 2004).

Considerando outros estudos realizados na população de Belém (PA), a prevalência encontrada neste estudo foi menor do que aquelas obtidas por Vallinoto *et al.* (1998) e Laurentino *et al.* (2005) que encontraram prevalências de 6 e 5,1%, respectivamente. No entanto, vale ressaltar que ambos os estudos foram realizados em uma população de indivíduos portadores do HIV-1.

Nesse estudo, não foi encontrado na análise sorológica nenhuma amostra com valor de densidade óptica dentro do limite estabelecido (D.O abaixo de 10% do valor do *cut-off*) que pudesse servir para a pesquisa de DNA proviral com o objetivo de detectar um possível caso de resultado falso-negativo, embora isso tenha sido demonstrado por Ishak *et al.* (2006) em oito amostras do grupo indígena Arara do Laranjal (PA) que foram

consideradas negativas na análise por sorologia, mas que pela análise molecular foram classificadas como HTLV-2.

O presente estudo serviu para corroborar o fato de que o Pará é um dos Estados brasileiros de maior prevalência para o HTLV, assim como a Bahia. Isso talvez se explique pela maior miscigenação dos povos desses dois estados brasileiros. Enquanto que no Estado da Bahia observa-se prevalência maior para o HTLV-1 (Alcântara *et al.*, 2003a), no Pará, a prevalência é maior para o HTLV-2, merecendo destaque as populações indígenas, nas quais se detectam as maiores taxas de infecção por esse vírus (Ishak *et al.*, 2001).

4.2- EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR

A análise molecular das regiões genômicas (*pX*, *env* e *5'LTR*) do HTLV, possibilitou a diferenciação dos tipos 1 e 2, obtidos no presente estudo.

Nesse estudo ficou evidenciada a maior prevalência do HTLV-1 em relação ao HTLV-2. Das seis amostras positivas, quatro eram de HTLV-1 (66,6%) e duas de HTLV-2 (33,3%). Esses achados foram semelhantes a outros estudos realizados em mulheres grávidas no Brasil (Bittencourt *et al.*, 2001; Figueiró-Filho *et al.*, 2005; Magalhães, 2006; Oliveira & Avelino, 2006) e em outras partes do mundo (Donati *et al.*, 2000; Melo *et al.*, 2000; Tortevoye *et al.*, 2000; 2005; Juscamaita *et al.*, 2004; Armah *et al.*, 2006) e diferentes do encontrados por Vandick *et al.* (1995) e Machuca *et al.* (2000), os quais observaram uma maior proporção do HTLV-2 em relação ao HTLV-1. A provável explicação para esta diferença de prevalência observada entre os dois vírus, reside no fato de que nesses dois últimos estudos, os autores referiram que a maioria das mulheres

positivas para o HTLV-2 fazia uso de drogas endovenosas, enquanto que isso não foi observado nos outros estudos envolvendo gestantes, mostrando que esse vírus ainda encontra-se mais freqüente em usuários desse tipo de droga e em tribos indígenas, ratificando o que já foi descrito em estudos anteriores (Hall *et al.*, 1994; 1996; Ishak *et al.*, 1995; Ferreira Jr. *et al.*, 1997; Salemi *et al.*, 1999).

O presente estudo contrasta com os resultados obtidos de estudos anteriores realizados por Vallinoto *et al.* (1998) e Laurentino *et al.* (2005) na área urbana de Belém em pacientes co-infectados como o HIV-1, nos quais foi observada uma prevalência maior do HTLV-2 em relação ao HTLV-1, e confirmam os resultados obtidos por Vallinoto *et al.* (1998) em doadores de sangue, o que mostra a circulação de ambos os vírus na área urbana de Belém.

Não foi possível a amplificação do gene *env* e 5'*LTR* de uma amostra positiva para o HTLV-2, assim como a amplificação de duas seqüências 5'*LTR* para o HTLV-1. Foram realizadas novas extrações do DNA dessas amostras, sem sucesso na amplificação. Duas pacientes foram convidadas a fazer uma nova coleta de sangue, sendo DNA extraído novamente pelo método fenol-clorofórmio e com o kit da NeoScience (*NeoScience*®, *Biometrix Diagnóstica, Brasil*). Posteriormente realizou-se a análise qualitativa em gel de agarose a 0,8% e quantitativa a partir da absorbância óptica das amostras com filtro de 260 nm. Ambas as análises mostraram que o DNA estava bom pra uso, com banda nítida no gel e acima de 500ng de DNA, quantidade inicialmente proposta para amplificação das regiões genômicas do HTLV. A amplificação utilizando *Platinum*® *PCR Supermix* da Invitrogen também foi realizada, porém sem sucesso. Diante do que foi exposto, podemos inferir como causas prováveis da não amplificação, a presença de mutações em sítios

específicos dos iniciadores, o que resultou na ausência de amplificação do DNA proviral, ou ainda, a existência de uma baixa carga proviral (< 10 cópias/ $0,7 \mu\text{g}$ DNA), o que pode levar a uma dificuldade na amplificação gênica (Cimarelli *et al.*, 1995).

4.2.1- Caracterização Molecular e Filogenia do HTLV-1

A análise filogenética das seqüências das amostras positivas para HTLV-1 (BELG148 e BELG259) demonstrou que as mesmas pertenciam ao subtipo Cosmopolita, subgrupo Transcontinental. Esse subtipo tem ampla distribuição mundial, sendo endêmico em algumas partes do mundo (Ureta-Vidal *et al.*, 1994).

Outros estudos realizados demonstraram a ocorrência desse subtipo. O subtipo Cosmopolita, subgrupo Transcontinental foi encontrado em nativos da Ilha de Páscoa, na Polinésia (Ohkura *et al.*, 1999), em nativos da Guiana Francesa (Talarmin *et al.*, 1999).

Diop *et al.* (2006) isolou e identificou o sugrupo Transcontinental em doadores de sangue na cidade de Dakar, Senegal.

Foi também possível identificar esse subtipo em amostras do Chile e da Colômbia (Miura *et al.*, 1997). Em outro estudo realizado em Tumaco, Colômbia, Bálcazar *et al.* (2003), por meio do seqüenciamento da região *env*, identificou este subgrupo em sete indivíduos com PET/MAH. Na Argentina a análise filogenética da região *LTR* de 35 isolados, demonstrou a ocorrência do mesmo grupo em 32 amostras (Eirin *et al.*, 2006). Anteriormente, já havia sido demonstrada a presença desse subgrupo na transmissão intrafamiliar de uma doadora de sangue neste país (Gastaldello *et al.*, 2005).

Estudos realizados no Brasil demonstraram também maior prevalência para essa cepa.

Esse subtipo também foi evidenciado por Magalhães (2006) em estudo na cidade de Cruz das Almas (BA) em quatro amostras positivas para o HTLV-1. Maior ocorrência para o subtipo Cosmopolita, subgrupo Transcontinental, também foi encontrada em 82 isolados de HTLV-1 da população geral, bem como de mulheres grávidas, usuários de drogas e pacientes com doenças neurológicas em Salvador (BA). Apenas uma amostra nesse estudo foi classificada como sendo subtipo Cosmopolita, subgrupo Japonês, sendo essa amostra de uma mulher grávida (Alcântara Jr. *et al.*, 2003a).

Segurado *et al.* (2002) estudaram uma coorte de pacientes assintomáticos e pacientes com PET/HAM no estado de São Paulo. A maioria das amostras de pacientes assintomáticos (73,8%) e pacientes que desenvolveram PET/MAH (89,3%) pertencia ao subtipo Cosmopolita, subgrupo Transcontinental, sendo também encontrados nesse estudo os subgrupos Japonês e África Ocidental, ambos com frequência de 7,1% entre os portadores assintomáticos e sintomáticos.

Renner (2005) estudou a transmissão intrafamiliar do HTLV em indivíduos soropositivos para esse vírus no Rio Grande do Sul. Nesse estudo foi possível isolar oito seqüências, sendo que todas elas foram classificadas como Cosmoplita, Transcontinental.

Estudos realizados no Estado do Pará, também evidenciaram a maior prevalência desse subgrupo. Em pesquisa conduzida por Vallinoto *et al.* (2004) em imigrantes japoneses vivendo no município de Tomé-Açu, a positividade para o HTLV-1 foi constada em três indivíduos. A análise filogenética mostrou que um dos isolados

pertencia ao subtipo Cosmoplita, subgrupo Transcontinental e os outros dois eram do subgrupo Japonês.

Laurentino *et al.* (2005) estudando 169 indivíduos infectados pelo HIV-1 em Belém (PA) identificaram dois indivíduos co-infectados HIV/HTLV-1. Posteriormente, a análise das seqüências da região *LTR*, mostrou que ambos estavam infectados pelo subtipo Cosmopolita, subgrupo Transcontinental.

A ocorrência desse subgrupo também foi demonstrada Vallinoto *et al.* (2006) em dois habitantes de comunidades remanescentes de quilombos localizados na Ilha de Marajó.

Outro estudo realizado na cidade de Belém, envolvendo cinco pacientes com PET/MAH evidenciou também a ocorrência desse subgrupo nos cinco isolados de HTLV-1 (Souza *et al.*, 2006).

Os resultados do presente estudo aliado aos já realizados em outras populações brasileiras, como citados acima, mostram claramente o subtipo Cosmopolita, subgrupo Transcontinental como sendo a cepa prevalente na população brasileira. Ademais, considerando a sua origem africana, é possível inferir a sua entrada no Brasil por meio do tráfico humano ocorrido durante os séculos XVII e XVIII.

4.2.2- Caracterização Molecular e Filogenia do HTLV-2

Como reportado anteriormente, o HTLV-2 é comum entre os povos indígenas americanos, nas tribos de pigmeus africanos e entre os usuários de drogas endovenosas (Hall *et al.*, 1994; 1996; Ishak *et al.*, 1995, Salemi *et al.*, 1999).

No Brasil, o HTLV-2 tem sido detectado entre doadores de sangue, usuários de drogas endovenosas de áreas urbanas e ameríndios da região Amazônica (Ishak *et al.*, 1998; 2001).

No presente estudo, a amostra positiva para o HTLV-2 (BELG712) foi classificada como pertencente ao subtipo HTLV-2c por meio da análise filogenética da região 5' *LTR*.

A primeira detecção desse subtipo foi feita por Ishak *et al.* (1995) entre índios Kayapó, sendo depois confirmada por Eiraku *et al.* (1996) entre usuários de drogas endovenosas, que incluiu amostras de Recife, Rio de Janeiro e São Paulo, constituindo a primeira evidência da circulação desse vírus em áreas urbanas do Brasil. Posteriormente, a presença desse subtipo foi demonstrada no Estado do Pará em doadores de sangue e pacientes infectados pelo HIV na cidade de Belém e em três comunidades indígenas do Estado (Gorotire, Kayapó e Tiriyo) (Vallinoto *et al.*, 2002).

Covas & Kashima (2003) realizaram a análise de dois isolados provenientes de um índio Kayapó (K96) e de um indivíduo de uma área urbana do sul do Brasil (RP329). A comparação entre esses isolados demonstrou uma similaridade de 99,4%. Os dois isolados de acordo com a análise filogenética da região *env* e *LTR* foram classificados como HTLV-2 subtipo 2a. No entanto, a análise da seqüência Tax, mostrou que esse isolados

pertenciam ao subtipo HTLV-2c. Esse subtipo foi encontrado também em outro estudo realizado em doadores de sangue de Porto Alegre (RS) (Renner *et al.*, 2006).

Catalan-Soares *et al.* (2005) demonstraram a transmissão intrafamiliar do HTLV-2c por meio da análise das regiões *env* e *LTR* em três gerações de uma família na cidade de Belo Horizonte (MG). Nesse estudo o marido, a esposa e a filha estavam infectados por esse subtipo demonstrando transmissão horizontal e vertical do vírus.

O subtipo HTLV-2c também foi evidenciado por Laurentino *et al.* (2005) em quatro indivíduos infectados pelo HIV-1 em Belém (PA) e descrito por Alcântara *et al.* (2003b) entre usuários de drogas endovenosas em Salvador (BA).

A ocorrência do HTLV-2c na população brasileira, em especial na região Amazônica reforçou a hipótese de que trata-se de um subtipo molecular único cuja a origem pode ter se dado a milhares de anos atrás durante o povoamento da Amazônia pelos ancestrais dos ameríndios e que se disseminou através da população Neo-brasileira por meio do processo de miscigenação ocorrido durante quatro séculos (Vallinoto *et al.*, 2002).

4.3- ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E SÓCIO-DEMOGRÁFICOS

A infecção pelo HTLV apresenta algumas peculiaridades, tais como: prevalência diferenciada em um mesmo país de acordo com a área geográfica, é mais comum no sexo feminino e há incremento da soroprevalência com o avançar da idade, especialmente nas mulheres (Guimarães *et al.*, 2001).

Nesse estudo, podemos observar uma prevalência maior do HTLV nas mulheres acima de 18 anos de idade, no entanto, essa associação não foi estatisticamente significativa. Nossos achados foram semelhantes aos resultados encontrados por

Bittencourt *et al.*, (2001), Figueiró-Filho *et al.*, (2005; 2007) e Magalhães (2006), em que foi observado um aumento progressivo da prevalência do HTLV com a idade, não havendo, porém associação significativa entre faixa etária e infecção pelo HTLV. No entanto, esta associação já foi demonstrada em outros estudos realizados com gestantes em que os autores referiram o aumento da positividade do HTLV, em especial do HTLV-1 com o avançar da idade em áreas consideradas endêmicas (Tortevoye *et al.*, 2000; 2005; Carles *et al.*, 2004; Alárcon *et al.*, 2006; Armah *et al.*, 2006; Oliveira & Avelino, 2006).

A média de idade das mulheres analisadas foi de 22,6 anos, um pouco menor que as médias encontradas nos estudos realizados na Bahia e no Mato Grosso do Sul onde as médias encontradas foram de 26,2 e 25,4 anos de idade respectivamente, indicando que a vida sexual está iniciando cada vez mais cedo. O início precoce da atividade sexual pode contribuir para a disseminação do HTLV, facilitada possivelmente pelo maior número de parceiros sexuais durante a vida (Sanches-Palacios *et al.*, 2003; Alárcon *et al.*, 2006; Moxoto *et al.*, 2007).

O fato de não termos encontrado associação significativa com o fator idade, talvez possa ser atribuído ao pequeno número de amostras positivas, além da maioria dos casos terem sido encontrados em mulheres adultas jovens e em idade fértil. A associação deste fator com infecção pelo HTLV, provavelmente reflete o acúmulo da exposição ao vírus através do tempo (Tortevoye *et al.*, 2000).

Com relação ao estado civil, também não se observou diferença na infectividade pelo HTLV entre casadas e solteiras. Este fato foi surpreendente, uma vez que a troca de parceiros sexuais é mais provável entre as mulheres solteiras do que entre as casadas, havendo, então maior probabilidade de disseminação do vírus (Oliveira &

Avelino, 2006). Apesar das mulheres desquitadas e divorciadas terem sido incluídas no grupo das solteiras, não houve positividade para o HTLV entre essas mulheres.

Alguns estudos sobre prevalência para o HTLV sugerem que a positividade para esse vírus está relacionada com fatores sócio-econômicos e culturais, sendo mais prevalente nas classes menos favorecidas e com menor grau de instrução (Dourado *et al.*, 2003; Catalan-Soares, *et al.*, 2003; Sanchez-Palacios *et al.*, 2003; Mota *et al.*, 2006; Oliveira & Avelino, 2006).

Em nosso estudo essas variáveis não foram associadas à infecção pelo HTLV, corroborando os estudos de Magalhães (2006) e Moxoto *et al.* (2007) e discordando dos estudos de Bittencourt *et al.* (2001); Sanchez-Palacios *et al.* (2003); Oliveira & Avelino (2006), em que foi encontrada uma forte associação do grau de instrução e renda familiar com a infecção por esse vírus.

A falta da associação, descrita no presente estudo, entre essas variáveis e a infecção pelo HTLV, poderia ser atribuído ao fato de que tanto as pacientes positivas quanto as negativas provinham de serviços públicos de saúde com rendas familiares semelhantes e, portanto, com um menor nível sócio-econômico.

Com relação às variáveis epidemiológicas, nenhuma das pacientes informou fazer uso de drogas endovenosas, no entanto algumas referiram fazer uso de outras drogas não endovenosas consideradas ilícitas, como maconha e cocaína. Segundo Olbrich-Neto & Meira (2004), o uso de drogas não endovenosas, poderia constituir um fator de risco, pois o convívio com outros usuários de drogas poderia significar a oportunidade para iniciar o uso endovenoso. Além do mais sabe-se que este fator contribui para aumentar a prevalência não somente do HTLV, mas também de outras DST (Dourado *et al.*, 1999).

Esta associação foi demonstrada por Van Dicke *et al.* (1995) entre as gestantes de Nova Orleans (EUA). Dentre as mulheres que foram consideradas positivas para o HTLV-2, o uso de drogas endovenosas e o contato sexual com parceiros usuários de drogas, apareceram como principais fatores associados à transmissão do HTLV. Foi possível também identificar nesse estudo, um caso de co-infecção com HIV entre essas mulheres soropositivas, além de ter sido detectado um caso de transmissão vertical para o HTLV-2 na ausência de amamentação.

Machuca *et al.*, (2006) também demonstrou essa associação com o HTLV entre mulheres grávidas na Espanha. Das onze pacientes positivas para o HTLV-2, dez afirmaram ter feito uso de drogas endovenosas e uma afirmou ter mantido relação sexual com usuário de droga endovenosa.

No presente estudo não foi observado histórico de hemotransusão entre as pacientes positivas. No entanto, esse fator assumiu significância em alguns estudos.

Moxoto *et al.* (2007), por exemplo, demonstrou a importância da hemotransusão em estudo realizado com mulheres infectadas pelo HTLV-1 em Salvador, Bahia. Nesse estudo, as mulheres HTLV-1 soropositivas receberam mais hemotransusão que as soronegativas, sendo que 81,2% (13/16) das transfusões entre as soropositivas, ocorreram antes de 1993, quando a triagem para o HTLV em bancos de sangue não era obrigatória. Em outro estudo realizado nesse mesmo estado, já havia sido anteriormente demonstrado associação da infecção pelo HTLV com a hemotransusão (Bittencourt *et al.*, 2001).

Em estudo realizado por Sanchez-Palacios *et al.* (2003) entre mulheres peruanas, também foi confirmada a relevância desse fator na transmissão do HTLV, sendo

que a positividade para o HTLV-1 foi detectada em 13,6% (8/59) das mulheres que apresentavam essa história. Semelhantemente, Alárcon *et al.* (2006) demonstrou essa associação entre mulheres grávidas no Perú, sendo que as mulheres que informaram histórico de transfusão eram quatro vezes mais prováveis (OR=3,8; IC 90%, 1,7-7,6) de serem soropositivas do que as mulheres que afirmaram não terem feito transfusão sanguínea.

A transmissão sexual tem sido referida como uma importante via de transmissão para o HTLV, principalmente em populações consideradas de alto risco, como trabalhadores comerciais do sexo (Delaporte *et al.*, 1995).

Evidência de transmissão sexual foi encontrada entre as grávidas de Botucatu (SP), onde, duas pacientes foram positivas para o HTLV (uma para o HTLV-1 e outra para o HTLV-2). Posteriormente, foi realizada a pesquisa de anticorpos para o vírus entre os familiares dessas mulheres. A análise demonstrou que o marido da mulher soropositiva para o HTLV-2, também era portador do mesmo vírus (Olbrich-Neto & Meira 2004).

O não uso do preservativo não foi um fator estatisticamente associado à infecção pelo HTLV em nosso estudo, apesar de apenas 97 (10,5%) das mulheres analisadas terem afirmado usar o preservativo com regularidade e que todas as pacientes positivas para o HTLV tenham relatado não usar o preservativo com frequência. No entanto, pode-se explicar, essa falta de associação pelo reduzido número de amostras positivas (seis) em relação ao grupo que afirmou não usar ou usar às vezes, totalizando 826 mulheres (89,5%).

Embora, não tenha sido encontrada associação do HTLV com este fator, outros estudos realizados em outras populações demonstram sua importância. Vickers *et al.* (2006) estudaram a prevalência de doenças sexualmente transmissíveis em 1.015 doadores de sangue na Jamaica. A prevalência para o HTLV-1 nessa população foi de 4,8%, sendo que a associação do vírus com o uso irregular de preservativo foi significativa ($p=0,0326$). Mota *et al.* (2006) estudando essa mesma população na Bahia (504 doadores) mostrou que essa associação foi altamente significativa entre os indivíduos infectados ($p=0,0004$).

Dentre as pacientes positivas, uma tinha tatuagem há quatro anos, no entanto, não foi encontrada associação com essa variável. Associação não significativa também foi observada entre as gestantes de Botucatu (SP) (Olbrich-Neto & Meira 2004).

Poucos estudos correlacionam a presença de tatuagem com HTLV. No entanto, não se pode descartar a relevância da utilização de instrumentos cirúrgicos, que podem servir de fonte de transmissão para o vírus.

Zurita *et al.* (1997) encontrou uma forte associação do HTLV-1 com cirurgias dentais e outros tipos de cirurgias (não descritas) entre mulheres grávidas da cidade andina de Quillabamba, no Peru. Segundo este autor, o inadequado procedimento de esterilização dos instrumentos cirúrgicos, poderia ter servido de fonte de infecção nessa população. Outro estudo realizado entre usuários de drogas endovenosas em Washington (EUA), mostrou a associação do HTLV-2 com a presença de tatuagem (Zunt *et al.*, 2006a). Em Belém (PA), Lopes (2006), embora não tenha encontrado associação de tatuagem e cirurgias com HTLV, demonstrou a possível associação deste com o uso de lâminas e barbeadores compartilhados ($p=0,02$). Esses estudos ressaltam a importância de aparelhos

perfuro-cortantes na transmissão do HTLV e de outros agentes etiológicos pela via parenteral.

Intercurso sexual anal, presença DST e número de parceiros sexuais maior do que um não foram considerados fatores associados à transmissão do HTLV em nosso estudo, corroborando os estudos de Olbrich-Neto & Meira (2004), no entanto, vale ressaltar a importância dessas variáveis em outros estudos sobre a prevalência do HTLV.

Segundo Moxoto *et al.* (2006), o intercuro receptivo anal é mais traumático que o vaginal, representando assim, uma maior possibilidade para a transmissão do vírus. A análise comparativa entre as mulheres soropositivas e soronegativas para o HTLV, mostrou que a prática de sexo anal foi significativamente mais freqüente entre as soropositivas.

Presença de DST, principalmente HIV, têm sido correlacionada como fatores de associação à infecção pelo HTLV. Figueiró-Filho *et al.* (2005), demonstraram a ocorrência de co-infecção com o HIV em 5,4% das gestantes positivas para o HTLV. Tortevoye *et al.* (2005), detectaram sete casos de co-infecção HIV/ HTLV, com taxa de prevalência de 0,11%. A associação do HTLV com outros agentes etiológicos de DST pode ser explicada pelo modos comuns de transmissão, primariamente o contato sexual.

Número maior de parceiros tem sido freqüentemente descrito na literatura como um fator para aumentar a positividade para o HTLV (Sanchez-Palacios *et al.*, 2003; Moxoto *et al.*, 2007). Dentre as mulheres desse estudo, a maioria era monogâmica (96%), inclusive as mulheres encontradas como sendo positivas para o vírus, dessa forma não foi estabelecida associação do vírus com número de parceiros. Diferentemente, Bittencourt *et al.* (2001), descreveram essa associação entre mulheres grávidas da Bahia. Nesse estudo, mulheres soropositivas com mais de dois parceiros sexuais, tinham duas vezes mais

chances de serem infectadas pelo HTLV do que as mulheres que referiram ter até dois parceiros.

Finalmente, a única variável associada à transmissão do HTLV no presente estudo foi a relação sexual com trabalhador comercial do sexo. Trabalhadores comerciais do sexo são em geral considerados população de alto risco não somente para o HTLV, como também para outras DST (Broutet *et al.*, 1996; Dourado *et al.*, 1999). Das oito mulheres que afirmaram terem mantido relação com esses profissionais, uma foi infectada pelo HTLV-1, com valor de $p < 0,0001$.

Delaporte *et al.* (1995) estudaram a prevalência do HTLV em dois grupos de mulheres: grávidas e trabalhadoras comerciais do sexo. Comparando as taxas de prevalência em ambos os grupos, pôde-se observar uma taxa maior para o segundo grupo (7,3%) quando comparado ao primeiro (3,7%).

Broutet *et al.* (1996), estudando essas mesmas populações no Rio de Janeiro, encontrou resultado semelhante. A prevalência para o HTLV foi menor entre as mulheres grávidas (0,24%) do que entre as trabalhadoras comerciais do sexo (1,41%). Manter relações sexuais com esses profissionais constitui situação de risco, uma vez que a troca de parceiros nessa população é freqüente.

Ficou evidenciada também em nosso estudo a falta de informação sobre o HTLV entre os profissionais de saúde, sendo muitas vezes confundido com o HIV. Observação semelhante foi feita por Oliveira & Avelino (2006) no estudo de grávidas em Goiás. Segundo este autor, a divulgação da importância da infecção pelo HTLV-1, e também do HTLV-2, poderia contribuir para melhorar a conduta na assistência ao binômio mãe-filho.

Considerando que o estado do Pará é considerado uma área endêmica para o HTLV, sendo essa afirmação ratificada nesse estudo, a triagem para o vírus deveria ser incluída nos exames pré-natais, a fim de diminuir a possibilidade de transmissão vertical e posteriormente horizontal entre as mulheres em idade fértil em nosso Estado.

5- CONCLUSÕES

- 1- A prevalência para o HTLV-1/2 encontrada nesse estudo foi de 0,58%, o que corrobora o fato do Estado do Pará ser um dos estados brasileiros de maior prevalência para o HTLV.
- 2- Foram detectados quatro (66,7%) casos positivos para HTLV-1 e dois (33,3%) casos positivos para HTLV-2.
- 3- As duas amostras de HTLV-1 isoladas foram classificadas como pertencente ao subtipo Cosmopolita, subgrupo Transcontinental e a amostra de HTLV-2 foi classificada como HTLV-2c.
- 4- Dentre os possíveis fatores de associação à transmissão do HTLV, o único que assumiu significância estatística foi a relação sexual com trabalhadores comerciais do sexo, haja vista que esse grupo é considerado de alto risco para adquirir e transmitir doenças sexualmente transmissíveis, incluindo o HTLV.
- 5- Esse estudo foi o primeiro da Região Norte realizado em mulheres grávidas e enfatiza a importância de se introduzir a triagem para o HTLV como exames requeridos no pré-natal, a fim de reduzir a transmissão materno-infantil do vírus.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBASZADEGAN, M.H., GHOLAMIN, M., TABATABAEE, A., FARID, R., HOUSHMAND, M., ABBASZADEGAN, M. Prevalence of human T-lymphotropic virus type 1 among blood donors from Mashhad, Iran. **Journal of Clinical Microbiology**, **41(6)**: 2593-2595, 2003.
- ALARCÓN, J.O, FRIEMAN, H.B., MONTANO, S.M., ZUNT, J.R., HOLMES, K.K., QUINNAN, G.V. High endemicity of human T-cell lymphotropic virus type 1 among pregnant women in Peru. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndrome**, **42**: 604-609, 2006.
- ALBRECHT, B., LAIRMORE, M.D. Critical role of human T-lymphotropic virus type 1 accessory proteins in viral replication and pathogenesis. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, **66(3)**: 396-406, 2002.
- ALBUQUERQUE, M.A.P., MIGLIARI, D.A, SUGAYA, N.N., KUROISH, M., CAPUANO, A.C., DE SOUZA, S.O.M., CAVALCANTE, M.G.P. Adult T-cell leukemia/lymphoma with predominant bone involvement, initially diagnosed by its oral manifestation: a case report. **Oral Surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics**, **100**: 315-20, 2005.
- ALCÂNTARA, L.C.J., VAN DOOREN, S., GONÇALVES, M.S., KASHIMA, S., COSTA, M.C.R., SANTOS, F.L.N., BITTENCOURT, A.C., DOURADO, I., ANDRADE FILHO, A., COVAS, D.T., VANDAMME, A-M, GALVÃO-CASTRO, B. Globin haplotypes of human T-cell lymphotropic virus type I–infected individuals

in Salvador, Bahia, Brazil, suggest a post-columbian african origin of this virus.

Journal of Acquired Immune Deficiency Syndrome, 33: 536-542, 2003a.

ALCÂNTARA, L.C.J., SHINDO, N., VAN DOOREN, S., SALEMI, M., COSTA, M.C.

R., KASHIMA, S., COVAS, D.T., VANDAMME, A-M, GALVÃO-CASTRO, B.

Brazilian HTLV type 2a strains from intravenous drug users (IDUs) appear to have originated from two sources: Brazilian amerindians and european/north american IDUs.

AIDS research and human retroviruses, 19(6): 519-523, 2003b.

AL-MUFTI, S., VOEVODIN, A., AHMED, S., AL-HAMDAN, S., AL-BISHER, A.A.

Prevalence of human T-cell lymphotropic virus type I infection among volunteer blood donors in Kuwait. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndrome and Human**

Retrovirology, 15: 88-90, 1997.

AMPOFO, W., NII-TREBI, N., ANSAH, J., ABE, K., HIDEO NAITO, H., AIDOO, S.,

NUVOR, V., BRANDFUL, J., YAMAMOTO, N., OFORI-ADJEI, D., ISHIKAWA, K.

Prevalence of blood-borne infectious diseases in blood donors in Ghana. **Journal of Clinical Microbiology, 40(9):** 3523-3525, 2002.

ANSALDI, F., COMAR, M., D'AGARO, P., GRAINFENBERGHI, S., CAIMI, L.,

GARGIULO, F., BRUZZONE, B., GASPARINI, R., ICARDI, G., PERANDIN, F.,

CAMPELLO, C., MANCA, C. Seroprevalence of HTLV-I and HTLV-II infection among immigrants in Northern Italy. **European Journal of Epidemiology, 18(6):** 583-588, 2003.

APEA-KUBI, K.A., YAMAGUCHI, S, SAKYI, B, OFORI-ADJEI, D. HTLV-1 and other

viral sexually transmitted infections in antenatal and gynaecological patients in Ghana.

West African journal of Medicine, 25(1): 17-21, 2006.

- ARAÚJO, A.Q-C., ANDRADA-SERPA, M.J. Tropical spastic paraparesis/HTLV-I-associated myelopathy in Brazil. [HTLV-I clinical aspects: neurology]. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology**, **13(Suppl1):** S33-S37, 1996.
- ARAÚJO, A., HALL, W.W. Human T-lymphotropic virus Type II and neurological disease. **Annals of Neurology**, **56(1):** 10-19, 2004.
- ARMAH, H.B., NARTER-OLAGA, E.G., ADJEI, A.A., ASOMANING, K., GYASI, R.K., TETTEY, Y. Seroprevalence of human T-cell lymphotropic virus type I among pregnant women in Accra, Ghana. **Journal of Medical Microbiology**, **55:** 765-770, 2006.
- AYRES, M., AYRES, J. R. M., AYRES, D. L., SANTOS, A. S. **Bioestat 4.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, Brasília, CNPq, 2005. p.324.
- 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.
- BALLAUN, C., FARRINGTON, G.K., DOBROVNIK, M., RUSCHE, J., HAUBER, J., BOHNLEIN, E. Functional analysis of human T-cell leukemia virus type I Rex-response element: direct RNA binding of Rex protein correlates with in vivo activity. **Journal of Virology**, **65(8):** 4408-4413, 1991.
- BALCÁZAR, N., SÁNCHEZ, G.I., GARCIA-VALLEJO, F. Sequence and phylogenetic analysis of human T cell lymphotropic virus type 1 from Tumaco, Colômbia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **98(5):** 641-648, 2003.

- BANGHAM, C.R.M. The immune response to HTLV-I. **Current Opinion in Immunology**, **12**: 397-402, 2000.
- 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.
- BITTENCOURT, A.L. Vertical transmission of HTLV-I/II. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, **40(4)**: 245-251, 1998.
- BITTENCOURT, A., DOURADO, I., FILHO, P. B., SANTOS, M., VALADÃO, E., ALCÂNTARA, L. C. J., GALVÃO-CASTRO, B.. Human T-cell lymphotropic virus type I infection among pregnant women in Northeastern Brazil. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndrome**, **26(5)**: 490-494, 2001.
- 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.
- BLACK, A.C., RULAND, C.T., YIP, M.T., LUO, J., TRAN, B., KALSI, A., QUAN, E., ABOUD, M., CHEN, I.S.Y., ROSENBLATT, J.D. Human T-cell leukemia virus type II Rex binding and activity require an intact splice donor site and a specific RNA secondary structure. **Journal of Virology**: 6645-6653, 1991.
- BOGERD, H.P., TILEY, L.S., CULLEN, B.R. Specific binding of the human T-cell leukemia virus type I Rex protein to a short RNA sequence located within the Rex-response element. **Journal of Virology**, **66**: 7572-7575, 1992.

- 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, 2004.54p.
- BROUTET, N., SOUZA, A.Q., BASILIO, F.P., SÁ, H.L., SIMON, F., DABIS, F. Prevalence of HIV-1, HIV-2 and HTLV antibody, in Fortaleza, Ceará, Brazil, 1993-1994. **International Journal of STD & AIDS (7)**: 365-369, 1996.
- BURMEISTER, T. Oncogenic retroviruses in animals and humans. **Reviews in Medical Virology, 11**: 369-380, 2001.
- 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, 2005.
- CANN, A.J., ROSENBLAT, J.D., WASCHMAN, W., SHAH, N.P., CHEN, S.Y. Identification of the gene responsible for human T-cell leukaemia virus transcriptional regulation. **Nature, 318**: 571-574, 1985.
- CATALAN-SOARES, B.C., ALMEIDA, R.T.P., PROIETTI, F.A. Prevalence of HIV-1/2, HTLV-I/II, hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV), *Treponema pallidum* and *Trypanosoma cruzi* among prison inmates at Manhuaçu, Minas Gerais State, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 33(1)**: 27-30, 2000.
- CATALAN-SOARES, B.C., PROIETTI, F.A., CARNEIRO-PROIETTI, A.B.F. Os vírus linfotrópicos de células T humanos (HTLV) na última década (1990-2000). Aspectos epidemiológicos. **Revista Brasileira de Epidemiologia, 4 (2)**: 81-95, 2001.

- CATALAN-SOARES, B.C., PROIETTI, F.A., CARNEIRO-PROIETTI, A.B.F. HTLV-I/II and blood donors: determinants associated with seropositivity in a low risk population. **Revista de Saúde Pública**, **37 (4)**: 470-476, 2003.
- CATALAN-SOARES, B.C., BARBOSA-STANCIOLI, E.F., ALCANTARA, L.C., CARNEIRO-PROIETTI, A.B.F., MARTINS, M.L., NAMEN-LOPES, M.S., GALVÃO-CASTRO, B., FERREIRA, C.E.S., COSTA, M.C.R., PINHEIRO, S.R., PROIETTI, F.A. HTLV-2 horizontal and vertical transmission in a family from a brazilian urban area: seroepidemiological, clinical and molecular study. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **21(6)**: 521-526, 2005.
- CARLES, G., TORTEVOYE, P., TUPPIN, P., URETA-VIDAL, A., PENEAU, C., EL GUINDI, W., GESSAIN, A. Infection par le retrovirus HTLV-1 et grossesse. **Journal de Gynecologie, Obstetrique et Biologie de la Reproduction**, **33(1)**: 14-20, 2004.
- CIMARELLI, A., DUCLOS, C.A., GESSAIN, A., CASOLI, C., BERTAZZONI, U. Clonal expansion of human T-cell leukemia virus type II in patients with high proviral load. **Virology**, **233**: 362-364, 1996.
- CIMINALE, V., PAVLAKIS, G.N., DESER, D., GINNINGHAM, C.P., FELBER, B. Complex splicing in the human T-cell leukemia virus (HTLV) family of retroviruses: novel mRNAs and proteins produced by HTLV type I. **Journal of Virology**, **66**: 1737-1745, 1992.
- COFFIN, J.M. *Retroviridae*: The viruses and their replication. In: **Fundamental Virology**. 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, 1996. p. 763-843.

- 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.
- COSKUN, A.K., SUTTON, R.E. Expression of glucose transporter 1 confers susceptibility to human T-cell leukemia virus envelope-mediated fusion. **Journal of Virology**, **79(7)**: 4150-4158, 2005.
- COVAS, D.T., KASHIMA, S. Complete nucleotide sequences of the genomes of two brazilian specimens of human T lymphotropic virus type 2 (HTLV-2). **AIDS Research and Human Retroviruses**, **19(8)**: 689-697, 2003.
- D'AGOSTINO, D.M., ZOTTI, L., FERRO, T., CAVALLORI, I., SILIC-BENUSSI, M., CHIECO-BIANCHI, L., CIMINALE, V. Expression and functional properties of proteins encoded in the x-II ORF of HTLV-I. **Virus Research** **78**: 35-43, 2001.
- DE LA FUENTE, L., TORO, C., SORIANO, V., BRUGAL, M.T., VALLEJO, F., BARRIO, G., JIMÉNEZ, V., SILVA, T. HTLV infection among young injection and non-injection heroin users in Spain: prevalence and correlates. **Journal of Clinical Virology** **35(3)**: 244 -249, 2006.

- DELAPORTE, E., BUVE, A., NZILA, N., GOEMAN, J., DAZZA, M.C., HENZEL, D., HEYWARD, W., W., ST-LOUIS, M., PIOT, P., LAGA, M. HTLV-I infection among prostitutes and pregnant women in Kinshasa, Zaire: how important is high-risk sexual behavior? **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology**, **8(5)**: 511-515, 1995.
- DIOP, S., CALATTINI, S., ABAH-DAKOU, J., THIAM, D., DIAKHATÉ, L., GESSAIN, A. Seroprevalence and molecular epidemiology of human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2 in blood donors from Dakar, Senegal. **Journal of Clinical Microbiology**: 1550-1554, 2006.
- DONATI, M., SEYEDZADEH, H., LEUNG, T., BLOTT, M., ZUCKERMAN, M. Prevalence of antibody to human T cell leukaemia/lymphoma virus in women attending antenatal clinic in southeast London: retrospective study. **British Medical Journal**, **320(7227)**: 92-93, 2000.
- DOURADO, I., ANDRADE, T., CARPENTER, C.L., GALVÃO-CASTRO, B. Risk factors for human T-cell lymphotropic virus type I among injecting drug users in northeast Brazil: possibly greater efficiency of male to female transmission. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro**, **94(1)**: 13-18, 1999.
- DOURADO, I., ALCÂNTARA, L.C.J., BARRETO, M.L., TEIXEIRA, M.G., GALVÃO-CASTRO, B. HTLV-I in the general population of Salvador, Brazil: a city with African ethnic and sociodemographic characteristics. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **34(5)**: 527-531, 2003.
- DUBE, D.K., SHERMAN, M.P., SAKSENA, N.K., BRYZ-GORNIA, V., MENDELSON, J., LOVE, J., ARNOLD, C.B., SPICER, T., DUBE, S., GLASER, J.B., WILLIAMS,

- A.E., NISHIMURA, M., JACOBSEN, S., FERRER, J.F., DEL PINO, N., QUIRUELAS, S., POIESZ, B.J. Genetic heterogeneity in human T-cell leukemia/lymphoma virus type II. **Journal of Virology**, **67(3)**: 1175-1184, 1993.
- EDLICH, R.F, ARNETTE, J.A., WILLIAMS, F.M. Global epidemic of Human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I). **The Journal of Emergency Medicine**, **18(1)**: 109-119, 2000.
- EIRAKU, N., NOVOA, P., FERREIRA, M.C., MONKEN, C., ISHAK, R., FERREIRA, O.C., ZHU, S.W., LORENCO, R., ISHAK, M.O.G., AZEVEDO, V., GUERREIRO, J.F., POMBO DE OLIVEIRA, M., LOUREIRO, P., HAMMERSCHLAK, N., IJICHI, S., HALL, W.W. Identification and characterization of a new and distinct molecular subtype of human T-cell lymphotropic virus type 2. **Journal of Virology**, **70**: 1481-1492, 1996.
- EIRIN, M.E., BERINI, C., PANDO, M.A., AVILA, M., SALOMON, H, BIGLIONE, M. Phylogeny of HTLV-I isolates from groups with risk antecedents for human retrovirus infections in Argentina. **Retrovirology** **2006**, **3(1)**: 17, 2006.
- 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 Societes. Fauquet, C.M; Mayo, M.A; Maniloff, I, Desselberger, V., Ball,L.A.(eds). Elsevier, Academic press, 2005, p.421-440.
- FAWAZ, N.A., TAMIM, H., ALMAWI, W.Y. Low prevalence of antibodies to human T-lymphotropic virus-I/II among blood donors in Eastern Saudi Arabia. **American Journal of Infection Control**, **33**: 189-191, 2005.

- FERREIRA JR., O.C., PLANELLES, V., ROSENBLATT, J.D. Human T-cell leukemia viruses: epidemiology, biology, and pathogenesis. **Blood Reviews**, **11**: 91-104, 1997.
- 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.
- FIGUEIRÓ-FILHO, E.A., LOPES, A.H.A., SENE FONTE, F.R.A., SOUZA JÚNIOR, V.G., BOTELHO, C.A., DUARTE, G. Infecção pelo vírus linfotrópico de células T humanas e transmissão vertical em gestantes de estado da Região Centro-Oeste do Brasil. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, **27(12)**: 719-725, 2005.
- FIGUEIRÓ-FILHO, E.A., SENE FONTE, 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 gestantes, do Estado de Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **40(2)**: 181-187, 2007.
- FRANCHINI, G. Molecular mechanisms of human T-cell leukemia/lymphotropic virus type I infection. **Blood**, **86(10)**: 3619-3639, 1995.
- 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., MANNIS, 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.

- GALLO, R.C. The discovery of the first human retrovirus: HTLV-1 and HTLV-2. **Retrovirology**, **2**: 17, 2005.
- GASTALDELLO, R., OTSUKI, K., BARBAS, M.G., VICENTE, A.C.P., GALLEGO, S. Molecular evidence of HTLV-1 intrafamilial transmission in a non-endemic area in Argentina. **Journal of Medical Virology**, **76**: 386-390, 2005.
- GESSAIN, A., VERNANT, J.C., MAURS, L., BARIN, F., GOUT, O., CALENDER, A. Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. **Lancet**: 407-410, 1985.
- GESSAIN, A. Retrovirus humains HTLV-1 et HTLV-2. **EMC-Maladies Infectieuses**, **1**: 203-220, 2004.
- GRANGE, M.P., ROSENBERG, A.R., HORAL, P., DESGRANGES, C. Identification of exposed epitopes on the envelope glycoproteins of human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I). **International Journal of Cancer**, **75**: 804-813, 1998.
- GRASSMANN, R., ABOUD, M., JEANG, K-T. Molecular mechanisms of cellular transformation by HTLV-1 Tax. **Oncogene** **24**: 5976-5985, 2005.
- GUIMARÃES, M.L., BASTOS, F.I., TELLES, P.R., GALVÃO-VASTRO, B., DIAZ, R.S., BONGERTZ, V., MORGADO, M.G. Retrovirus infections in a sample of injecting drug users in Rio de Janeiro city, Brazil: prevalence of HIV-1 subtypes, and co-infection with HTLV-I/II. **Journal of Clinical Virology**, **21**: 143-151, 2001.
- GUTIÉRREZ, M. PILAR TAJADA, P., ALVAREZ, A., JULIÁN, R., BAQUERO, M., SORIANO, V., HOLGUÍN, A. Prevalence of HIV-1 non-B subtypes, syphilis, HTLV, and hepatitis B and C viruses among immigrant sex workers in Madrid, Spain. **Journal of Medical Virology**, **74(4)**: 521-527, 2004.

- HALL, W.W., TAKAHASHI, H., LIU, C., KAPLAN, M.H., SCHEEWIND, O., IJICHI, S., NAGASHIMA, K., GALLO, R.C. Multiple isolates and characteristics of human T-cell leukemia virus type II. **Journal of Virology**, **66(4)**: 2456-2463, 1992.
- HALL, TA. **BioEdit**: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp Ser* 41: 95-98, 1999.
- HALL, W.W., KUBO, T., IJICHI, S., TAKAHASHI, H., ZHU, S.W. Human T-cell leukemia/lymphoma virus, Type II (HTLV-II): emergence of an important newly recognized pathogen. **Virology**, **15**: 165-178, 1994.
- HALL, W.W., ISHAK, R., ZHU, S.W., NOVOA, P., EIRAKU, N., TAKAHASHI, H., FERREIRA, M.C., AZEVEDO, V., ISHAK, M.O.G., FERREIRA, O.C., MONKEN, C., KURATA, T. Human T lymphotropic virus Type II (HTLV-II): epidemiology, molecular properties, and clinical features of infection. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology** **13 (suppl)**: S204-S214, 1996.
- HARADA, M., KUMEMURA, H., FUJITA, A., YANAGIMOTO, C., HARADA, R., HASHIMOTO, O., SAKAMOTO, M., YOSHIDA, H., OKAMURA, T., SATA, M. A Human T-cell lymphotropic virus type-1 (HTLV-1) carrier complicated with various autoimmune diseases including primary biliary cirrhosis. **Hepatology Research**, **31**: 116-119, 2005.
- HERRERA, L.A., BENÍTEZ-BRIBIESCA, L., MOHAR, A., OSTROSKY-WEGMAN, P. Role of infectious diseases in human carcinogenesis. **Environmental and Molecular Mutagenesis** **45**: 284-303, 2005.

- HINO, S., KATAMINE, S., MIYATA, H., TSUJI, Y., YAMABE, T., MIYAMOTO, T.
Primary prevention of HTLV-I in Japan. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **13**: 199-203, 1996.
- HINUMA, Y., NAGATA, K., HANAOKA, M., NAKAI, M., MATSUMOTO, T.,
KINOSHITA, K-I., SHIRAKAWA, S., MIYOSHI, I. Adult T- cell leukemia: antigen in
an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. **Proceedings
of the National Academy of Sciences of the USA**, **78(10)**: 6476-6480, 1981.
- HISADA, M., OKAYAMA, A., SPIEGELMAN, D., MULLER, N.E., STUVER, S.O. Sex-
specific mortality from adult T-cell leukemia among carriers of human T-lymphotropic
virus type I. **International Journal of Cancer**, **91**: 497-499, 2001.
- HJELLE, B. Human T-cell leukemia/lymphoma viruses: life cycle, pathogenicity,
epidemiology, and diagnosis. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, **115**:
440-450, 1991.
- HJELLE, B., APPENZELLER, O., MILLS, R., ALEXANDER, S., TORREZ-MARTNEZ,
N, JAHNKE, R., ROSS, G. Chronic neurodegenerative disease associated with
HTLV-II infection. **Lancet**, **339**: 645-646, 1992.
- HOLLSBERG, P., HAFLER, D.A. Pathogenesis of diseases induced by human
lymphotropic virus type I infection. **New England Journal of Medicine**, **328(16)**:
1173-1182, 1993.
- HÖLLSBERG, P. Mechanisms of T-cell activation by human T-cell lymphotropic virus
type I. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, **63(2)**: 308-333, 1999.
- HONG-CHUAN, L., BIGGAR, R.J., MILLEY, W.J., MALONEY, E.M., CRANSTON, B.,
HANCHARD, B., HISADA, M. Provirus load in breast milk and risk of mother-to-

child transmission of human T lymphotropic virus type I. **Journal of Infectious Diseases**, **190**: 1275-1278, 2004.

ICTV. *Deltaretrovirus*. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/index.htm>> Acesso em: 20/03/05.

IJICHI, S., RAMUNDO, M.B., TAHASHI, H., HALL, W.W. In vivo cellular tropism of human T-cell leukemia virus type II (HTLV-II). **Journal of Experimental Medicine**, **176**: 293-296, 1992

ISHAK, R., HARRINGTON JR., W. J., AZEVEDO, V. N., EIRAKU, N., ISHAK, M. O. G., GURREIRO, J. F., SANTOS, S. E. B., KUBO, T., MONKE, C., ALEXANDER, S., HALL, W. W. Identification of human T-cell lymphotropic virus type IIa infection in the Kayapo, an indigenous population of Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **11**: 813-821, 1995.

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(2)**: 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(6)**: 519-525, 2001.

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 (Belém-Pará):

- serological and clinical features of three cases. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **35(3)**: 243-246, 2002.
- ISHAK, R., VALLINOTO, A.C.R, AZEVEDO, V.N, VICENTE, A.C.P, HALL, W.W, ISHAK, M.O.G. Molecular evidence for infection by HTLV-2 among individuals with negative serological screening tests for HTLV antibodies. **Epidemiology and Infection** **135**: 604-609, 2006.
- JEANG, K.T., GIAM, C.Z., MAJONE, F., ABOUD, M. Life, death, and tax: role of HTLV-I oncoprotein in genetic instability and cellular transformation. **Journal of Biological Chemistry**, **279**: 31991-31994, 2004.
- JUSCAMAITA, Z., TORREALVA, M., CAIRAMPOMA, M., GOTUZZO, E. H. Seroprevalencia del virus linfotropo T humano tipo 1 (HTLV-1) en gestantes y grupos de elevada prevalência para enfermedades de transmisión sexual de Ayacucho, Peru. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud pública** **21(4)**: 269-272, 2004.
- KALYANARAMAN, V.S., SARNGADHARAN M.G., ROBERT-GUROFF, M., MIYOSHI, I., GOLDE, D., GALLO, R.C. A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II) associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia. **Science**, **218**: 571-573, 1982.
- KAPLAN, J.E, ABRAMS, E., SHAFFER, N., CANNON, R.O., KAUL, A., KRASINSKI, K., BAMJI, M., HARTLEY, T.M., ROBERTS, B., KILBOURNE, B., THOMAS, P., ROGERS, M., HENEINE, W. Low risk of mother-to-child transmission of Human T lymphotropic virus type II in non-breast-fed infants. **Journal of Infectious Diseases**, **166**: 892-895, 1992.

- KASHANCHI, F., BRADY, J.N. Transcriptional and post-transcriptional gene regulation of HTLV-1. **Oncogene**, **24**: 5938-5951, 2005.
- KOMURIAN, F., PELLOQUIN, F., DE THÉ, G. In Vivo genomic variability of human T-cell leukemia virus Type I depends more upon geography than upon pathologies. **Journal of Virology**, **65(7)**: 3770-3778, 1991.
- KUSUHARA, K., ANDERSON, M., PETTIFORD, S.M., GREEN, P.L. Human T-cell leukemia virus type 2 Rex protein increases stability and promotes nuclear to cytoplasmic transport of gag/pol and env RNAs. **Journal of Virology**, **73**: 8112-8119, 1999.
- 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.
- LE BLANC, I., GRANGE, M.P., DELAMARRE, L., ROSENBERG, A.R., BLOT, V., PIQUE, C., DOKHÉLAR, M.C. HTLV-1 Structural Proteins. **Virus Research**, **78**: 5-16, 2001.
- LEITE, A.C.C., MENDONÇA, G.A.S., SERPA, M.J.A., NASCIMENTO, O.J.M., ARAÚJO, A. Q-C. Neurological manifestations in HTLV-I-infected blood donors. **Journal of the Neurological Sciences**, **214**: 49-56, 2003.
- LEÓN, G., QUIRÓS, A.M., LÓPEZ, J.L., HUNG, M., DÍAZ, A.M., GONCALVES, J., COSTA, O., HERNÁNDEZ, T., CHIRINOS, M., GÓMEZ, R. Seropositividad al virus linfotrópico de células T humanas tipos I y II en donantes del banco municipal de

- sangre de Caracas y factores de riesgo asociados. **Revista Panamericana de Salud Pública / Pan American Journal of Public Health** 13(2): 117-123, 2003.
- LOPES, B.P.T. **Avaliação dos fatores associados à transmissão do HTLV-1 e do HTLV-2, em doadores de sangue, na cidade de Belém do Pará.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Belém, Universidade Federal do Pará, 2006.84p.
- MACÊDO, O., RIBEIRO-LIMA, T., LINHARES, A. O., MOURA, A., GOMES, M.L.C., LINHARES, A.C. Human t-cell lymphotropic virus types I and II infections in a cohort of patients with neurological disorders in Belém, Pará, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, 46 (1): 13-17, 2004.
- MACHUCA, A., TUSET, C., SORIANO, V., CABALLERO, E., AGUILERA, A., LEJARAZU, O. R. Prevalence of HTLV infection in pregnant women in Spain. **Sexually Transmitted Infections**, 76: 366-370, 2000.
- MAEHAMA, T. Human T cell leukemia virus-1 in pregnancy. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**, 87: 247-248, 2004.
- MAGALHÃES, T.S. **Prevalência da infecção pelo vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV) tipo-1 em gestantes de uma cidade do Recôncavo Baiano.** Dissertação (Mestrado em Medicina)-Bahia, Escola Bahiana de Medicina, 2006. 63p.
- MANEL, N., BATTINI, J-L., TAYLOR, N., SITBON, M. HTLV-1 tropism and envelope receptor. **Oncogene** 2005, 24: 6016-6025, 2005.
- MANN, A., HISADA, M., LA GRENADE, L. Human T-lymphotropic virus type I infection. **Lancet**, 353: 1951-58, 1999.
- MANSUY, J. M., SCHLEGEL, L., VILLENEUVE, L., MENGELLE, C., MAGNAVAL, J.F. Seroprevalence of retroviral infections among pregnant women in Martinique

- (French West Indies). **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **61(4)**: 598-599, 1999.
- MAZUROV, D., HEIDECKER, G., DERSE, D. HTLV-1 Gag protein associates with CD82 tetraspanin microdomains at the plasma membrane. **Virology**, **346(1)**: 194-204, 2006.
- MELO, J., BEBY-DEFAUX, A., FARIA, C., GUIRAUD, G., FOLGOSA, E., BARRETO, A., AGIUS, G. HIV and HTLV Prevalences among women seen for sexually transmitted diseases or pregnancy follow-up in Maputo, Mozambique. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **23(2)**: 203-207, 2000.
- MENNA-BARRETO, M., BENDER, A.L., BONATTO, S.L., FREITAS, L.B., SALZANO, F.M., TSUNETO, L.T., PETZL-ERLER, M.L. Human T-cell lymphotropic virus type II in Guaraní indians, southern Brazil. **Cadernos de Saúde Pública, Rio de Janeiro**, **21(6)**:1947-1951, 2005.
- MERLE, H., CABRE, P., OLINDO, S., MERLE, S., SMADJA, D. Ocular lesions in 200 patients infected by the Human T-cell lymphotropic virus type 1 in Martinique (French West Indies). **American Journal of Ophthalmology**, **134**:190–195, 2002.
- MIURA, T., YAMASHITA, M., ZANINOVIC, V., CARTIER, L., TAKEHISA, J., IGARASHI, T., IDO, E., FUJIYOSHI, T., SONODA, S., TAJIMA, K., HAYAMI, M. Molecular phylogeny of HTLV type I and II of amerindians in Colombia and Chile. **Journal of Molecular Evolution**, **44 (suppl. 1)**: S76-S82, 1997.
- MORIMOTO, H.K., ARAÚJO, A.C., MORIMOTO, A.A., REICHE, E.M.V., UEDA, L.T., MATSUO, T., STEGMANN, J.W., REICHE, F.V. Seroprevalence and risk factors for

human T cell lymphotropic virus type 1 and 2 infection in human immunodeficiency virus-infected patients attending AIDS referral center health units in Londrina and other communities in Paraná, Brazil. **Aids Research and Human Retroviruses**, **21(4)**: 256-262.

MOTA, A., NUNES, C., MELO, A., ROMEO, M., BOASORTE, N., DOURADO, I., ALCÂNTARA, L.C., GALVÃO-CASTRO, B. A case-control study of HTLV-infection among blood donors in Salvador, Bahia, Brazil- associated risk factors and trend towards declining prevalence. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, **28(2)**: 120-126, 2006.

MOXOTO, I., BOA-SORTE, N., NUNES, C., MOTA, A., DUMAS, A., DOURADO, I., GALVÃO-CASTRO, B. Perfil sociodemográfico, epidemiológico e comportamental de mulheres infectadas pelo HTLV-1 em Salvador-Bahia, uma área endêmica para o HTLV. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **40(1)**: 37-41, 2007.

NAMAN, R., KLAYME, S., NABOULSI, M., MOKHBAT, J., JRADI, O., RAMIA, S. HTLV-I and HTLV-II infections in volunteer blood donors and high-risk groups in Lebanon. **Journal of Infection**, **45**: 29-31, 2002.

NICOT, C., DUNDR, M., JOHNSON, J.M., FULLEN, J.R., ALONZO, N., FUKUMOTO, R., PRINCLER, G.L., DERSE, D., MISTELI, T., FRANCHINI, G. HTLV-1 encoded p30II is a post-transcriptional negative regulator of viral replication. **Nature Medicine**, **10(2)**: 197-201, 2004.

NICOT, C. Current views in HTLV-I-associated adult T-cell leukemia/lymphoma. **American Journal of Hematology** **78**: 232-239, 2005.

- OHKURA, S., YAMASHITA, M., CARTIER, L., TANABE, D.G., HAYAMI, M., SONODA, S., TAJIMA, K. Identification and phylogenetic characterization of a human T-cell leukaemia virus type I isolate from a native inhabitant (Rapa Nui) of Easter Island. **Journal of General Virology**, **80**: 1995-2001, 1999.
- OLBIRICH NETO, J., MEIRA, D.A. Soroprevalência de vírus linfotrófico de células T humanas, vírus da imunodeficiência humana, sífilis e toxoplasmose em gestantes de Botucatu – São Paulo – Brasil. Fatores de risco para vírus linfotrófico de células T humanas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **37**: 28-32, 2004.
- OLINDO, S., LÉZIN, A., CABRE, P., MERLE, H., SAINT-VIL, M., KAPTUE, M.E., SIGNATE, A., CÉSAIRE, R., SMADJA, D. HTLV-1 proviral load in peripheral blood mononuclear cells quantified in 100 HAM/TSP patients: a marker of disease progression. **Journal of the Neurological Sciences**, **237**: 53-59, 2005.
- OLIVEIRA, M.F.S.P., BITTENCOURT, A.L., BRITES, C., SOARES, G., HERMES, C., ALMEIDA, F.O. HTLV-I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis in a 7-year-old boy associated with infective dermatitis. **Journal of the Neurological Sciences**, **222**: 35-38, 2004.
- OLIVEIRA, S.R., AVELINO, M.M. Soroprevalência do vírus linfotrófico – T humano tipo I entre gestantes em Goiânia, GO, Brasil. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, **28(8)**: 467-472, 2006.
- ORDEN, K. V., JIAN-PING, Y., ULLOA, A., NYBORG, J.K. Binding of the human T-cell leukemia virus Tax protein to the coactivator CBP interferes with CBP-mediated transcriptional control. **Oncogene**, **18**: 3766-3772, 1999.

- OSHIMA, K., MUKAI, Y., SHIRAKI, H., SUZUMIYA, J., TASHIRO, K., KIKUCHI, M.
Clonal integration and expression of human T-cell lymphotropic virus type I in carriers detected by polymerase chain reaction and Inverse PCR. **American Journal of Hematology**, **54**: 306-312, 1997.
- PANDO, M.L.A., BIGLIONE, M.M., TOSCANO, M.F., REY, J.A., RUSSELL, K.L., NEGRETE, M., GIANNI, S., MARTINEZ-PERALTA, L., SALOMÓN, H., SOSA-ESTANI, S., MONTANO, S.M., OLSON, J.G., SANCHEZ, J.L., CARR, J.K., ÁVILA, M.M. Human immunodeficiency virus type 1 and other viral co-infections among young heterosexual men and women in Argentina. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 71(2): 153-159, 2004.
- PARRISH, S.W.K, BROWN, A.E., CHANBANCHED, P., GETTAYACAMIN, M., PARRISH, J.P. Transmission of STLV in a closed colony of macaques. **American Journal of Primatology**, **63**: 103-109, 2004.
- 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 USA**, **77(12)**: 7415-7419, 1980.
- POIESZ, B., DUBE, D., DUBE, S., LOVE, J., PAPSIDERO, L., UNER, A., HUTCHINSON, R. HTLV-II-associated cutaneous T-cell lymphoma in a patient with HIV-1 infection. **New England Journal Medicine**, **342**: 930-936, 2000.
- POIESZ, B. J., PAPSIDERO, L.D., ERLICH, G., SHERMAN, M., DUBE, S., POIESZ, M., DILLON, K., RUSCETTI, F.W., SLAMON, D., FANG, C., WILLIAMS, A., DUGGAN, D., GLASER, J., GOTTLIEB, A., GOLDEBERG, J., RATNER, L.,

- PHILLIPS, P., HAN, T., FRIEDMAN-KIEN, A., SIEGAL, F., RAI, K., SAWITSKI, A., SHEREMATA, L.W.A., DOSIK, H., CUNNINGHAN, C., MONTAGNA, R. Prevalence of HTLV-I-associated T-cell lymphoma. **American Journal of Hematology**, **66**: 32-38, 2001.
- POIESZ, B. J, POIESZ, M. J, CHOI, D. The human T-cell lymphoma/leukemia viruses. **Cancer Investigation**, **21(2)**: 253-277, 2003.
- POLJAK, M, BEDNARIK, J., REDNAK, K., SEME, K., KRISTANCIC, L., CELAN-LUCU, B. Seroprevalence of human T cell leukemia/lymphoma virus type I (HTLV-I) in pregnant women, patients attending venereological outpatient services services and intravenous users from Slovenia. **Folia Biologica (Praha)**, **44(1)**: 23-25, 1998.
- 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.
- RAMIREZ, E., CARTIER, L., VILLOTA, C., FERNANDEZ, J. Genetic characterization and phylogeny of human T-cell lymphotropic virus type I from Chile. **Virus Research**, **84**: 135-149, 2002.
- REHBERGER, S., GOUNARI, F., DUCDODON, M., CHLICHLIA, K., GAZZOLO, L., SHIRRMACHER, V., KHAZAIE, K. The activation domain of a hormone inducible HTLV-1 Rex protein determines colocalization with the nuclear pore. **Experimental Cell Research**, **233**: 363-371, 1997.
- REICHE, E.M.V., MORIMOTO, H.K., FARIAS, G.N., HISATSUGU, K.R., GELLER, L., GOMES, A.C.L.F., INOUE, H.Y., RODRIGUES, G., MATSUO, T. Prevalência de tripanossomíase americana, sífilis, toxoplasmose, rubéola, hepatite B, hepatite C e da

infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, avaliada por intermédio de testes sorológicos, em gestantes atendidas no período de 1996 a 1998 no hospital universitário Regional Norte do Paraná (Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **33**: 519-527, 2000.

RENNER, J.D.P. **Pesquisa e evidência molecular da transmissão de HTLV-I/II em indivíduos soropositivos para HTLV no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.**

Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular)- Rio Grande do Sul, Faculdade de Biociências da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2005.108p.

RENNER, J.D.P., LAURINO, J.P., MENNA-BARRETO, M., SCHMITT, V.M. Molecular evidence of HTLV-II subtype B among an urban population living in South Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **22(4)**: 301-306, 2006.

RICHARDSON, J.H., EDWARDS, A.J., CRUICKSHANK, J.K., RUDGE, P., DALGLEISH, A.G. In vivo cellular tropism of human T-cell leukemia virus type 1. **Journal of Virology**, **64(11)**: 5682-5687, 1990.

RODGERS-JOHNSON, P.E.B., GARRUTO, R.M., YANAGIHARA, R., GAJDUSEK, D.C. Human T-lymphotropic virus type I: a retrovirus causing chronic myeloneuropathies in tropical and temperate climates. **American Journal of Human Biology**, **2**: 429-438, 1990.

RUDHOLF, D.L., KHABBAZ, R.F., FOLKS, T.M., LAL, R.B. Detection of human T-lymphotropic virus type I/II *env* antibodies by immunoassays using recombinant fusion proteins. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, **17**: 35-39, 1993.

- SÁEZ-ALQUEZAR, A., SABINO, E.C. HTLV I/II em bancos de sangue. In: **Retrovíroses humanas: doenças associadas ao HTLV: etiologia, patogenia, patologia clínica, tratamento e prevenção.** Veronesi, R., Focaccia, R. (eds.). Atheneu, São Paulo, 2000. p.47-52.
- SAITOU, N., NEI, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution**, **4**: 406-425, 1987.
- SALEMI, M., DOOREN, S.V., AUDENAERT, E., DELAPORTE, E., GOUBAU, P., DESMYTER, J., VANDAMME, A-M. Two new human T-lymphotropic virus type I phylogenetic subtypes in seroindeterminates, a Mbuti Pygmy and a Gabonese, have closest relatives among African STLV-I strains. **Virology**, **246**: 277-287, 1998.
- SALEMI, M., VANDAMME, A-M., DESMYTER, J., CASOLI, C., BERTAZZONI, U. The origin and evolution of human T-cell lymphotropic virus type II (HTLV-II) and the relationship with its replication strategy. **Gene**, **234**: 11-21, 1999.
- SANCHES-PALACIOS, C., GOTUZZO, E., VANDAMME, A-M., MALDONADO, Y. Seroprevalence and risk factors for human T-cell lymphotropic virus (HTLV-I) infection among ethnically geographically diverse Peruvian women. **International Journal of Infectious Diseases**, **7**: 132-137, 2003.
- SANGER, F., NICHLEN, S., COULSON, A.R. DNA sequences with chain termination inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, **74**: 5463-5468, 1977.
- SCHACHTER, D., CARTIER, L., BORZUTZKY, A. Osteoporosis in HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). **Bone**, **33**: 192-196, 2003.

- SCHÄTZL, H., SCHWARZFISCHER, G., ROSE, D., GATHOF, B., WEISE, W., DEINHARDT, F., VON DER HELM, K. Prevalence of human T-Cell lymphotropic virus infections in Germany. **Journal of Medical Virology**, **43(2)**: 159-160, 2005.
- SEGURADO, A.A.C, BIASUTTI, C., ZEIGLER, R., RODRIGUES, C., DAMAS, C.D., JORGE, M.L., MARCHIORI, P.E. Identification of human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) subtypes using restricted fragment length polymorphism in a cohort of asymptomatic carriers and patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis from São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **97(3)**: 329-333, 2002.
- SEIKE, M., HATTORI, S., HIRAYAMA, Y., YOSHIDA, M. Human adult T-cell leukemia virus: complete nucleotide sequence of the provirus genome integrated in leukemia cell DNA. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, **80 (12)**: 3618-3622, 1983.
- SEIKE, M., INOUE, J-I., TAKEDA, T., YOSHIDA, M. Direct evidence that p40^x of Human T-cell leukemia virus type I is a trans-acting transcriptional activator. **EMBO Journal**, **5(3)**: 561-565, 1986.
- 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 USA**, **82**: 3101-3105, 1985.

- SHUH, S., BEILKE, M. The Human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1): new insights into the clinical aspects and molecular pathogenesis of adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL) and tropical spastic paraparesis/HTLV associated myelopathy (TSP/HAM). **Microscopy Research and Technique**, **68**:176-196, 2005.
- SILVA, E. A., OTSUKI, K., LEITE, A.C.B., ALAMY, A.H., SÁ-CARVALHO, D., VICENTE, A.C.P. HTLV-II Infection associated with a chronic neurodegenerative disease: clinical and molecular analysis. **Journal of Medical Virology**, **66**: 253-257, 2002.
- SILVA, A.F., ALMEIDA, C., MARTINS, H.C., COUTINHO, R., LEITÃO, E., SILVA, R., PAIXÃO, M.T., PÁDUA, E. Prevalence and molecular characterization of human T-cell leukemia virus type 2 in a group of intravenous drug users coinfecting with HIV type 1 in Portugal. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **21(4)**: 249-255, 2005.
- 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, L.A., LOPES, I.G.L., MAIA, E.L., AZEVEDO, V.N., MACHADO, L.F.A., ISHAK, M.O.G., ISHAK, R., VALLINOTO, A.C.R. Caracterização molecular do HTLV-1 em pacientes com paraparesia espástica tropical/mielopatia associada ao HTLV-1 em Belém, Pará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **39(5)**: 504-506, 2006.

- SUGIYAMA, H., DOI, H., YAMAGUCHI, K., TSUJI, Y., MIYAMOTO, T., HINO, S.
Significance of postnatal mother-to-child transmission of Human T-lymphotropic virus type-I on the development of adult T-cell leukemia/lymphoma. **Journal of Medical Virology**, **20**: 253-260, 1986.
- SUN, S-C, YAMOKA, S. Activation of NF-kB by HTLV-I and implications for cell transformation. **Oncogene**, **24**: 5952-5964, 2005.
- TAKAO, S., ISHIDA, T., BHATIA, K.K., SAHA, N., SOEMANTRI, A., KAYAME, O.W. Seroprevalence of human T-lymphotropic virus type 1 in Papua New Guinea and Irian Jaya measured using different *Western blot* criteria. **Journal of Clinical Virology**, **16**: 129-133, 2000.
- TALARMIN, A., VION, B., URETA-VIDAL, A., FOU, G., MARTY, C., KAZANJI, M.
First seroepidemiological study and phylogenetic characterization of human T-cell lymphotropic virus type I and II infection among amerindians in French Guiana. **Journal of General Virology**, **80**: 3083-3088, 1999.
- TALLET, B., ASTIER-GIN, T., LONDOS-GAGLIARDI, GUILLEMAIN, B. Expression, purification and biological properties of the carboxyl half part of the HTLV-I surface envelope glycoprotein. **Journal of Chromatography B**, **737**: 85-95, 2000.
- TAMURA, K., DUDLEY, J., NEI, M., KUMAR, S. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. **Molecular Biology and Evolution** **24**: 1596-1599, 2007.
- TANGY, F. Molecular Biology of HTLV-I. In: **HTLV, truths and questions**. Zaninovic, V. (editors). Colombia, Cali, Feriva Editores, 1996. p. 1-13.

- 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.
- THOMPSON, J.D., GIBSON, T.J., PLEWNIAK, F., JEANMOUGIN, F., HIGGINS, D.G. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic Acids Research**, **25(24)**: 4876-4882, 1997.
- 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.
- TORTEVOYE, P., TUPPIN, P., PENEAU, C., CARLES, G., GESSAIN, A. Decrease of human T-cell lymphotropic virus type I prevalence and low incidence among pregnant women from a high endemic ethnic group in French Guiana. **International Journal of Cancer**, **87**: 534-538, 2000.
- TORTEVOYE, P., TUPPIN, P., PENEAU, C., CARLES, G., GESSAIN, A. Comparative trends of seroprevalence and seroincidence rates of human T cell lymphotropic virus type I and human immunodeficiency virus 1 in pregnant women of various ethnic groups sharing the same environment in French Guiana. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **73(3)**: 560-565, 2005.

- TOUZÉ, E., GESSAIN, L-C. O., GOUT, O. Tropical spastic paraparesis/HTLV-I-associated myelopathy in Europe and Africa: clinical and epidemiologic aspects. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology**, **13** (supl): S38-S45, 1996.
- TSELIYOU, P.M., SPANAKIS, N., SPILIO TAKARA, A., MARKOGIANNAKIS, LEGKIS, N.J., TSAKRIS, A. Prevalence of infection by HTLV-I/II among pregnant women and high-risk groups in the Peloponnese peninsula, Greece. *International Journal of STD & AIDS*, 17(8): 543-546, 2006.
- TURCI, M., ROMANELLI, M. Z., LORENZI, P., RIGHI, P., BERTAZZONI, U. Localization of Human T-cell lymphotropic virus type II Tax protein is dependent upon a nuclear localization determinant in the N-terminal region. **Gene**, **35**:119-124, 2006a.
- TURCI, M., PILOTTI, E., RONZI, P., MAGNANI, G., BOSCHINI, A., PARISI, S.G., ZIPETO, D., LISA, A., CASOLI, C., BERTAZZONI, U. Co-infection with HIV-1 and human T-cell lymphotropic virus type II in intravenous drug users is associated with delayed progression to AIDS. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndrome**, **41**(1): 100-106, 2006b.
- 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.
- URETA-VIDAL, A., ANGELIN-DUCLOS, C., TORTEVOYE, P., MURPHY, E., LEPÈRE, J-F., BUIGUES, R-P., JOLLY, N., JOUBERT, M., CARLES, G., POULIQUEN, J-F., DE THÉ, G., MOREAU, J-P., GESSAIN, A. Mother-to-child

transmission of human T-cell-leukemia/lymphoma virus type I: implication of high antiviral antibody titer and high proviral load in carrier mothers. **International Journal of Cancer**, **82**: 832-836, 1999.

VALLINOTO, A.C.R., AZEVEDO, V.N., SANTOS, D.E.M., CANICEIRO, S., MESQUITA, 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**: 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., RIBEIRO-SANTOS, A.K.C., 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.P.L., 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.

- VANDAMME, A.M., SALEMI, M., VAN BRUSSEL, M., LIU, H.F., LAETHEM, K.V., RANST, M.V., MICHELS, L., DESMYTER, J., GOUBAU, P. African origin of human T-lymphotropic virus type 2 (HTLV-2) supported by a potential new HTLV-2d subtype in Congolese Bambuti Efe Pygmies. **Journal of Virology**, **72**: 4327-4340, 1998.
- VAN DIKE, RUSSEL B., HENEIENE W., PERRIN, M.E., RUDOLPH, D., STARSZACK, 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.
- VAN DOOREN, S., SALEMI, M., VANDAMME, A.M. Dating the origin of the human T-cell lymphotropic virus type-I (HTLV-I) subtypes. **Molecular Biology and Evolution**, **18**: 661-671, 2001.
- VICKERS, I.E., BRATHWAITE, A.R., LEVY, M., FIGUEROA, J.P. Seroprevalence of sexually transmitted infections among accepted and deferred blood donors in Jamaica. **West Indian Medical Journal**, **55 (2)**: 89-94, 2006.
- VRIELINK, H., REESINK, H.W. HTLV-I/II Prevalence in different geographic locations. **Transfusion Medicine Reviews**, **18 (1)**: 46-57, 2004.
- WHITE, D.O., FENNER, F.J., **Medical Virology**. California, Academic Press, 1994. 603p.
- WICUFF, D.R., YANITES, H.L., MARRIOTT, S. J. Identification of a functional serum response element in the HTLV-I LTR. **Virology**, **324**: 540-553, 2004.
- WILLY, R.J., SALAS, C.M., MACALINO, G.E., RICH, J.D. Long-term non-progression of HIV-1 in a patient coinfecting with HTLV-II. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, **35**: 269-270, 1999.

- WOLFE, N.D., HENEIENE, W., CARR, J.K., GARCIA, A.D., SHANMUGAM, V., TAMOUFE, U., TORIMIRO, J.N., PROSSER, A.T., LEBRETON, M., MPOUDINGOLE, E., MCCUTCHAN, F.E., BIRX, D.L., FOLKS, T.M., BURKE, D.S., SWITZER, W.M. Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among Central African bushmeat hunters. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, **102(22)**: 7994-7999, 2005.
- YOSHIDA, M. Discovery of HTLV-1, the first human retrovirus, its unique regulatory mechanisms, and insights into pathogenesis. **Oncogene**, **24**: 5931–5937, 2005.
- YOUNIS, I., KHAIR, L., DUNDR, M., LAIRMORE, M.D., FRANCHINI, G., GREEN, P.L. Repression of human T-cell leukemia virus type 1 and type 2 replication by a viral mRNA-encoded posttranscriptional regulator. **Journal of Virology**: 11077-11083, 2004.
- ZHAO, L-J., GIAM, C-Z. Human T-cell lymphotropic type I (HTLV-I) transcriptional activator, Tax, enhances CREB binding to HTLV-I 21-base-pair repeats by protein-protein interaction. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, **89**: 7070-7074, 1992.
- ZERVOU, E.K., GEORGIADOU, S., TZILIANOS, M., GEORGTSI, P., POURNARA, V., NOUSIS, S., PAPPAS, C., DASKALOU, L., VRETTU, A., KARABINI, F., DALEKOS, G.N. Human T-lymphotropic virus type I/II infections in volunteer blood donors from Northern and Western Greece: increased prevalence in one blood bank unit. **European Journal of Internal Medicine**, **15**: 422-427, 2004.

- ZUNT, J.R., TAPIA, K., THIEDE, H., LEE, R., HAGAN, H. HTLV-2 infection in injection drug users in King County, Washington. **Scandinavian journal of infectious diseases**, **38 (8)**: 654-663, 2006a.
- ZUNT, J.R., LA ROSA, A.M., PEINADO, P., LAMA, J.R., SUAREZ, L., PUN, M., CABEZAS, C., SANCHEZ, J. Risk factors for HTLV-II infection in peruvian men who have sex with men. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **74(5)**: 922-925, 2006b.
- ZURITA, S., COSTA, C., WATTS, D., INDACOCHEA, S., CAMPOS, P., SANCHEZ, J., GOTUZZO, E. Prevalence of human retroviral infection in Quillabamba and Cuzco, Peru: a new endemic area for human T cell lymphotropic virus type 1. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **56(5)**: 561-565, 1997.

ANEXO 1

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
LABORATÓRIO DE VIROLOGIA

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

1. Estou sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa sobre **Soroepidemiologia e Caracterização Molecular da infecção pelo Vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV-1/2) em gestantes da cidade de Belém, Pará, Brasil**, que está sendo desenvolvida pela Universidade Federal do Pará.
2. Para que eu decida em participar ou não da pesquisa me foram prestadas as seguintes informações:
3. O título do projeto é **Soroepidemiologia e Caracterização Molecular da infecção pelo Vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV-1/2) em gestantes da cidade de Belém, Pará, Brasil**.
4. O pesquisador responsável é o Prof. Dr. Antônio Carlos Rosário Vallinoto, Biomédico, Professor Adjunto III da Universidade Federal do Pará.
5. O objetivo da pesquisa é a vigilância soro-epidemiológica e molecular dos subtipos de HTLV circulantes na região.
6. Essa pesquisa não oferece riscos, porque as práticas são de uso rotineiro. Uma pequena quantidade de sangue (5mL) será coletada para a detecção de anticorpos específicos para HTLV-1/2, utilizando material descartável estéril.
7. Em alguns casos o processo de coleta de sangue pode gerar um pequeno desconforto, com dores e presença de equimoses (rouidão na área onde o sangue foi coletado) devido a fragilidade capilar dos vasos sanguíneos que sumirão espontaneamente, não oferecendo risco para a pessoa que aceitar participar da pesquisa.
8. 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.
9. Não haverá nenhum tipo de despesas para participação da pesquisa, assim como não haverá nenhuma forma de pagamento para participação.
10. O grande benefício desta pesquisa para todos os que participam, é possibilitar um melhor entendimento sobre a infecção pelo HTLV em mulheres grávidas na cidade de Belém.
11. Em caso de resultado positivo, as pacientes serão informadas, o que propiciará uma melhor assistência pré e pós-natal.
12. 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 identificação individual do participante.
13. Em caso de qualquer dúvida ou reclamação as participantes poderão entrar em contato com o Dr. Antônio Vallinoto, pesquisador responsável pelo projeto, através do número 3201-7587, ou dirigindo-se ao Laboratório de Virologia do Centro de Ciências Biológicas da UFPA, situado na Rua Augusto Corrêa, nº01 Guamá.

Assinatura do Pesquisador Responsável

TERMO DE 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.

Belém, ____ / ____ / ____

Assinatura da participante

ANEXO 2

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
LABORATÓRIO DE VIROLOGIA
QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO

Prontuário n°: _____ Protocolo n°: _____ Data da coleta de dados: / / _____ Procedência: _____
Nome da Paciente: _____ Data de nascimento: / / _____ Idade: _____
Endereço com bairro e telefone: _____
Município: _____ Naturalidade: _____
Município de residência anterior (se reside há menos de 05 anos no endereço atual): _____
Estado Civil: 1. Casada 2. Solteira 3. Separada 4. Viúva Filhos? a) Sim b) Não Quantos? _____
Quantas gestações: _____ Fez pré-natal de quantos? _____ Amamentou? a) Sim b) Não Idade da gestação atual: _____
Abortos? a) Sim b) Não Quantos? _____ Tempo de gestação? _____
Escolaridade
1. Não alfabetizado 4. 1º grau completo 7. 3º grau incompleto
2. Alfabetizado 5. 2º grau incompleto 8. 3º grau completo
3. 1º grau incompleto 6. 2º grau completo
Profissão: _____ Renda familiar (salários) a) <01 b) 1-3 c) 4-7 d) 8-10 e) >10
Tipo de moradia: (a) própria b) alugada c) com parentes
1. Já usou algum tipo de droga? a) álcool b) cigarro c) maconha d) outras: _____
2. Uso de droga endovenosa alguma vez
1. Sim, mas não quer comentar a) Sim b) Não 4. Não quer comentar
Há quanto tempo faz uso de drogas endovenosas _____ Anos Parou? a) Sim b) Não Ano do último uso: _____
Como você costumava fazer uso de seringa e agulha
1. sempre sozinho 2. dividia com uma pessoa fixa 3. dividia com mais de uma pessoa
Você já fez uso de drogas injetáveis com seringas ou agulhas compartilhadas com:
a) pessoas que são de, ou, normalmente viajam para outros estados?
1. Sim 2. Não 3. Não sabe Se sim, quais estados: _____
b) pessoas que são de, ou, normalmente viajam para outros países?
1. Sim 2. Não 3. Não sabe Se sim, de onde: _____
Comportamento sexual
1. com parceiro(a) heterossexual 6. com parceiro hemofílico
2. com parceiro bissexual 7. com parceiro(a) com múltiplos parceiros (promíscuo)
3. com parceiro(a) homossexual 8. com parceiro(a) portador de HIV
4. com parceiro(a) usuário de drogas não-injetáveis 9. com parceiro(a) usuário de drogas EV
5. com parceiro(a) transfundido 10. com múltiplos(a) parceiros(a)
Números de parceiros: por semana: _____ por mês: _____
Parceiro(s) de (ou em) outro(s) estado(s)? 1. Sim 2. Não 3. Não sabe Se sim, quais Estados: _____
Parceiro(s) de (ou em) outro(s) país(es)? 1. Sim 2. Não 3. Não sabe Se sim, quais países: _____
Sexo anal: a) Sempre b) Nunca c) Às vezes d) Não quer comentar e) Não se aplica
Sexo com trabalhador (a) comercial do sexo 1. Sim 2. Não 3. Não sabe
Uso de preservativo? 1. Sempre 2. Nunca 3. Às vezes
Já recebeu transfusão sanguínea: a) Sim b) Não C) Há quanto tempo: _____
Tem tatuagens: a) Sim b) Não Há quanto tempo: _____
História de DST: a) Sim b) Não Frequência: a) 0 1 b) 01 a 05 c) Mais de 05
Quais lembra: _____
Diagnóstico clínico: a) Sim b) Não Diagnóstico laboratorial: a) Sim b) Não