

**RONALDO LOPES DE SOUSA**

**SOROPREVALÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO *Vírus da imunodeficiência humana* (HIV) E DO VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS (HTLV) EM MULHERES PROFISSIONAIS DO SEXO DO ESTADO DO PARÁ, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários do Centro 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. Luiz Fernando Almeida Machado.

Belém – Pará  
2007

**RONALDO LOPES DE SOUSA**

**SOROPREVALÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO *Vírus da Imunodeficiência humana* (HIV) E DO VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS (HTLV) EM MULHERES PROFISSIONAIS DO SEXO DO ESTADO DO PARÁ, BRASIL**

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

Orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Almeida Machado  
Departamento de Patologia, UFPA

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

Profa. Dra. Marluísa de Oliveira Guimarães Ishak  
Departamento de Patologia, UFPA

Prof. Dr. Antonio Carlos Rosário Vallinoto  
Departamento de Patologia, UFPA

Prof. Dr. Marcio Roberto Teixeira Nunes (suplente)  
Serviço de Abovirologia, IEC

Belém, 03 de agosto de 2007.



## AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e pela oportunidade de realizar e concluir este trabalho.

Ao professor Dr. Ricardo Ishak e à professora Dr.<sup>a</sup> Marluísa de Oliveira Guimarães Ishak por permitirem a realização desta pesquisa no Laboratório de Virologia do Centro de Ciências Biológicas, UFPA.

Quero expressar os meus sinceros agradecimentos ao Prof. Dr. Luiz Fernando Almeida Machado, não só por ser o orientador deste trabalho, mas pela amizade e por acreditar na minha capacidade de desenvolver esse projeto de mestrado.

Aos amigos do laboratório de Virologia, em especial Lucinda, Renata, Carol, Jaqueline, Deivid, Jamila, Leonardo, Etiene, Maria Helena e Helen, pelo companheirismo.

À grande amiga Rosimar, pessoa que está sempre disposta a ajudar a todos dentro do laboratório, ensinando as técnicas, indicando o local onde ficam os reagentes, sempre com bom humor e paciência.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Rosário Vallinoto, pelas conversas calorosas acerca de assuntos como a política nacional, paraense e sobre futebol.

Às grandes amigas Laurita Coelho, Marli da Conceição e Mirian Pantoja, pessoas que contribuíram diretamente para as coletas das amostras no município de Barcarena, com quem contei em momentos difíceis, tendo estado ao meu lado de forma voluntária e amigável.

À minha esposa Denise pelo apoio e amizade, e às minhas filhas Ana Clara e Beatriz por entenderem minha ausência.

À minha querida e inestimável irmã Reginalva, alguém com quem sempre posso contar e a quem posso recorrer em qualquer situação, e a seus filhos Paulo e Ana Beatriz.

Aos meus pais, principalmente à minha mãe, pelo companheirismo e pelos esforços que fez para garantir meus estudos no Estado do Maranhão.

Ao Prof. Dr. Gilmar Pereira da Silva, amigo que permitiu a minha saída do Maranhão, lutar para estudar e hoje estar fazendo um curso de Mestrado.

Aos amigos Ivaldir Barros, Rosivaldo Furtado, Professora Diene, Jaqueline, pela força que me deram nos momentos de desânimo, e especialmente à Professora Edna Costa, que organizava as minhas turmas quando eu chegava atrasado ao trabalho.

À querida Neuza, minha grande amiga, sempre disposta a prestar ajuda, dar conselhos e contribuir para o meu sucesso como pessoa.

Às Escolas Marcos Martins Magno e Laurival Magno Cunha pelo apoio, bem como por entender, quando necessário, os atrasos e as faltas.

A todas as MPS das cidades de Augusto Correa, Bragança, Belém e Barcarena, que confiaram e acreditaram no trabalho.

À Dr.<sup>a</sup> Agermira, da Secretaria Municipal de Saúde de Barcarena, que contribuiu fornecendo-nos camisinhas e transporte.

À ONG Porto Seguro, na pessoa da Senhora Nazaré, pelo apoio dado durante as coletas na cidade de Barcarena.

Ao amigo Pablo, pessoa com quem gosto muito de conversar e debater sobre os mais diversos temas relacionados ao conhecimento científico e sobre religião.

Ao Professor Antônio Miguel, amigo que contribuiu diretamente na minha vida estudantil durante a minha preparação para o vestibular.

Ao Dr. Paulo Alcântara, um amigo que confiou na minha capacidade de trabalho, tornando assim possível a conclusão de meu Ensino Médio.

À grande amiga Roselena Furtado, por quem tenho muito carinho, admiração, respeito e estima.

Ao amigo Luiz Fernando Almeida Machado, por sua amizade, respeito e acima de tudo companheirismo, na verdade só tendo eu a agradecer, pois, tendo o privilégio de conviver com ele, aprendi muito durante a execução desse trabalho, porque com ele temos sempre algo a aprender.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS</b>	11
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	12
<b>RESUMO</b>	14
<b>ABSTRACT</b>	15
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	16
1.1. <b>BIOLOGIA DO HIV-1</b>	17
1.1.1. <b>Replicação do HIV-1</b>	20
1.1.2. <b>Heterogeneidade genética do HIV-1</b>	21
1.1.3. <b>Epidemiologia do HIV-1</b>	22
1.1.4. <b>Modos de transmissão do HIV-1</b>	23
1.1.5. <b>Distribuição geográfica do HIV-1</b>	25
1.1.5.1. Distribuição do HIV-1 na África	25
1.1.5.2. Distribuição do HIV-1 na Ásia	27
1.1.5.3. Distribuição do HIV-1 na Europa	29
1.1.5.4. Distribuição do HIV-1 nas Américas	32
1.1.5.5. Distribuição geográfica do HIV-1 no Brasil	34
1.1.5.6. Soroprevalência e subtipos do HIV-1 entre MPS	36
1.2. <b>VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS (HTLV)</b>	38
1.2.1. <b>Biologia do HTLV</b>	38
1.2.2. <b>Ciclo de Replicação do HTLV</b>	40
1.2.3. <b>Heterogeneidade genética do HTLV</b>	42
1.2.4. <b>Epidemiologia do HTLV</b>	43
1.2.5. <b>Modos de transmissão do HTLV</b>	44

<b>1.2.6. Distribuição geográfica do HTLV</b>	45
1.2.6.1. Distribuição geográfica do HTLV na África	45
1.2.6.2. Distribuição geográfica do HTLV na Ásia	47
1.2.6.3. Distribuição geográfica do HTLV na Europa	49
1.2.6.4. Distribuição geográfica do HTLV nas Américas	51
1.2.6.5. Distribuição geográfica do HTLV no Brasil	53
1.2.6.6. Soroprevalência e subtipos do HTLV em MPS	56
<b>1.3. OBJETIVOS</b>	58
1.3.1. <b>Objetivo Geral</b>	58
1.3.2. <b>Objetivos Específicos</b>	58
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b>	59
2.1. <b>ÁREA DE ESTUDO</b>	59
2.2. <b>POPULAÇÃO EXAMINADA</b>	60
2.2.1. <b>Aspectos éticos</b>	60
2.2.2. <b>Critérios de Inclusão e Exclusão</b>	60
2.3. <b>COLETA DAS AMOSTRAS</b>	61
2.4. <b>SOROLOGIA</b>	61
2.5. <b>EXTRAÇÃO DO DNA</b>	61
2.5.1. <b>Lise celular</b>	62
2.5.2. <b>Precipitação de proteínas</b>	62
2.5.3. <b>Precipitação do DNA</b>	63
2.5.4. <b>Hidratação do DNA</b>	63
2.6. <b>REAÇÃO EM CADEIA MEDIADA PELA POLIMERASE (PCR) PARA O HTLV</b>	64

<b>2.6.1.</b>	<b>Amplificação do Gene <i>pX</i></b>	64
<b>2.6.2.</b>	<b>Amplificação da região 5'<i>LTR</i> do HTLV-1</b>	65
<b>2.6.3.</b>	<b>Reação em cadeia mediada pela polimerase (PCR) para o HIV-1</b>	66
2.6.3.1.	Amplificação do Gene <i>pro</i>	66
2.6.3.2.	Eletroforese	67
2.6.3.3.	Purificação do produto da PCR	67
2.7.	SEQÜENCIAMENTO DOS NUCLEOTÍDEOS	68
<b>2.7.1.</b>	<b>Precipitação do DNA Seqüenciado</b>	69
<b>2.7.2.</b>	<b>Eletroforese do DNA Seqüenciado</b>	69
2.8.	ANÁLISE DAS SEQÜÊNCIAS NUCLEOTÍDICAS	69
<b>2.8.1.</b>	<b>Edição e Alinhamento das Seqüências</b>	69
<b>2.8.2.</b>	<b>Inferência Estatística</b>	70
<b>2.8.3.</b>	<b>Análise Filogenética</b>	70
2.8.3.1.	Método de agrupamento de vizinhos ( <i>Neighbor-Joining</i> ) para a Análise Filogenética	70
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS</b>	72
3.1.	SOROLOGIA	72
3.2.	INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO	73
3.3.	CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DAS MPS PORTADORAS DO HIV E DO HTLV	78
3.4.	SUBTIPAGEM DO HIV E DO HTLV	81
<b>4.</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	84
4.1.	EPIDEMIOLOGIA DO HIV	84
4.2.	EPIDEMIOLOGIA DO HTLV	86

4.3.	EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DO HIV-1 EM MULHERES PROFISSIONAIS DO SEXO	88
4.4.	EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DO HTLV-1 EM MULHERES PROFISSIONAIS DO SEXO	90
5.	CONCLUSÕES	92
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93

**LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS**

Tabela 1 – Iniciadores utilizados na PCR para amplificação da região genômica <i>pX</i>	65
Tabela 2 – Iniciadores utilizados na PCR para amplificação da região 5' <i>LTR</i> do HTLV-1	66
Tabela 3 – Iniciadores utilizados na PCR para amplificação do gene <i>pro</i> do HIV-1	67
Tabela 4 – Soroprevalência do HIV e HTLV nas cidades de Augusto Correa, Bragança, Belém e Barcarena, determinada por ELISA	72
Tabela 5 – Características epidemiológicas de 339 mulheres profissionais do sexo que fizeram parte do estudo	80
Gráfico 1 – Média de idade das MPS	73
Gráfico 2 – Estado civil das MPS	74
Gráfico 3 – Grau de escolaridade das MPS	75
Gráfico 4 – Uso de drogas pelas MPS	76
Gráfico 5 – Comportamento sexual das MPS	77
Gráfico 6 – Uso de preservativos nas relações sexuais pelas MPS	78

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 – Estrutura morfológica do HIV-1	17
Figura 2 – Representação esquemática do genoma do HIV-1, mostrando os genes estruturais ( <i>gag</i> , <i>pol</i> , e <i>env</i> ) e regulatórios ( <i>tat</i> , <i>rev</i> , <i>vpr</i> , <i>vpu</i> , <i>nef</i> e <i>vif</i> )	18
Figura 3 – Representação esquemática do ciclo de replicação do HIV-1	20
Figura 4 – Estimativa do número de pessoas infectadas pelo HIV-1 de acordo com a região geográfica	23
Figura 5 – Distribuição geográfica dos subtipos e das formas recombinantes circulantes do HIV-1 na África	26
Figura 6 – Distribuição geográfica dos subtipos e das formas recombinantes circulantes do HIV-1 na Ásia	28
Figura 7 – Distribuição geográfica dos subtipos e das formas recombinantes circulantes do HIV-1 na Europa	30
Figura 8 – Distribuição geográfica dos subtipos e das formas recombinantes circulantes do HIV-1 na América Latina	33
Figura 9 – Distribuição geográfica dos subtipos e das formas recombinantes circulantes do HIV-1 no Brasil	35
Figura 10 – Representação esquemática do HTLV	38
Figura 11 – Estrutura do genoma do HTLV	39
Figura 12 – Representação esquemática do ciclo de replicação do HTLV	40
Figura 13 – Distribuição geográfica dos tipos e subtipos do HTLV na África	46
Figura 14 – Distribuição geográfica dos tipos e subtipos do HTLV na Ásia	48
Figura 15 – Distribuição geográfica dos tipos e subtipos do HTLV na Europa	50
Figura 16 – Distribuição geográfica dos tipos e subtipos do HTLV nas Américas	52

Figura 17 – Distribuição geográfica dos tipos e subtipos do HTLV no Brasil	53
Figura 18 – Localização geográfica dos municípios onde as coletas das amostras foram efetuadas	59
Figura 19 – Análise filogenética baseada no alinhamento de 249 nucleotídeos do <i>gene pro</i>	82
Figura 20 – Árvore filogenética mostrando as relações filogenéticas entre as cepas do HTLV-1 descritas na literatura e as amostras seqüenciadas no presente estudo	83

## RESUMO

As mulheres profissionais do sexo (MPS) constituem uma população vulnerável à aquisição de doenças sexualmente transmissíveis (DST) em virtude do tipo de atividade que desempenham. O presente trabalho teve como objetivo descrever a soroprevalência da infecção e a caracterização molecular do HIV e do HTLV de MPS do Estado do Pará, Brasil. Coletou-se amostra de sangue de 339 MPS, sendo 105 provenientes da cidade de Barcarena, 31 da cidade de Augusto Correa, 98 da cidade de Bragança e 105 da cidade de Belém, no período de abril de 2005 a agosto de 2006. Todas as amostras de plasma foram testadas para a presença de anticorpos anti-HTLV-1/2 e anti-HIV-1/2, por meio do uso de um ensaio imunoenzimático. As amostras reativas para o HTLV foram submetidas à confirmação por métodos moleculares, enquanto que as reativas para o HIV foram confirmadas por imunofluorescência indireta. A prevalência do HIV-1 e do HTLV-1 na população estudada foi de 2,3% e 1,76%, respectivamente. A amplificação do gene *pro* do HIV-1 revelou os subtipos B e F, enquanto que as amostras de HTLV foram classificadas como HTLV-1 do subtipo Cosmopolita do subgrupo Transcontinental. Houve uma associação significativa da infecção pelo HIV-1 com a faixa etária, com o número de parceiros por semana e com o uso inconstante de preservativos. Entretanto, a infecção pelo HTLV-1 só mostrou associação significativa em relação ao uso inconstante de preservativo. A relação sexual foi a mais provável via de aquisição da infecção pelos dois agentes virais, uma vez que o relato de uso de drogas endovenosas foi raro. Sendo assim, as MPS necessitam de maior atenção dos órgãos públicos de saúde quanto à prevenção e monitoramento de agentes transmissíveis por via sexual, uma vez que estas podem ser importantes na aquisição e disseminação destes agentes.

## ABSTRACT

The Women's Professional of the Sex (WPS) constitute a vulnerable population to the acquisition of sexually transmissible illnesses (STI) in virtue of the type of activity that they play. The present work had as objective to describe the seroprevalency of the infection and the molecular characterization of the HIV and the HTLV of WPS of the State of Pará, Brazil. Blood sample's of 339 WPS were collected, being 105 proceeding from the city of Barcarena, 31 of the city of Augusto Correa, 98 of the city of Bragança and 105 of the city of Belém, in the period of April of 2005 the August of 2006. All the plasma samples had been tested for the presence of antibodies anti-HTLV-1/2 and anti-HIV-1/2, by means of the use of a immune enzymatic assay. The prevalence of the HIV-1 and the HTLV-1 in the studied population was of 2,36% and 1,77%, respectively. The amplification of the gene *pro* of the HIV-1 disclosed subtypes B and F, whereas the samples of HTLV, had been classified as HTLV-1 of the Cosmopolita subtype of the Transcontinental sub-group. It had a significant association of the infection for the HIV-1 with the age band, the number of partners per week and with the capricious use of condoms. However, the infection for the HTLV-1 alone showed significant association in relation to the capricious use of condom. The sexual relation was the most likely way of acquisition of the infection for the two viral agents, considering that the report of use of injective drugs was rare. Being thus, the WPS need bigger attention of the public agencies of health, specially in relation to the prevention and monitoring of transmissible agents by sexual pathways, as these can be important in the acquisition and dissemination of these agents.

## 1. INTRODUÇÃO

Os retrovírus formam um grupo de vírus pertencentes à família *Retroviridae*. Nessa família encontram-se vírus que infectam primariamente vertebrados e estão associados a doenças neurológicas, a transformação celular e a quadro de imunodeficiência, sendo similares na estrutura física, na organização do genoma e no modo de replicação (Coffin, 1996).

A família *Retroviridae* é dividida em duas subfamílias: *Orthoretrovirinae* e *Spumaretrovirinae*. A subfamília *Orthoretrovirinae* é formada por seis gêneros: *Alpharetrovirus*, *Betaretrovirus*, *Gammaretrovirus*, *Deltaretrovirus*, *Epsilonretrovirus* e *Lentivirus*, enquanto a subfamília *Spumaretrovirinae* é formada por apenas um gênero: *Spumavirus* (Murphy *et al.*, 1996; ICTV, 2004).

O Vírus linfotrópico de células T humanas 1 (HTLV-1), o primeiro retrovírus humano identificado, está classificado no gênero *Deltaretrovirus*. Esse vírus foi isolado em 1980 de pacientes com Leucemia/Linfoma de Células T do Adulto (LLcTA) (Poiesz *et al.*, 1980) e, posteriormente, associado ao quadro de distúrbios neurodegenerativo denominado de Paraparesia Espástica Tropical/Mielopatia associado ao HTLV-1 (PET/MAH) (Gessain *et al.*, 1985).

No ano de 1982 foi isolado o HTLV-2 a partir de células T derivadas do baço de um paciente com uma forma rara de leucemia (Kalyanaraman *et al.*, 1982). No ano de 2005, foram identificados, em populações de áreas rurais de Camarões, dois tipos distintos de HTLV, denominados de HTLV-3 e HTLV-4 (Calattini *et al.*, 2005; Wolfe *et al.*, 2005).

O Vírus da imunodeficiência humana (HIV) está classificado no gênero *Lentivirus*, isolado em 1983 (Barre-Sinoussi *et al.*, 1983), denominado inicialmente de

vírus associado à linfadenopatia (*lymphadenopathy associated virus* – LAV) pelo grupo liderado por Luc Montaigner, do Instituto Pasteur de Paris e Vírus linfotrópico de células T humana tipo III (HTLV-III) pelo grupo de Robert Gallo dos Estados Unidos (Gallo *et al.*, 1984). Posteriormente, em 1986, essas denominações foram substituídas em favor da denominação *Vírus da imunodeficiência humana 1* (HIV-1) (Coffin *et al.*, 1986). Nesse mesmo ano, um outro vírus com características semelhantes foi descrito, tendo sido denominado *Vírus da imunodeficiência humana 2* (HIV-2) (Clavel *et al.*, 1986).

### 1.1. BIOLOGIA DO HIV-1

O HIV-1 possui um envelope formado por uma bicamada lipídica derivada da membrana plasmática da célula hospedeira, com glicoproteínas virais expostas na superfície (gp120) e glicoproteínas transmembrana (gp41) (Freed, 1998). A matriz (MA) está localizada entre envelope e o capsídeo, sendo composta pela proteína p17 que forma uma estrutura compacta a partir de proteínas  $\alpha$  e  $\beta$ -pregueadas (Turner & Summers, 1999; Figura 1).

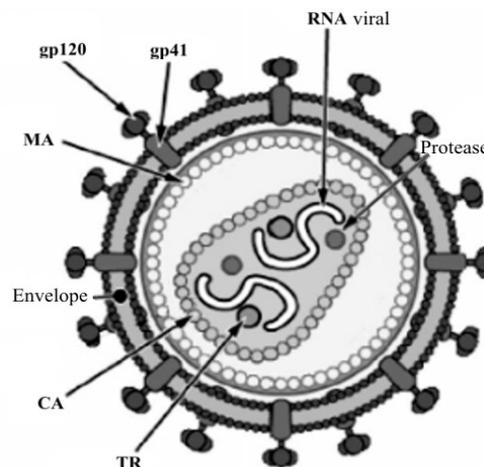


Figura 1 – Estrutura morfológica do HIV-1 (Adaptado de Sierra *et al.*, 2005).

O capsídeo, de natureza protéica e simetria icosaédrica, protege o genoma viral que é constituído de duas moléculas iguais de ácido ribonucléico (RNA) de fita simples e polaridade positiva que, juntamente com a protease (PR), a transcriptase reversa (TR) e a integrase (IN), formam o nucleocapsídeo viral (Turner & Summers, 1999).

Os retrovírus apresentam três genes estruturais comuns à família *Retroviridae*: *gag*, *pol* e *env*. O gene *gag* codifica as proteínas da MA, do capsídeo (CA) e do nucleocapsídeo (NU); o gene *pol* codifica as enzimas TR, IN e PR, enquanto que *env* codifica as glicoproteínas do envelope (gp120 e gp41). Além desses genes estruturais, o HIV-1 possui seis genes regulatórios: *tat*, *rev*, *vpr*, *vpu*, *nef* e *vif* (Coffin, 1996; Figura 2). Esses genes são delimitados por duas regiões terminais longas e repetitivas chamadas *LTR* (*Long Terminal Repeats*) (Greene, 1991).

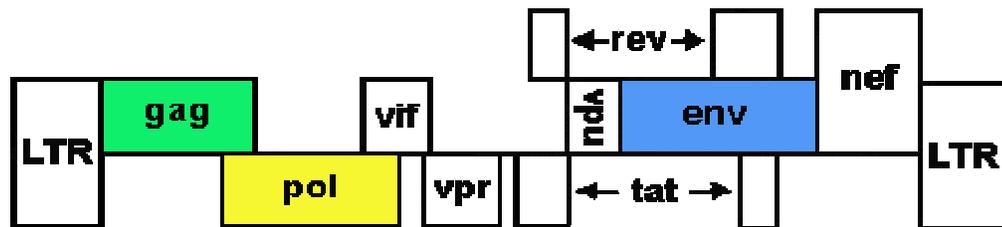


Figura 2 – Representação esquemática do genoma do HIV-1, mostrando os genes estruturais (*gag*, *pol*, e *env*) e regulatórios (*tat*, *rev*, *vpr*, *vpu*, *nef* e *vif*) (Adaptado de Sherman & Greene, 2002).

O gene *nef* e o gene *vpu* codificam proteínas que, dentre outras funções, destacam-se pela redução da quantidade de receptores de membrana (CD4), presentes principalmente nos linfócitos T auxiliares, nos monócitos e nas células dendríticas e na diminuição das proteínas do complexo principal de histocompatibilidade de classe I na superfície celular, protegendo as células infectadas do reconhecimento e lise pelos linfócitos T citotóxicos (Arold & Baur, 2001; Deora & Ratner, 2001; Greenway *et al.*, 2003; Montal, 2003; Petersen *et al.*, 2003).

A proteína Vif é sintetizada no final do ciclo de replicação viral, possivelmente estando relacionada com a montagem, a maturação e o brotamento das partículas virais (Madani & Kabat, 2000; Zhang *et al.*, 2000; Gaddis *et al.*, 2003; Lake *et al.*, 2003).

A proteína Vpr regula a expressão dos genes virais induzindo as células infectadas a permanecerem na fase G2 do ciclo celular. Além disso, é importante no transporte do complexo de pré-integração (CPI) do citoplasma para o núcleo, constituído do DNA proviral, TR, p17, IN e a proteína Vpr (Sawaya *et al.*, 2000; Eckstein *et al.*, 2001; Sherman & Greene, 2002).

A proteína Rev se liga ao RNA viral não processado, em uma região chamada de *rev response element* (RRE) e, juntamente com a proteína nuclear celular exportina-1, transporta-o do núcleo para o citoplasma da célula infectada (Ohno *et al.*, 1998). A proteína Tat atua ativando a transcrição, pois se liga ao RNA mensageiro (mRNA), recrutando proteínas celulares, como a ciclina T e a proteína quinase 9 dependente de ciclina, que estimulam o alongamento da transcrição (Bayer *et al.*, 1995; Wei *et al.*, 1995; Turner & Summers, 1999).

### 1.1.1. Replicação do HIV-1

O ciclo de replicação do HIV-1 pode ser considerado como uma seqüência de eventos que se inicia a partir da interação entre as glicoproteínas localizadas na superfície do envelope viral (gp120) e as moléculas CD4 presentes na célula hospedeira (Wyatt & Sodroski, 1998). Posteriormente, ocorre mudança na conformação da gp120, permitindo sua interação com a molécula receptora de quimiocina, como a CCR5 ou a CXCR4 (Overbaugh *et al.*, 2001). A interação com o receptor de quimiocina causa nova mudança conformacional na gp120 que, conseqüentemente, permite à gp41 promover a fusão do envelope viral com a membrana da célula-alvo, culminando assim com a penetração do vírus na célula hospedeira (Goldsmith & Doms, 2002; Sherman & Greene, 2002; Gallo *et al.*, 2003; Figura 3). Uma outra forma usada pelo HIV-1 para penetrar na célula-alvo se dá por meio da endocitose mediada por receptor com posterior fusão do envelope viral com a membrana do endossoma (Marechal *et al.*, 1998).

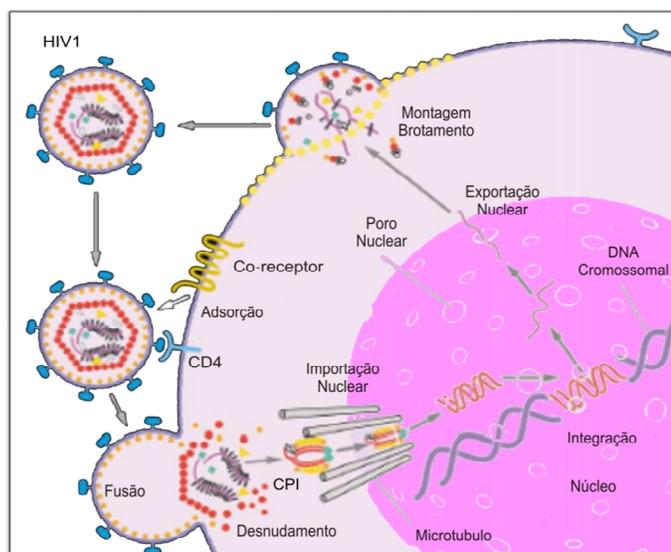


Figura 3 – Representação esquemática da replicação do HIV-1 (Adaptado de Sherman & Greene, 2002).

No citoplasma da célula hospedeira ocorrem vários eventos que se iniciam com a transcrição reversa do genoma viral. O RNA genômico serve como molde para a síntese de uma molécula de ácido desoxirribonucléico (DNA) por ação da TR, resultando em um filamento híbrido RNA-DNA (Lanchy *et al.*, 2000). Em seguida, ocorre a degradação da fita simples de RNA, pela ação de ribonuclease que a TR apresenta, com subsequente duplicação do DNA, levando à formação do CPI (Beerens & Berkhout, 2002; Sherman & Greene, 2002). O CPI entra no núcleo por meio dos poros nucleares, formados por grandes estruturas de proteínas transmembrana chamadas importinas (Zennou *et al.*, 2000). A integração do DNA viral ao genoma da célula hospedeira é catalisada pela enzima integrase (Asante-Appianh & Skalka, 1997).

O genoma proviral integrado ao material genético da célula infectada entra na fase tardia da replicação com a transcrição e o processamento do RNA viral. Os transcritos irão dar origem ao RNA genômico e a síntese de proteínas estruturais das partículas em processo de montagem (Nydegger *et al.*, 2003). Nessa etapa, o RNA genômico e as proteínas estruturais do vírus são transportados para a membrana plasmática, onde haverá a montagem de novas partículas virais que finalmente serão liberadas para o meio extracelular por exocitose (Pelchen-Matthews *et al.*, 2003; Scarlata & Carter, 2003).

### **1.1.2. Heterogeneidade genética do HIV-1**

Uma das principais características do HIV-1 é a sua grande diversidade genética. A análise molecular e filogenética do vírus isolado na África e em outras regiões do mundo indica a existência de três grupos: M (*main*), grupo N (*non-M/non-O*) e grupo O (*Outlier*) (McCutchan, 2000; Holzmayer *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2005a).

Essa variação pode ser devida a erros de leitura da TR durante o processo de replicação, à pressão da resposta imunológica, a eventos de recombinação e ao uso de terapia antiretroviral (Jetzt *et al.*, 2000; Kelleher *et al.*, 2001; Perrin *et al.*, 2003).

A análise filogenética do HIV-1 tem mostrado que o grupo M encontra-se dividido em 9 subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J e K), em 8 sub-subtipos (A1, A2, A3, A4, F1, F2, J1 e J2) (Delgado *et al.*, 2002, Papa *et al.*, 2002; Meloni *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2005a; Vidal *et al.*, 2006) e em 34 formas recombinantes circulantes (CRF), tais como: CRF01\_AE, CRF02\_AG, CRF03\_AB, CRF04\_cpx, CRF05\_DF, CRF06\_cpx, CRF07\_BC, CRF08\_BC, CRF09\_cpx, CRF10\_CD, CRF11\_cpx, CFR12\_BF, CRF13\_cpx, CRF14\_BG, CRF15\_01B, CRF16\_A2D, CRF17\_BF, CRF18\_cpx, CRF19\_cpx, CRF20\_BG, CRF21\_A2D, CRF22\_01A1, CRF23\_BG, CRF24\_BG, CRF25\_cpx, CRF26\_AU, CRF27, CRF28\_BF, CRF29\_BF, CRF30, CRF31\_02A1, CRF32\_06A1, CRF33\_01B, CRF34\_01B. ([www.hiv.lanl.gov/content/hiv-db/CRFs/CRFs.html](http://www.hiv.lanl.gov/content/hiv-db/CRFs/CRFs.html)).

### **1.1.3. Epidemiologia do HIV-1**

Segundo a UNAIDS (*Joint United Nations Programme on HIV/AIDS*) e a OMS (Organização Mundial de Saúde), no ano de 2005, cerca de 40,3 milhões de pessoas no mundo eram portadoras do HIV-1 e ocorreram, aproximadamente, 4,9 milhões de novas infecções (Figura 4). Desde o início da epidemia, já evoluíram para óbito mais de 25 milhões de pessoas (UNAIDS/WHO, 2005).



Figura 4 – Estimativa do número de pessoas infectadas pelo HIV-1 de acordo com a região geográfica (Adaptado de UNAIDS/WHO, 2005).

#### 1.1.4. Modos de transmissão do HIV-1

Estudos epidemiológicos demonstraram que a maioria das infecções causadas pelo HIV-1 ocorreu por meio da transmissão sexual, pois o vírus pode ser encontrado no sêmen, tanto na forma livre, como associado à célula (Kashuba *et al.*, 1999; Delwart *et al.*, 2000; Pao *et al.*, 2005). Essa forma de contaminação é a predominante entre mulheres profissionais do sexo (MPS) em vários países do mundo, como na África (Ghys *et al.*, 2001), no Vietnã (Tran *et al.*, 2005), no México (Pettersson *et al.*, 2005) e no Brasil (Araújo *et al.*, 2006).

Na África do Sul, as principais formas de aquisição do HIV são as relações heterossexuais e materno-infantil, enquanto que na França a forma predominante é o contato sexual (Morison, 2001; Vanchot *et al.*, 2004). Em Cuba, um

estudo realizado em várias províncias, indicou maior prevalência do HIV-1 entre homens com comportamento bissexual (Taboada *et al.*, 2000).

Em alguns países como China, Tailândia e Alemanha, a transmissão do HIV-1 ocorreu pela via parenteral entre usuários de drogas injetáveis (UDI) e adicionalmente por contato sexual (Yu *et al.*, 2002; Saidel *et al.*, 2003; Harris *et al.*, 2005). Resultado semelhante foi encontrado no Sul e Centro Sul do Brasil (Martinez *et al.*, 2002; Teixeira *et al.*, 2004). Contudo, nas últimas décadas, nos EUA e no Brasil tem aumentado o número de mulheres infectadas pelo HIV-1 por relações heterossexuais como forma predominante de contágio (Martinez *et al.*, 2002; Fernandes *et al.*, 2005; Wenzel & Teucker, 2005).

A transmissão do HIV-1 da mulher grávida para o seu concepto pode ocorrer de três maneiras distintas: intra-útero, no decorrer do nascimento e no pós-parto, neste caso por meio do aleitamento materno (Bryson, 1996; Orloff *et al.*, 1996; Dabis *et al.*, 2000; Fowler & Newell, 2002). Além desses fatores, a doença materna avançada é também um fator de risco, pois taxas aumentadas de transmissão são encontradas entre mães com baixos níveis de CD4 ou com sintomas da doença (Orloff *et al.*, 1996).

No caso do aleitamento materno, já foi comprovada a presença do vírus em amostras de leite humano e no colostro (Read, 2003). Isso representa um risco adicional de infecção de 7,0% a 22,0%, dependendo do tempo de exposição e suscetibilidade da criança (Embree *et al.*, 2000; Bhana *et al.*, 2002).

Várias estratégias podem ser adotadas com a finalidade de reduzir a transmissão vertical, dentre elas destacando-se a redução da carga viral com o uso de antiretrovirais e a intervenção com cesárea eletiva (realizada antes de instalado o

trabalho de parto e da ruptura das membranas amnióticas) (Cannor *et al.*, 1994; Mandelbrot *et al.*, 1999; Sedgh *et al.*, 2004; Duarte *et al.*, 2005).

A transmissão pela via parenteral do HIV-1 ocorre, principalmente, através de instrumentos contaminados entre UDI, o que foi demonstrado em vários estudos realizados em países da Europa Ocidental, nos EUA e na América Latina com essa população (Delgado *et al.*, 2002; Bobkov *et al.*, 2004; Teixeira *et al.*, 2004). No caso específico das MPS, o uso de drogas injetáveis é um fator de risco adicional quanto à aquisição do HIV (UNAIDS, 2006). Ademais, outra forma de aquisição do HIV-1 se dá por transfusão de sangue, porém esta já não representa mais um fator de risco importante como no início da epidemia (Fernandes *et al.*, 2002).

O HIV-1 também pode ser adquirido por profissionais de saúde em caso de acidentes com materiais perfuro-cortantes contaminados com sangue, ou ainda pelo contato com secreções de pacientes portadores do vírus (Machado *et al.*, 2002).

### **1.1.5. Distribuição geográfica do HIV-1**

#### 1.1.5.1. Distribuição geográfica do HIV-1 na África

A distribuição mundial do HIV-1 é heterogênea, mas a África subsaariana apresenta 60% do total de infecção pelo vírus no continente, somando 25,8 milhões de portadores (UNAIDS, 2005). A diversidade genética do HIV-1 é elevada nos países do continente africano, onde a maioria dos subtipos do grupo M, assim como os grupos N e O, já foram isolados (Osmanov 2002; Peeters *et al.*, 2003; Roque *et al.*, 2004; Kandathil *et al.*, 2005; Figura 5).

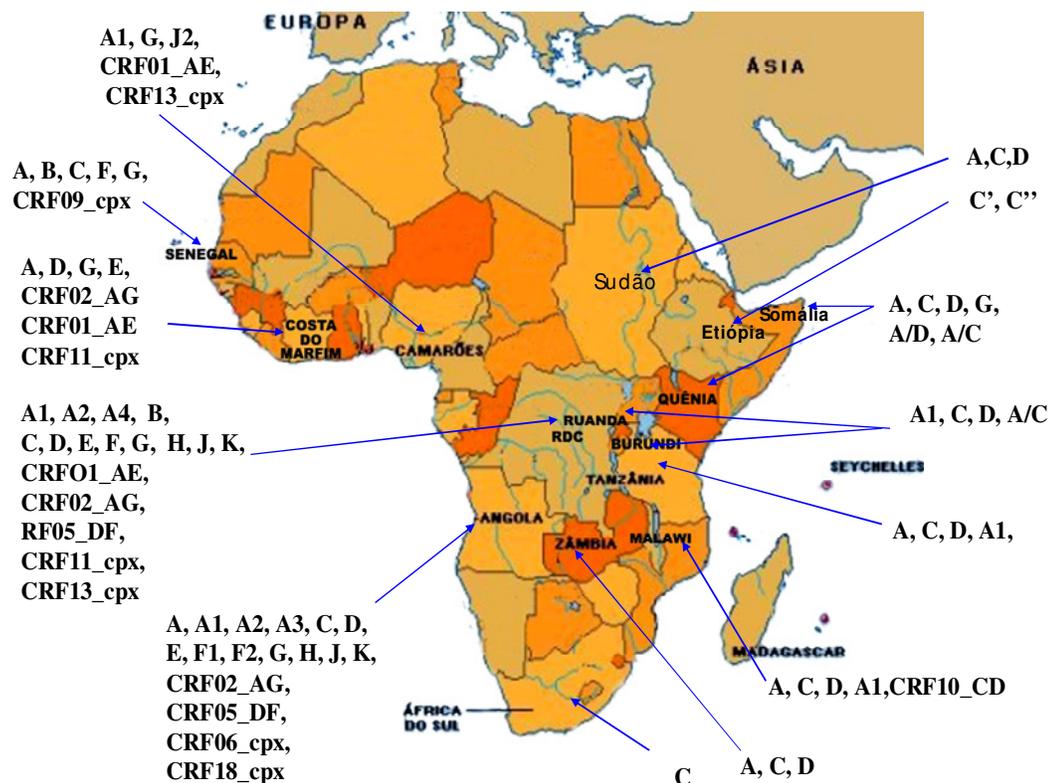


Figura 5 – Distribuição geográfica dos subtipos e das formas recombinantes circulantes do HIV-1 na África (Adaptado de Peeters *et al.*, 2003).

O subtipo C do HIV-1 é a cepa dominante na epidemia dos países localizados ao sul da África, principalmente, em Limpopo, Burundi, Zâmbia e Malawi (Koch *et al.*, 2001; MacCormack *et al.*, 2002; Bessong *et al.*, 2005; Munkanta *et al.*, 2005). Em Angola, uma ampla diversidade de subtipos do HIV-1 pode ser encontrada, pois com apenas 48 seqüências obtidas dos genes *env* e *gag* encontram-se oito subtipos (A1, C, H, J, G, A2, F1 e D) e mais seis formas recombinantes (A1/H, A1/G, C/A2, F1/B, G/B e G/H) (Bártolo *et al.*, 2005).

A distribuição de subtipos e a proporção de formas recombinantes do HIV-1 na África dependem do país em questão. Isso ficou evidente a partir de

levantamentos moleculares realizados em países como a República Democrática do Congo, pois a análise dos genes *gag* e *env* permitiram a descrição de vários subtipos (A1, A2, B, C, D, E, F, G, H, J e K) e diversas formas recombinantes (CRF01\_AE, CRF02\_AG, CRF05\_DF, CRF11\_CPX, CRF13\_CPX) (Vidal *et al.*, 2000; Poveda *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2005). Na região sudeste da Tanzânia, Myeba, a frequência dos subtipos foi: A (25%), C (55%), D (9%) e a forma recombinante CRF10\_CD, descrita pela primeira vez nesse país (Hoelscher *et al.*, 2001; Kiwelu *et al.*, 2005).

No Quênia e países vizinhos como Etiópia, Somália e Sudão, a análise parcial de seqüências do gene *env*, revelou 50% do subtipo A, 39,0% do subtipo C e 11,0% do subtipo D, refletindo a predominância desses três subtipos nessas localidades (Peeters *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2003; Khamadi *et al.*, 2005). Por outro lado, resultados semelhantes foram encontrados na Costa do Marfim, Camarões e Senegal (Toni *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2005a).

Servais *et al.* (2004), estudando a diversidade genética do gene *pol* para o HIV-1 em Ruanda, isolaram os subtipos C e D e o sub-subtipo A1, como formas predominantes entre mulheres grávidas. Além desses subtipos, foi identificada a forma recombinante A/C. Esses subtipos podem também ser detectados não só em centros urbanos, mas também em áreas rurais, como já foi documentado em Malavi (MacCormack *et al.*, 2002).

#### 1.1.5.2. Distribuição geográfica do HIV-1 na Ásia

No continente asiático, estima-se que 8,3 milhões de pessoas eram portadores do HIV-1 no ano de 2005. Nesse mesmo ano ocorreram 1,1 milhão de novas infecções (UNAIDS, 2005). Dados de epidemiologia molecular revelaram que os

subtipos A, B, C, D, E, G e as formas recombinantes CRF01\_AE, CRF02\_AG, no Japão e em Taiwan, eram as cepas predominantes (Lee *et al.*, 2000; Kato *et al.*, 2003; Figura 6).

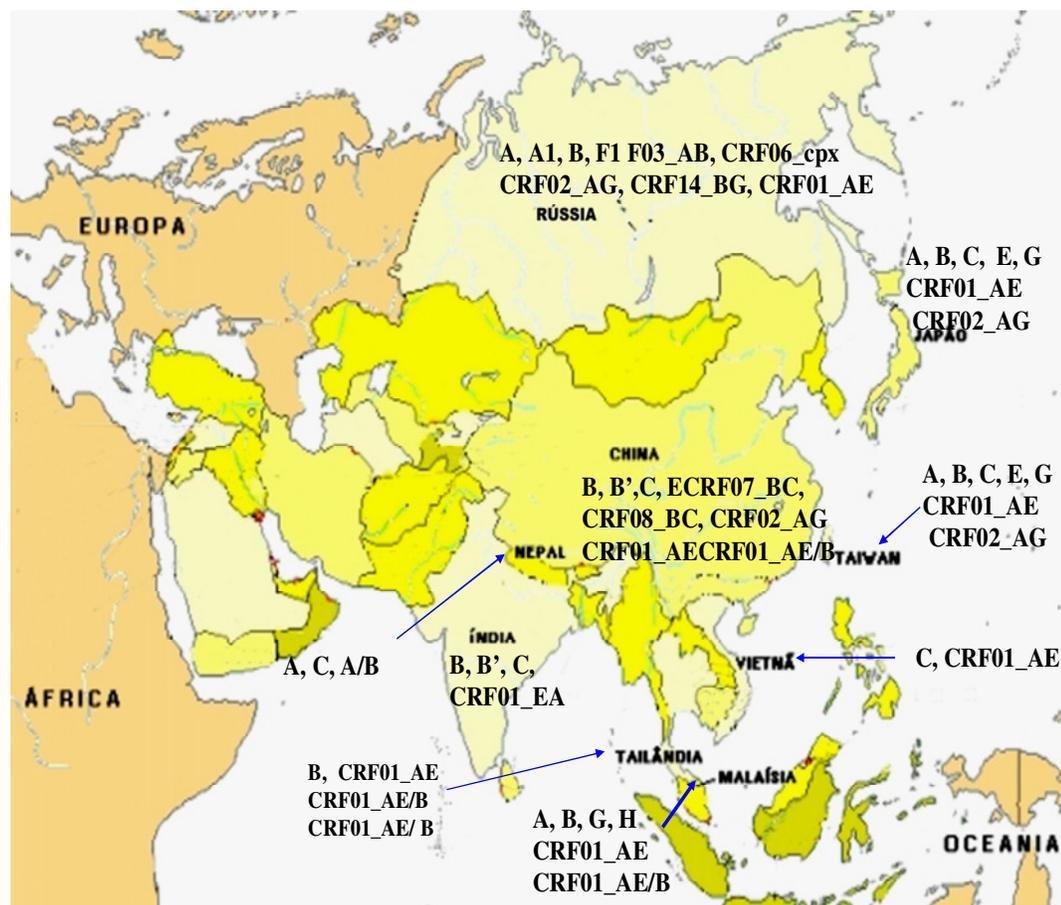


Figura 6 – Distribuição geográfica dos subtipos e das formas recombinantes circulantes do HIV-1 na Ásia (Adaptado de [www.vermundo.com](http://www.vermundo.com)).

Os primeiros casos de infecção pelo HIV-1 na China foram detectados entre UDI na província de Yunnan em 1989 (Zheng *et al.*, 1994). Nessa região e Shandong os subtipos B, B', C e as formas recombinantes CRF07\_BC, CRF08\_BC, CRF02\_AG, CRF01\_AE, são predominantemente distribuídos entre UDI. Em contraste,

o subtipo B' era a forma predominante entre heterossexuais antes de 1997, enquanto que os recombinantes ocorriam em baixas frequências nessa categoria (Yu *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2005b).

Na Malásia há várias cepas em circulação, mas no grupo de UDI foi descrita uma nova recombinação intrasubtipo denominada CRF01\_AE/B com prevalência de 65% em ambos os genes TR e PR analisados (Tee *et al.*, 2005). Alguns países da Ásia apresentam algumas cepas relacionadas a determinadas categorias de exposição. No Vietnã, as formas recombinantes CRF01\_AE, CRF10\_CD são isoladas de forma predominante entre UDI (Ha *et al.*, 2004), o subtipo B e os tipos recombinantes CRF01\_AE e CRF01\_AE/B são também mais frequentes nesse mesmo grupo, na Tailândia (Tovanabutra *et al.*, 2004).

Na Índia, o principal subtipo circulante é o C, principalmente entre UDI e MPS, embora outros subtipos como o A e o B, e as formas recombinantes CRF01\_AE e B/C possam ser encontradas (Deshpande *et al.*, 2004; Tripathy *et al.*, 2005). No Uzbequistão, os subtipos citados e a forma recombinante CRF03\_AB são as formas mais frequentes desse agente viral (Rhodes *et al.*, 2002; Kurbanov *et al.*, 2003).

#### 1.1.5.3. Distribuição geográfica do HIV-1 na Europa

Segundo a UNAIDS, no ano de 2005, apenas no oeste europeu mais de 720 mil pessoas eram portadoras do HIV (UNAIDS, 2005). Ademais, estudos moleculares realizados nesse continente demonstram grande variedade de subtipos do HIV-1 circulando, embora o predomínio de subtipos como o B seja sugerido (Osmanov *et al.*, 2002; Wainberg, 2004; Figura 7).

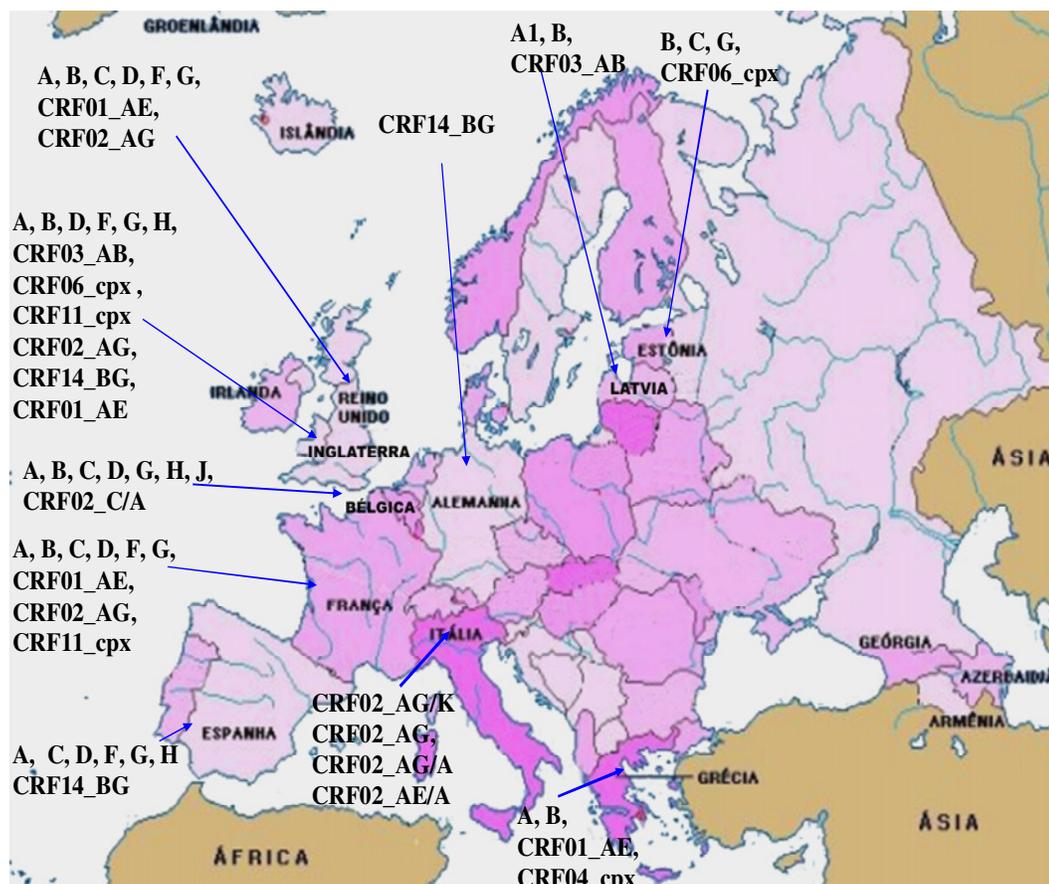


Figura 7 – Distribuição geográfica dos subtipos e das formas recombinantes circulantes do HIV-1 na Europa (Adaptado de [www.journey-zone.com](http://www.journey-zone.com)).

Levantamento epidemiológico, realizado na Grécia com pacientes portadores do HIV-1, revelou maior prevalência do subtipo B e uma menor frequência do subtipo A, além das formas recombinantes, entre as quais se destacam CRF04\_cpx e CRF01\_AE (Adwan *et al.*, 2000; Papa *et al.*, 2002). Dados semelhantes já foram relatados na França e na Bélgica, embora subtipos não-B, como A, C, D, E, F, G, H, J e mais os recombinantes CRF01\_21B, CRF02\_AG, CRF02\_C/A, possam ser isolados em diferentes frequências (Vachot *et al.*, 2004; Chaix *et al.*, 2003; Snoeck *et al.*, 2002; Vallet *et al.*, 2002).

Tatt *et al.* (2004) analisaram amostras oriundas de pacientes atendidos em clínicas especializadas da Inglaterra e País de Gales e encontraram como subtipos mais frequentes o C (32,0%), o B (29,0%) e o A (12,0%), sendo o restante distribuído entre os subtipos D, F, G e H. Além desses subtipos B e não-B, oito formas recombinantes foram descritas (CRF02\_AG, CRF01\_AE, CRF14\_BG, CRF03\_AB, CRF03\_DF, CRF06\_cpx e CRF11\_cpx).

No Reino Unido, país caracterizado por contar com grande quantidade de imigrantes, já foram isolados vários subtipos (A, B, C, D e F2) e formas recombinantes (CRF02\_AG, CRF01\_AE e CRF01\_AG) (Aggarwal *et al.*, 2006). Resultados semelhantes foram encontrados na Alemanha entre UDI, porém a forma recombinante isolada em maior proporção é a CRF14\_BG (Deroo *et al.*, 2002; Harris *et al.*, 2005).

Na Estônia, a epidemia do HIV-1 está ligada à expansão do subtipo A e do recombinante CRF06\_cpx entre UDI (Zetterberg *et al.*, 2004). Nesse mesmo grupo de estudo, em Latvia 93,0% era infectado com o subsubtipo A1 e o restante com a forma CRF03\_AB (Balode *et al.*, 2004). Diferente desse resultado, a forma recombinante CRF14\_BG é encontrada predominantemente nessa mesma população na Espanha (Delgado *et al.*, 2002, Holguín *et al.*, 2002).

Na Eslovênia, um estudo voltado para a população em geral identificou apenas as cepas A1, B, F1, CRF02\_AG, CRF01\_AE (Babic *et al.*, 2006; Maria *et al.*, 2006). Enquanto isso, na Itália, embora o subtipo B do HIV-1 seja o mais predominante, vem-se registrando um aumento no número de formas recombinantes. Essa constatação foi feita a partir de uma avaliação realizada com pacientes em tratamento, entre os quais foram identificadas as formas recombinantes CRF02\_AG/K, CRF02\_AG, CRF02\_AG/A, CRF02\_AE, D/B, J/K (Tramuto *et al.*, 2004).

#### 1.1.5.4. Distribuição geográfica do HIV-1 nas Américas

Em 2005, a UNAIDS estimou que, aproximadamente, 1,2 milhão de pessoas na América do Norte e 1,8 milhão na América Latina eram portadoras do HIV-1. Estudos de epidemiologia molecular realizados no continente americano indicam a predominância do subtipo B, embora outros subtipos e formas recombinantes, com frequências variadas, possam ser encontrados (Aulicino *et al.*, 2005; Rios *et al.*, 2005; Pinto & Struchiner, 2006; Tovanabutra *et al.*, 2005; Filho *et al.*, 2006; Figura 8).

Nos EUA, Delwart *et al.* (2003) analisaram seqüências nucleotídicas dos genes *gag* e *env*, e identificaram entre doadores de sangue que 94,4% eram infectados com o subtipo B. No Estado da Califórnia, um estudo realizado com pacientes infectados pelo HIV-1 e em tratamento, 99,4% eram portadores do subtipo B e apenas 0,6% com subtipos não-B (A, C, D, F, F1, F2, G, H, J e K) (Gonzales *et al.*, 2001).

A diversidade de subtipos do HIV-1 foi considerada elevada em um estudo voltado para militares americanos, pois, de forma predominante, foram descritas as formas recombinantes CRF01\_AE, CRF02\_AG e CRF09\_cpx (Tovanabutra *et al.*, 2005). Resultados semelhantes foram encontrados em Nova Iorque. Quanto às formas recombinantes e em relação aos subtipos foram encontrados o B (22%), o C (15%) e o F (4%) (Achkar *et al.*, 2004). Diferente desses resultados, em áreas rurais da Geórgia identificaram-se apenas o subtipo A e a forma recombinante CRF01\_AE (Womack *et al.*, 2001). Esse mesmo padrão de distribuição dos subtipos, e com predomínio das mesmas cepas, pode ser percebido em países como Canadá, México e Honduras (Rivera-Morales *et al.*, 2001; Spittal *et al.*, 2002; Shepherd *et al.*, 2005; Akouamba *et al.*, 2005; Figura 8).

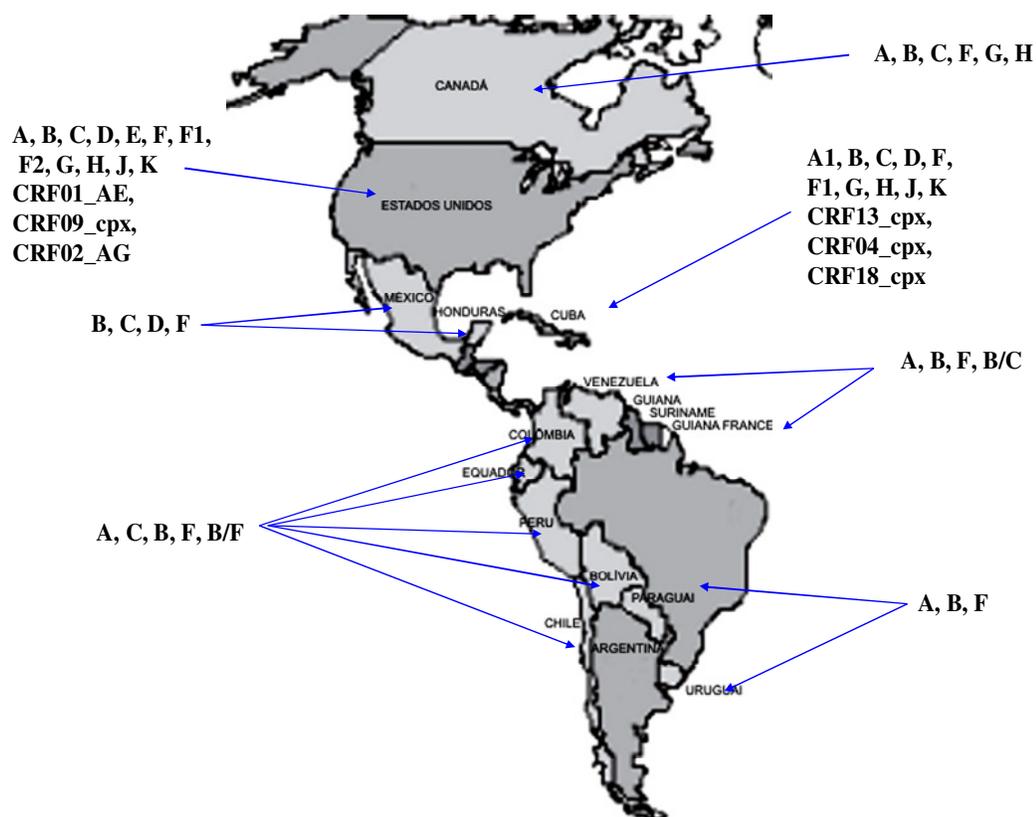


Figura 8 – Distribuição geográfica dos subtipos e das formas recombinantes circulantes do HIV-1 na América Latina (Adaptado de Wainberg, 2004).

Cueva *et al.* (2002) investigaram a diversidade de formas genéticas do HIV-1 em Cuba e encontraram uma distribuição de 48% de subtipos B e 52% não-B (B, C, D, F1, G, H e J). Com esse mesmo objetivo, foi realizado um estudo no Peru, Equador, Uruguai e Paraguai, onde o subtipo B foi encontrado em 98,3% das amostras. Dentre as amostras obtidas do Uruguai, 56% foram do subtipo F e o restante do subtipo B. O subtipo F foi detectado pela primeira vez no Peru e no Paraguai, assim como o subtipo A no Peru (Russel *et al.*, 2000).

A caracterização de diferentes subtipos do HIV-1 na Guiana Francesa demonstrou que 95% das amostras eram do subtipo B, 4,5% era do subtipo A e somente

um paciente foi infectado pelo subtipo F (Kazanji *et al.*, 2001). Na Bolívia os subtipos B e F são prevalentes, semelhantemente ao descrito para outros países da América Latina como Brasil e Argentina (Velarde-Dunois *et al.*, 2000; Aulicino *et al.*, 2005).

Na Venezuela, inicialmente, a prevalência era atribuída ao subtipo B e à forma recombinante B/F (Delgado *et al.*, 2001; Castro *et al.*, 2003), porém, recentemente, foi demonstrada a presença do subtipo C e da forma recombinante B/C (Castro *et al.*, 2005). No Chile, um estudo realizado por Rios *et al.* (2005) encontrou resultados semelhantes.

#### 1.1.5.5. Distribuição geográfica do HIV-1 no Brasil

No Brasil, assim como nos demais países das Américas, há uma tendência em apresentar uma baixa diversidade de subtipos do HIV-1. No Estado do Rio Grande do Sul, estudos de epidemiologia molecular revelaram os subtipos B(75%), C (22%), F (2,5%), D (0,5%) e as formas recombinantes F1/B, D/B, B/C, *Cenv/Bgag*, *Benv/Cgag*, *Fenv/Bgag*, que podem ser também encontradas com taxas de prevalência menores (Martinez *et al.*, 2002; Soares *et al.*, 2003).

Em 2005, Locateli *et al.* analisaram os genes *gag* e *env* de cepas oriundas do Estado de Santa Catarina e encontraram a seguinte proporção: 33% (C), 31% (B), 2% (F) e o restante distribuído entre formas recombinantes (*Cenv/Bgag*, *Benv/Cgag*, *Benv/Fgag* e *Fenv/Bgag*). Na cidade de São Paulo, quanto aos subtipos, foi observada uma distribuição equivalente àquela encontrada no Rio Grande do Sul e Santa Catarina, embora a variedade das formas recombinantes seja maior (CRF12\_BF, CRF28\_BF, CRF29\_BF, CRF05\_DF) (Brígido *et al.*, 2005; Carreto *et al.*, 2005; Filho *et al.*, 2006; Figura 9).

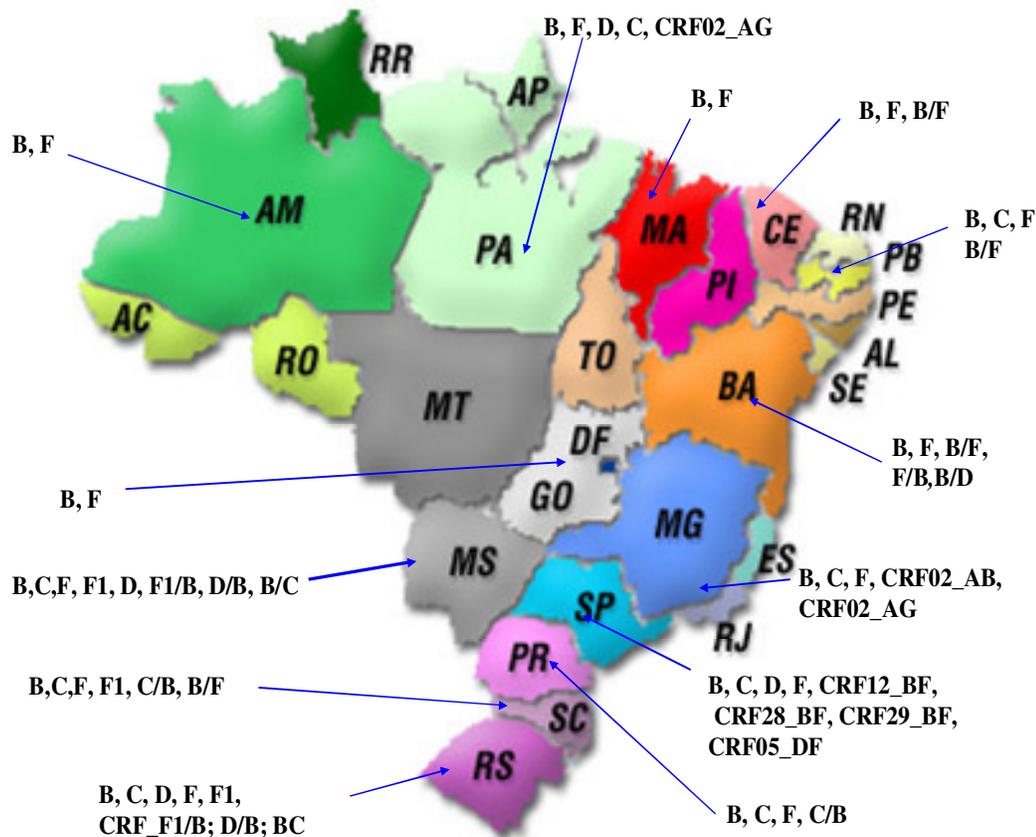


Figura 9 – Distribuição geográfica dos subtipos e das formas recombinantes circulantes do HIV-1 no Brasil ([www.vermundo.com](http://www.vermundo.com)).

No Estado do Rio de Janeiro, além dos subtipos B e F, o subtipo D e a forma recombinante CRF02\_AG foram detectados com prevalência de apenas 0,2% (Couto-Fernandez *et al.*, 2005; Fernandez *et al.*, 2005; Teixeira *et al.*, 2004). Na região Centro-Oeste, Brasília, a análise das seqüências obtidas do gene *pol* revelou alta prevalência do subtipo B (96%) e 4% do subtipo F (Cerqueira *et al.*, 2004).

O Nordeste do Brasil é uma região vulnerável. As condições econômicas aliadas ao turismo sexual e à prostituição têm aumentado a incidência de AIDS e a introdução de novos subtipos. Mello *et al.* (2005) realizaram um estudo no Estado da

Bahia analisando os genes *env* e *gag*, e como resultado encontraram B (81,0%), F (0,5%) e três formas recombinantes (*Benv/Fgag*, *Fenv/Bgag*, *Benv/Dgag*). Resultado equivalente foi encontrado, quanto aos subtipos, nos Estados do Pará, Amapá, Ceará, Pernambuco e Maranhão (Gadelha *et al.*, 2003; Reis *et al.*, 2005; Medeiros *et al.*, 2006).

Na cidade de Belém, a análise de 62 amostras de pacientes infectados com o HIV-1, identificadas pela técnica do heteroduplex, mostrou uma prevalência de 95% do subtipo B e 5% do subtipo F (Santos, 1998). Os subtipos F e B também foram isolados no Estado do Amazonas (Vicente *et al.*, 2000).

#### 1.1.5.6. Soroprevalência e subtipos do HIV-1 entre MPS

O número de pessoas vivendo com o HIV/AIDS, no ano de 2006, supera 39,5 milhões no mundo (UNAIDS, 2006). Dentro desse contingente, vem-se observando um aumento no número de mulheres infectadas, acentuadamente entre aquelas que exercem a atividade comercial do sexo (UNAIDS, 2005).

A prevalência do HIV-1 entre MPS na África variou de 62,2% a 80,7% em Benin (Alary *et al.*, 2002), de 29,0% na Costa do Marfim (Ghys *et al.*, 2002), de 46,4% na África do Sul (Dunkle *et al.*, 2005) e, na Etiópia, de 45%, com predominância dos subtipos B, C e D (Hussein *et al.*, 2000).

No continente Asiático, as taxas de soroprevalência do HIV entre MPS são consideradas baixas quando comparadas com aquelas encontradas na África. Na China, a prevalência do HIV-1 entre MPS é de aproximadamente 0,4% (Ding *et al.*, 2005), no Vietnã 17% (Tran *et al.*, 2005), no Nepal variando entre 4% a 17% (Singh *et al.*, 2005), enquanto na Índia a prevalência variou entre 16% a 54%, com predominância do subtipo C (Brahame *et al.*, 2006; Sengupta *et al.*, 2005a). Na Tailândia, a prevalência

do HIV-1 entre as MPS foi de 47%, com predomínio dos subtipos E e B (Limpakarnjanarat *et al.*, 1999).

Na Europa, entre MPS, a soroprevalência do HIV-1 na Itália é de 16% (Tirelli & Spina, 1998). Na Espanha, em MPS imigrantes, essas taxas chegam a 20% e os subtipos mais predominantes são A, B, G e o mosaico G/A (Gutérrez *et al.*, 2004). Inciardi *et al.* (2005) realizaram um estudo nos EUA com MPS e encontraram soroprevalência para o HIV-1 de 22,4%.

Hierholzer *et al.* (2002) obtiveram seqüências nucleotídicas de cepas do HIV-1 isoladas de MPS e identificaram os subtipos B, F e a forma recombinante CRF12\_BF, proveniente do Equador, do Peru, da Bolívia, do Uruguai, e da Argentina. Vinales *et al.* (2005) trabalhando com a mesma população no Uruguai, também encontrou como formas predominantes o subtipo B e a forma recombinante BF.

No Brasil, a infecção pelo HIV-1 entre MPS já foi descrita em vários centros urbanos. Um estudo realizado no Paraná reportou prevalência de 4,5% (Andrade Neto, 1993; Borba & Clapis, 2006), no Espírito Santo de 8,6% (Pires & Miranda, 1998) e em São Paulo de 11,1% (Araújo & Fortuna, 1998). Estudos qualitativos realizados com MPS em Feira de Santana, na Bahia (Morais & Ferreira, 2006), em Teresina (Araújo *et al.*, 2006), em Fortaleza (Pinheiro *et al.*, 2006) e no Estado do Rio Grande do Sul (Silva, 2006), mostraram que a prática do sexo comercial aumenta a vulnerabilidade dessas mulheres não só quanto à AIDS, mas também em relação a outras doenças sexualmente transmissíveis.

Um estudo realizado com homossexuais masculinos e femininos, bissexuais, UDI e MPS, a partir de amostras coletadas no Rio de Janeiro, São Paulo e

Minas Gerais, mostrou a soroprevalência para o HIV-1 de 54% para MPS (Cortes *et al.*, 1989).

## 1.2. VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANA (HTLV)

### 1.2.1. **Biologia do HTLV**

O HTLV apresenta tamanho que varia de 80 a 110 nm de diâmetro, cujo genoma é constituído de duas cópias iguais de RNA de fita simples com polaridade positiva, associadas às proteínas do nucleocapsídeo, TR, IN e PR. Toda essa estrutura está coberta pelas proteínas do CA (p24) e da MA (p19) (Blut *et al.*, 1999). O envelope é de natureza lipoprotéica, formado a partir da membrana plasmática da célula infectada, onde estão inseridas as glicoproteínas virais (gp46 e gp21) resultantes de um precursor comum (Gessain, 2004; Figura 10).

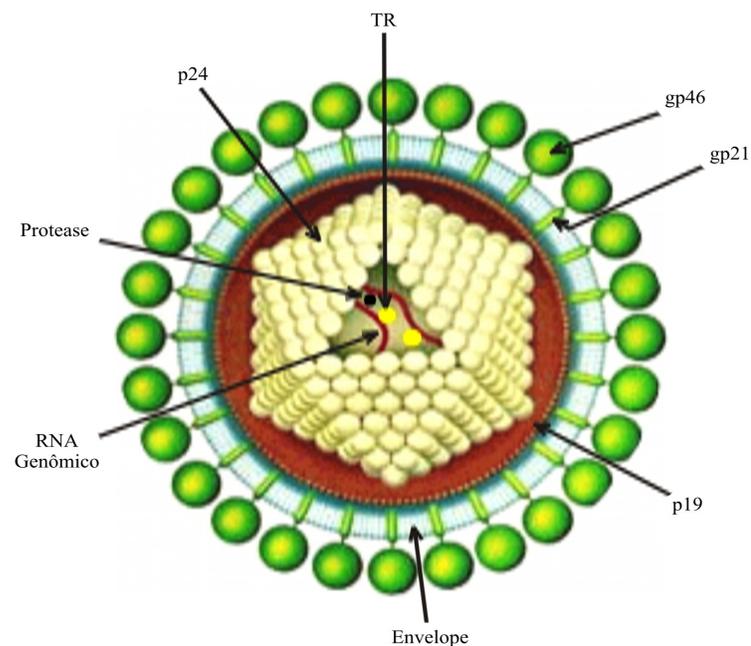


Figura 10 – Representação esquemática do HTLV (Adaptado de [www.kmu.ac.jp](http://www.kmu.ac.jp))

O genoma viral é constituído por três genes estruturais comuns aos retrovírus: *gag*, *pol* e *env*, flanqueados por duas regiões *LTR* nas extremidades 5' e 3' do provírus. As regiões *LTR* são formadas por três domínios iguais (U3-R-U5) com a função de iniciador e finalizador da transcrição, respectivamente. Além dos genes estruturais, o genoma viral apresenta uma região chamada *pX*, que codifica as proteínas Tax e Rex. Sobreposto aos genes *gag* e *pol*, encontra-se um segmento do genoma viral (região *pro*) com a função de codificar a enzima protease (Hjelle *et al.*, 1991; White & Fenner, 1994; Coffin *et al.*, 1996; Tangy *et al.*, 1996; Figura 11).

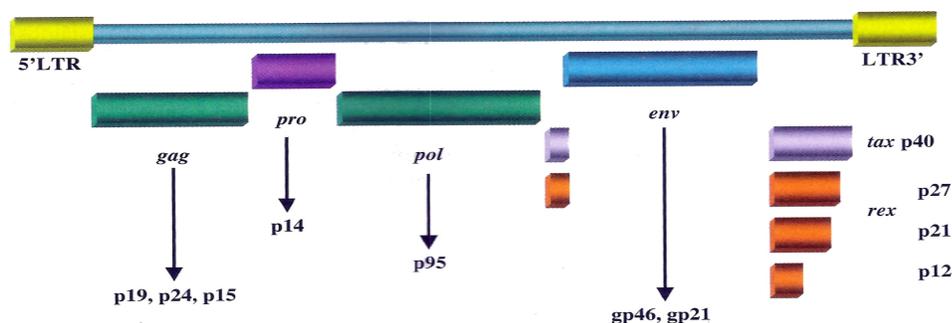


Figura 11 – Estrutura do genoma do HTLV (Adaptado de Wigg, 2002).

O gene *gag* codifica um precursor de 48 kDa que, após sofrer clivagem, fornece as proteínas estruturais do CA (p24), da MA (p19) e do NU (p15) (Ciminale *et al.*, 1992). O gene *env* codifica uma proteína precursora que depois de sofrer ação da protease e de ser glicosilada, produz a glicoproteína transmembrana (gp21) e a glicoproteína (gp46) da superfície do envelope viral (Hall *et al.*, 1994). O gene *pol* é responsável pela codificação da TR e da IN, as quais estão envolvidas na síntese do genoma viral e na integração desse genoma ao DNA da célula hospedeira (Ciminale *et al.*, 1992).

### 1.2.2. Replicação do HTLV

O ciclo de replicação do HTLV na célula hospedeira inicia-se com a adsorção viral na superfície da célula-alvo (Jawetz *et al.*, 1991). Essa interação ocorre entre as glicoproteínas do envelope viral (gp46 e gp21) e receptores presentes na superfície celular, que para o HTLV-1 já foi apontado como um transportador 1 de glicose (GLUT-1), presentes em células como linfócitos T, linfócitos B, monócitos e fibroblasto (Koyanagi *et al.*, 1993; Yasunaga *et al.*, 2001; Manel *et al.*, 2003). Em seguida, o vírus penetra na célula hospedeira através da fusão do envelope viral com a membrana celular (Poiesz *et al.*, 2003; Figura 12), podendo essa entrada também ocorrer por endocitose (Voyles, 1993).

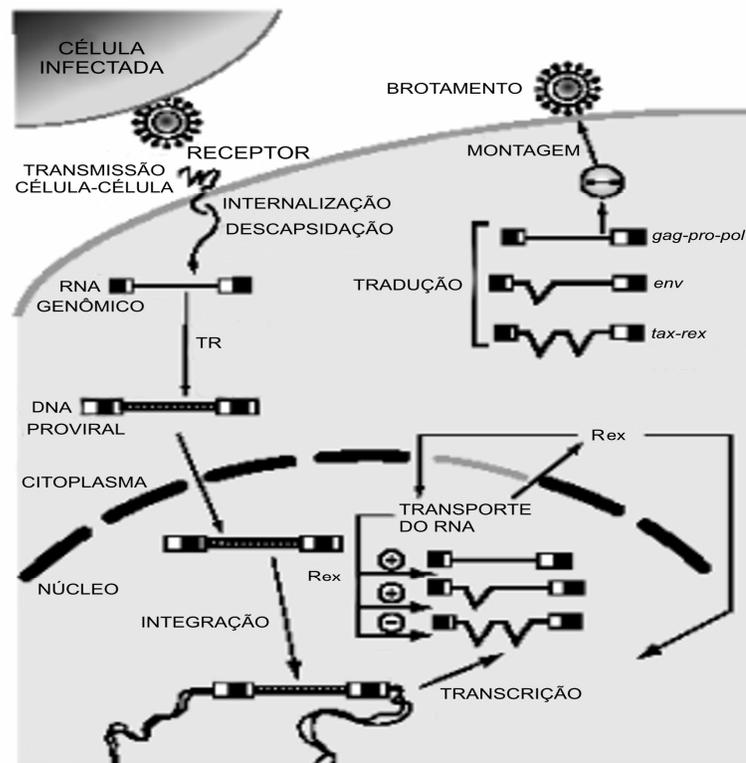


Figura 12 – Representação esquemática do ciclo de replicação do HTLV (Adaptado de Gessain, 2004).

No citoplasma da célula hospedeira, o genoma de RNA é copiado em um duplo filamento de DNA pela TR (Voyles, 1993). O DNA de fita dupla recém formado é transportado para o núcleo, onde ocorrerá a integração deste ao genoma celular (provírus) por ação da enzima integrase (Tangy, 1996).

Na fase de transcrição do DNA proviral, são originados três tipos diferentes de mRNA: a) um mRNA subgenômico que sofreu um processamento do tipo *splicing*, utilizado como fonte de tradução das proteínas do envelope, b) um mRNA com duplo processamento (*splicing*), fonte de tradução das proteínas reguladoras Tax e Rex, e c) um mRNA subgenômico longo, sem processamento (*unsplicing*) que servirá como fonte de tradução dos genes *gag*, *pro* e *pol*, e também como RNA genômico (Germann *et al.*, 1984; Shimotohno *et al.*, 1985; Ciminale *et al.*, 1992; Ferreira Jr. *et al.*, 1997).

A proteína Tax atua regulando a transcrição do próprio provírus e de genes celulares que codificam IL-2, IL-2R, IL-6, TNF- $\alpha$ , além de proto-oncogenes (Lal & Rudolph, 1991), assim como interferindo na transcrição do gene supressor de tumor p53 (Good *et al.*, 1996; Ariumi *et al.*, 2000). A proteína Rex tem função pós-transcricional, regulando positivamente a expressão e a estabilidade do mRNA genômico (*gag-pro-pol*), o processamento (*splicing*) dos demais mRNA e ainda sendo responsável pelo transporte do RNA viral do núcleo para o citoplasma (Franchini, 2000; Banghan, 2003).

Após a síntese das proteínas e do RNA viral, dá-se início à etapa final, que envolve a montagem e o brotamento das novas partículas virais, o que ocorre simultaneamente. Durante a montagem, as partículas virais são visualizadas como contornos crescentes da face externa da membrana celular, que se estende até formar uma esfera envolvida pela matriz lipídica da membrana, contendo as glicoproteínas

virais. É nesse processo, que a partícula viral imatura adquire o envelope (White & Fenner, 1994; Tangy, 1996; Poiesz *et al.*, 2003).

### 1.2.3. Heterogeneidade genética do HTLV

O HTLV-1 e o HTLV-2 apresentam genoma marcadamente estável (Liu *et al.*, 1994), e essa característica se deve à estratégia de replicação adotada por esses vírus, que ocorre mais em função da expansão clonal das células infectadas do que usando a transcrição reversa (Wattel *et al.*, 1995). Dentro da região genômica LTR a variabilidade genética acumulada entre os diferentes subtipos é menor do que 10% (Gessain *et al.*, 1992).

As análises filogenéticas, baseadas na região genômica LTR, classificam o HTLV-1 em quatro subtipos: HTLV-1a (Subtipo Cosmopolita) (Miura *et al.*, 1994), HTLV-1b (Subtipo África Central) (Hanh *et al.*, 1984; Vandamme *et al.*, 1994), HTLV-1c (Subtipo Australo-Melanésio) (Bastian *et al.*, 1993) e o HTLV-1d (Novo Subtipo África Central) (Chen *et al.*, 1995; Mahieux *et al.*, 1997). Em 1998, Salemi *et al.*, baseando-se na seqüência LTR e *env* do HTLV-1, descreveram mais dois novos subtipos: o HTLV-1e, de um pigmeu vivendo no Congo e o HTLV-1f, de um indivíduo do Gabão. Em estudos realizados em 2005, Wolfe *et al.* (2005), isolaram o HTLV-1g de moradores de áreas florestais em Camarões.

O HTLV-1a apresenta ampla distribuição geográfica, pois a caracterização genética mais detalhada, com base em seqüências nucleotídicas obtidas da região genômica LTR de cepas obtidas de vários lugares do mundo, revelou que o grupo Cosmopolita consiste de quatro subgrupos: Transcontinental (A), Japonês (B), Oeste africano (C) e Norte da África (D) (Gasmi *et al.*, 1994).

A caracterização molecular do HTLV-2 indica que existem quatro subtipos: HTLV-2a, HTLV-2b (Hall *et al.*, 1992), HTLV-2c (Ishak *et al.*, 1995; Eiraku *et al.*, 1996) e HTLV-2d (Vandamme *et al.*, 1998). Além desses subtipos foram isolados em Camarões na África o HTLV-3 (Calattini *et al.*, 2005) e o HTLV-4 (Wolfe *et al.*, 2005).

#### **1.2.4. Epidemiologia do HTLV**

Estima-se que, aproximadamente, 22 milhões de pessoas no mundo estejam infectadas pelo HTLV (Phillips, 2005). Esse agente é endêmico na África subsaariana, no sudeste do Japão, no Caribe, em países da América do Sul, na Austrália e na Melanésia (Cessar *et al.*, 2005; Diop *et al.*, 2006).

Na América Latina, o HTLV-1 é encontrado de forma endêmica, principalmente, em populações descendentes de africanos e entre populações de origem japonesa. A soroprevalência desse vírus varia de 1 a 10% em adultos de alguns grupos da Argentina, do Brasil, da Colômbia, do Peru e vários países caribenhos, incluindo Guadalupe, Jamaica e Trinidad (Gessain, 1996).

O HTLV-2 é endêmico entre UDI na Europa, na América do Norte e em várias populações indígenas, incluindo tribos Nuu-Chah-Nulth no Canadá, os Navajo e Pueblo do Novo México e os Seminole na Flórida (Hjelle *et al.*, 1990; 1993; Levine *et al.*, 1993; Peters *et al.*, 2000).

Na América do Sul, o HTLV-2 já foi isolado em várias populações na Colômbia (Wayu), na Argentina (Toba e Mataco) (Hjelle *et al.*, 1993) e na Amazônia brasileira (Ishak *et al.*, 1995). O HTLV-3 e HTLV-4 foram isolados recentemente em Camarões, na África (Calattini *et al.*, 2005; Wolfe *et al.*, 2005).

### 1.2.5. Modos de transmissão do HTLV

As formas de transmissão do HTLV-1 e HTLV-2 são semelhante às dos outros retrovírus e envolvem contato direto com sangue contaminado, relações sexuais não protegidas e verticalmente de mãe para o filho (Tajima *et al.*, 1982; Nakano *et al.*, 1984; Van Dyke *et al.*, 1995; Fujino & Nagata, 2000; Catalan-Soares *et al.*, 2005b).

A transmissão materno-infantil através do aleitamento materno se dá em função da presença de linfócitos T infectados nas amostras de leite das mães soropositivas (Nakano *et al.*, 1984; Ando *et al.*, 2003). No entanto, esta infecção também tem sido relatada em crianças não amamentadas com leite materno, indicando a possibilidade de transmissão por via intrauterina ou perinatal (Hino *et al.*, 1985; Kakuda *et al.*, 2002; Ando *et al.*, 2003). Nesse caso, a interrupção na amamentação pode ser uma medida eficaz na transmissão desses vírus (LeVasseur *et al.*, 1998; Fujino *et al.*, 2000; Ando *et al.*, 2003).

Outra forma de transmissão importante é a horizontal, através de relações sexuais sem o uso de preservativos. Nesse caso, muitos estudos apontam para uma maior eficiência da transmissão do homem para mulher, uma vez que se tem isolado o vírus a partir de linfócitos infectados presentes no sêmen (Dourado *et al.*, 1999; Abbaszadegan *et al.*, 2003; Kazanji & Gessain, 2003; Van Veldheusen *et al.*, 2003).

A via de transmissão parenteral do HTLV-2 ocorre largamente entre UDI em áreas urbanas de países das Américas (Estados Unidos, Argentina, Brasil), Europa (Espanha, Itália, Portugal, Suécia) e Ásia (Vietnã), em função do uso compartilhado de agulhas ou seringas contaminadas (Vandamme *et al.*, 2000; Guimarães *et al.*, 2001; De la Fuente *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2005).

A transmissão do HTLV-1, principalmente, por transfusão sanguínea é uma forma relevante de contágio, porém vem sendo minimizada com os programas de triagem em bancos de sangue que foram introduzidos em vários países do mundo, inclusive no Brasil – em novembro de 1993, pelo Ministério da Saúde. Trabalhos desenvolvidos com doadores de sangue das capitais brasileiras mostraram que as taxas de soropositividade referentes aos testes imunoenzimáticos são menores naqueles do Sul do país, tendendo a aumentar em direção ao Norte e Nordeste (Souza *et al.*, 2003; Catalan-Soares *et al.*, 2005a). Essa tendência pode ser observada em países como Líbano, com prevalência de 0,3% (Tamim *et al.*, 2004) e de 0,06% na Arábia Saudita (Fawaz *et al.*, 2005).

A transmissão do HTLV pode também acontecer por meio do transplante de órgãos, como já foi relatado no Japão (Nakamura *et al.*, 2005) e na Europa (Imirizaldu *et al.*, 2003). Quanto ao HTLV-3 e HTLV-4, ainda não se sabe se seus modos de transmissão seguem esses mesmos padrões, por isso sendo necessários mais estudos para comprovação (Calattini *et al.*, 2005; Wolfe *et al.*, 2005).

## **1.2.6. Distribuição geográfica do HTLV**

### **1.2.6.1. Distribuição geográfica do HTLV na África**

No continente africano, determinados países podem ser considerados como endêmicos, pois um inquérito epidemiológico realizado em Camarões com pessoas que moram em áreas rurais e têm contato direto com primatas não-humanos (caçadores, açougueiros e pessoas que têm esses primatas como animais de estimação), identificou os subtipos de HTLV Cosmopolita (A), África Central, Novo Subtipo África

Central, HTLV-2a e HTLV-2b. Além desses subtipos foi isolado um novo subtipo, que denominaram de HTLV-1g (Calattini *et al.*, 2005; Wolfe *et al*, 2005; Figura 13).

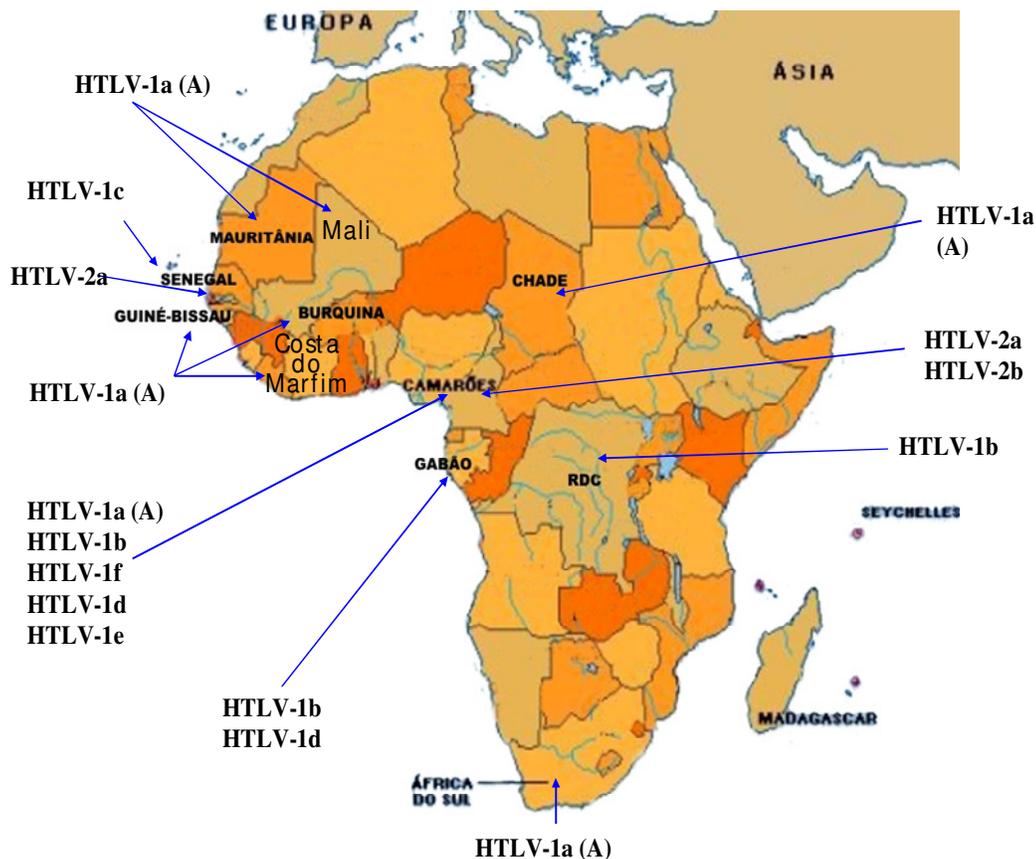


Figura 13 – Distribuição geográfica dos tipos e subtipos do HTLV na África (Adaptado de Peeters *et al.*, 2003).

Um estudo realizado por Diop *et al.* (2006), em Senegal, com doadores de sangue, mostrou baixa taxa de prevalência em relação ao HTLV-1 de 0,14% (subtipo Cosmopolita) e ao HTLV-2 de 0,02% (subtipo HTLV-2a). Nesse mesmo país, Mahé *et al.* (2004) reportaram a presença do HTLV-1 Cosmopolita do subgrupo Transcontinental e África Central entre crianças com dermatite infecciosa.

A análise molecular de amostras oriundas de 13 países localizados nas regiões oeste, sul e central da África possibilitou a descrição do subtipo Cosmopolita (Transcontinental), África Central HTLV-1d (Mahieux *et al.*, 1997). No entanto, estudo realizado apenas no Gabão e na República Democrática do Congo encontrou como cepa predominante o HTLV-1b (África Central) (Salemi *et al.*, 1998) e, em Camarões, o HTLV-2b (Gessain *et al.*, 1995).

Alcântara *et al.* (2006) encontraram uma prevalência de 1,7% do HTLV-1 Cosmopolita (Transcontinental) na África do Sul (Kwa-Zulu-Natal) e Capdeponet *et al.* (2005) seqüenciaram o gene *env* de cepas virais oriundas do Gabão, Guiana Francesa, Oeste da Índia e Irã, cujos resultados revelaram a predominância do subtipo Cosmopolita em relação ao subtipo África Central.

#### 1.2.6.2. Distribuição geográfica do HTLV na Ásia

No Japão, o HTLV-1 encontra-se amplamente distribuído, principalmente, entre três populações etnicamente diferentes: Ainu, Ryukyans e Wajin, sendo o subtipo predominante em Ainu e Ryukyans o Cosmopolita do subgrupo Transcontinental, enquanto o subtipo Cosmopolita do subgrupo Japonês predomina em Wajin (Yamashita *et al.*, 2001). Além de no Japão, em Bellona, localizada nas Ilhas Salomão, e na região oriental da Ásia, o HTLV-1 Cosmopolita, Transcontinental, é a cepa predominante (Ohkura *et al.*, 1999; Figura 14).

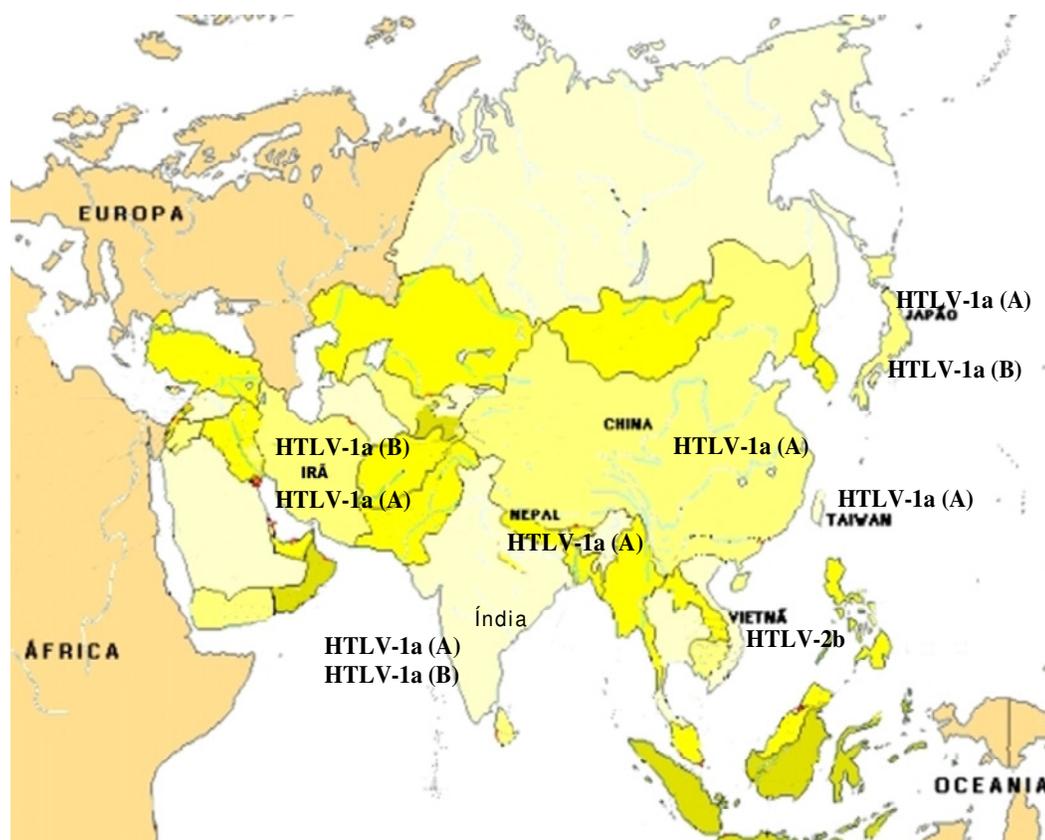


Figura 14 – Distribuição geográfica dos tipos e subtipos do HTLV na Ásia (Adaptado de [www.vermundo.com](http://www.vermundo.com))

Estudos de epidemiologia molecular realizados nas Ilhas Kinmen, província da China, e Taiwan, mostraram soroprevalência de 1,63% e 0,73%, para o HTLV-1, respectivamente. A caracterização molecular dos subtipos revelou o Cosmopolita do subgrupo Transcontinental como o predominante, e o Cosmopolita do subgrupo Japonês como o menos freqüente (Chen *et al.*, 1999). O Cosmopolita do subgrupo Transcontinental é também encontrado de forma predominante em três distritos localizados ao sul da Índia (Kerala, Andhra Pradesh e Tamil Nadu) (Ohkura *et al.*, 2005). Diferente destes resultados, no Vietnã entre UDI, a predominância foi do HTLV-2, subtipo HTLV-2b (Fukushima *et al.*, 1998).

O Irã é identificado como um local endêmico para o HTLV-1, pois a prevalência desse vírus entre doadores de sangue chega a 0,77% na cidade de Mashhad, sendo os subtipos HTLV-1a do subgrupo Transcontinental e HTLV-1b (África Central) os tipos moleculares já identificados nessa região (Abbaszadegan *et al.*, 2003; Capdeponat *et al.*, 2005).

#### 1.2.6.3. Distribuição geográfica do HTLV na Europa

Na Europa, o HTLV-1 é pouco freqüente na população em geral, entretanto o HTLV-2 encontra-se, principalmente, entre UDI. Estudos realizados nos países do continente europeu apontam para uma predominância do HTLV-2a ao norte e do HTLV-2b ao sul (Taylor, 1999; De la Fuente *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2005; Toro *et al.*, 2005).

Na Espanha, uma investigação epidemiológica com UDI e com portadores de outras infecções, como as causadas pelos vírus da hepatite B, vírus da hepatite C e o HIV-1, em vários centros urbanos, não detectou a presença do HTLV-1, mas a soroprevalência do HTLV-2b, foi de 2,7% (De la Fuente *et al.*, 2005; Toro *et al.*, 2005), enquanto, entre mulheres grávidas, a freqüência encontrada foi de 0,054% para o HTLV-2 e de 0,01% para o HTLV-1 (Machuca *et al.*, 2000). Contrariando esses resultados em pacientes nativos e transplantados desse mesmo país, foi isolado o HTLV-1 cosmopolita do subgrupo Transcontinental (Imirizaldu *et al.*, 2003; Vallejo *et al.*, 2003).

No Reino Unido, Ades *et al.* (2000) realizaram um estudo epidemiológico com mulheres grávidas, e a soroprevalência encontrada foi de 0,046% (HTLV-1) e de 0,001% (HTLV-2). Essa tendência de baixos valores de prevalência foi

detectada também em Londres entre mulheres atendidas em clínicas especializadas com 0,37% (HTLV-1) e de 0,01% (HTLV-2) (Donati *et al.*, 2000).

Em 2003, Zervou *et al.* não encontraram nenhum caso de infecção pelo HTLV entre doadores de sangue da Grécia. Entretanto, em países como Portugal e Irlanda a prevalência varia de 0,61% a 14,6%, indicando a caracterização molecular dessas cepas o predomínio do subtipo HTLV-2b (Portugal) e do subtipo HTLV-2a (Irlanda) entre UDI (Egan *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 2005; Figura 15).

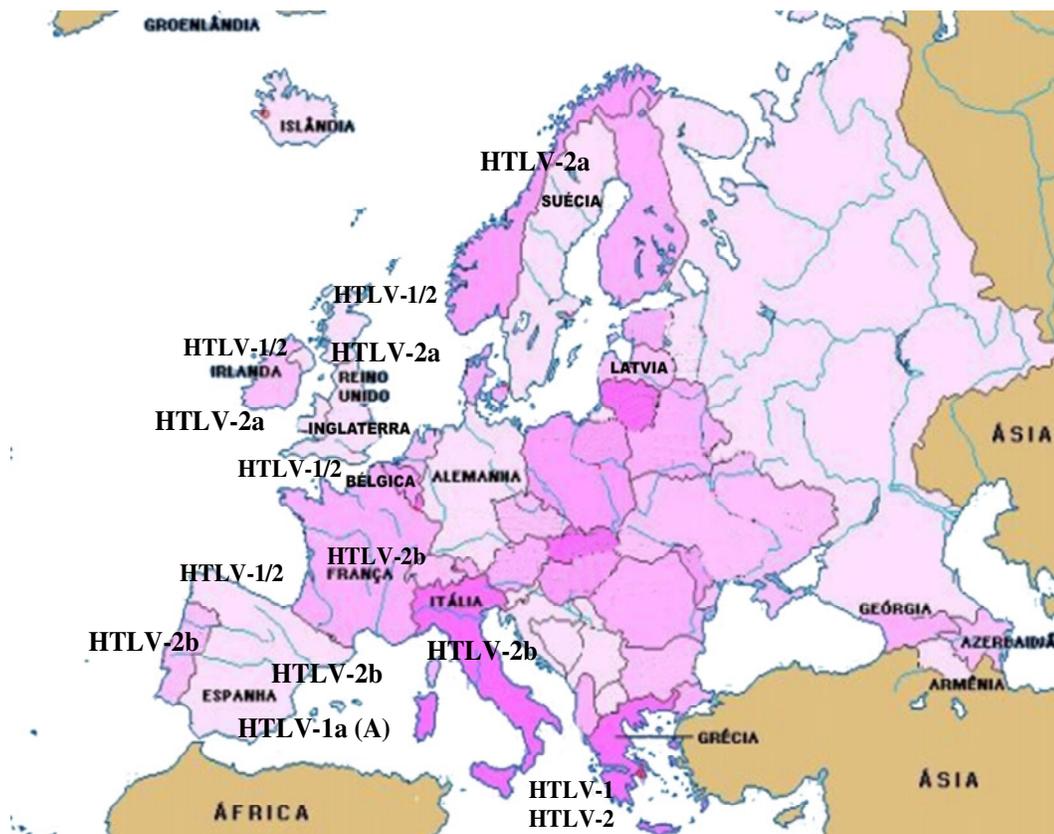


Figura 15 – Distribuição geográfica dos tipos e subtipos do HTLV na Europa (Adaptado de [www.journey-zone.com](http://www.journey-zone.com)).

#### 1.2.6.4. Distribuição geográfica do HTLV nas Américas

O HTLV apresenta ampla distribuição nos países americanos. Em 1999, Fujiyoshi *et al.* conduziram um estudo soropidemiológico com populações nativas da Colômbia, do Peru, da Bolívia, da Argentina e do Chile, e encontraram soroprevalências que variaram de 0,8% a 6,3% em relação ao HTLV-1 e de 9,1% a 57,9% quanto ao HTLV-2. Esse agente pode também ser encontrado circulando na América do Norte, pois Murphy *et al.* (1999) realizaram um amplo estudo nos EUA entre doadores de sangue e descreveram soroprevalência de 0,09% para o HTLV-1 e de 0,22% para o (HTLV-2). Resultado semelhante foi encontrado nesta mesma população, no Canadá, onde a prevalência descrita foi de 1,77% (Chivetta *et al.*, 2003).

A soroprevalência para o HTLV-1 e HTLV-2 foi de 2,8 e 1,6% respectivamente, entre ameríndios canadenses da tribo Nuu-Chah-Nulth, na qual a caracterização molecular mostrou o HTLV-2a como sendo o subtipo predominante (Peters *et al.*, 2000). Além desse subtipo, o HTLV-2b foi isolado no México entre os povos Pueblo e Navajo (Switzer *et al.*, 1995). Achados semelhantes foram registrados nos EUA entre UDI (Vandamme *et al.*, 2000; Figura 16).

A presença do HTLV-1 na Argentina foi inicialmente detectada em 1989 entre UDI em Buenos Aires (Libonatti *et al.*, 1989). Uma pesquisa posterior realizada em doadores de sangue mostrou uma prevalência média de 0,05%, variando entre 0,03% a 0,16% dependendo da localidade pesquisada (Biglione *et al.*, 2005). A caracterização genética de cepas que circulam nesse país as identificou como sendo os subtipos Cosmopolita (subgrupos Transcontinental e Japonês) e Melanésio (Otsuki *et al.*, 2005). Diferente desses resultados, entre as comunidades indígenas de Mataco e

Toba, bem como entre UDI, os subtipos circulantes são o HTLV-2b e o HTLV-2a, respectivamente (Biglione *et al.*, 1999; Figura 16).

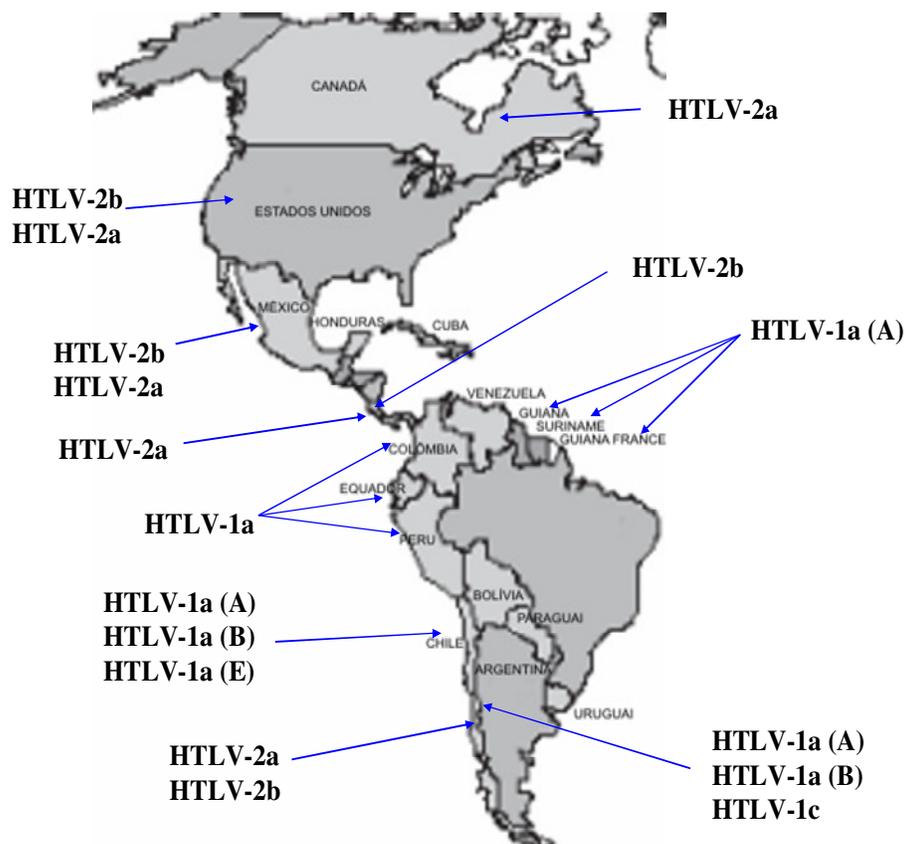


Figura 16 – Distribuição geográfica dos tipos e subtipos do HTLV nas Américas (Adaptado de Wainberg, 2004).

No Chile, o subtipo Cosmopolita do subgrupo Transcontinental foi isolado de pacientes com PET/MAH (Ramarez *et al.*, 2002), enquanto na Guiana Francesa essa mesma cepa foi encontrada na população em geral (Kazanjin & Gessain, 2003). No Suriname, o subtipo Cosmopolita do subgrupo Transcontinental era a cepa encontrada entre doadores de sangue com prevalência de 1,3% (Pouliquen *et al.*, 2004).

A predominância do subtipo citado anteriormente foi também descrita na Colômbia e no Peru (Van Dooren *et al.*, 1998; Dominguez *et al.*, 2002). Na Jamaica, a prevalência de 5% e de 7%, foi encontrada entre doadores de sangue e ex-usuários de drogas respectivamente, em um estudo realizado por Dowe *et al.* (2000).

#### 1.2.6.5. Distribuição geográfica do HTLV no Brasil

No Brasil, a infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2 já foi descrita em todas as regiões, embora exista uma grande variabilidade na prevalência e na distribuição dos subtipos quando se trata cada região de forma individualizada (Catalan-Soares *et al.*, 2005a; Figura 17).

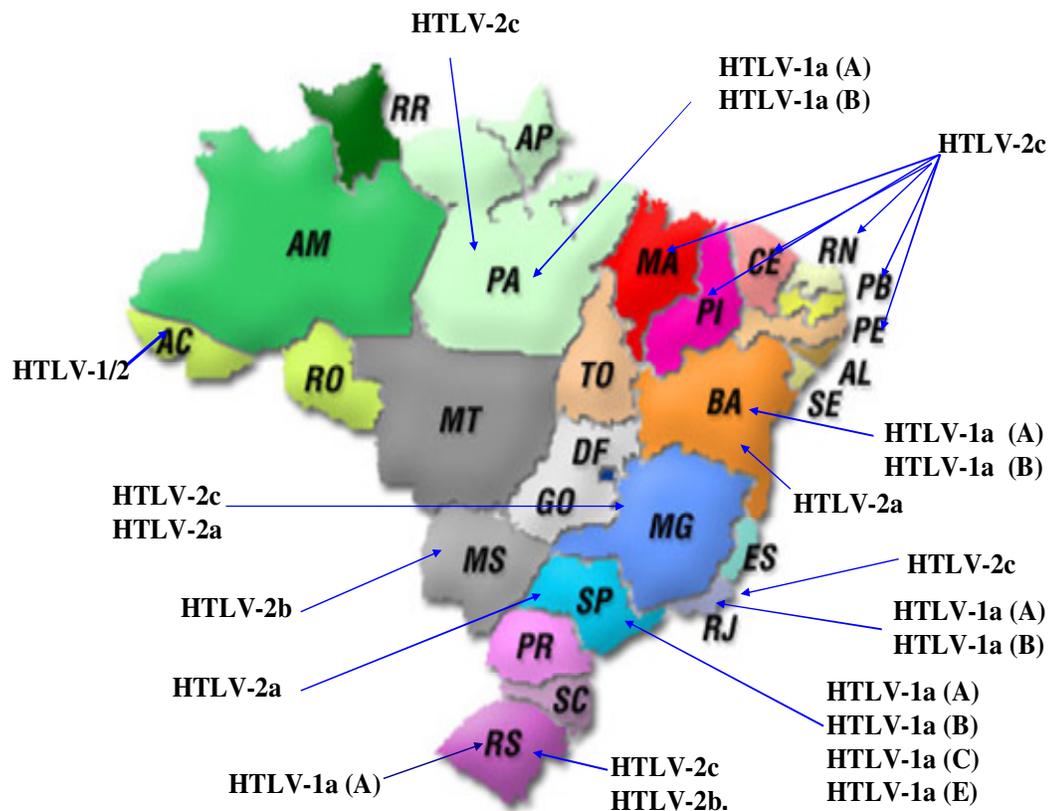


Figura 17 – Distribuição geográfica dos tipos e subtipos do HTLV no Brasil (Adaptado de [www.citybrazil.com/br/mapas](http://www.citybrazil.com/br/mapas)).

Na região Sul, a prevalência de 1,4% do HTLV-1 e de 0,5% do HTLV-2 foi reportada no ano de 2006 no Estado do Rio Grande do Sul (Barcelos *et al.*, 2006), tendo a análise de seqüências nucleotídicas da região genômica 5' *LTR* e do gene *env* desses agentes, isolados da cidade de Porto Alegre, identificado como predominantes os subtipos HTLV-2c e HTLV-2b (Renner *et al.*, 2005). Esses subtipos já foram reportados em outros Estados brasileiros, bem como HTLV-2b no Mato Grosso do Sul e o HTLV-2c na cidade de Belo Horizonte (Catalan-Soares *et al.*, 2005b; Vicente *et al.*, 2006).

No Estado São Paulo, um estudo realizado usando a técnica de RFLP, com cepas de HTLV-1 isoladas de pacientes assintomáticos e com PET/MAH, encontrou prevalências de 73,8%, 7,1%, 7,1% e 12%, para os subtipos A, B, C e E, respectivamente. Nos pacientes sintomáticos que desenvolveram PET/MAH, as prevalências foram de 89,3%, 7,1% e 3,6% para os subtipos A, B e E, respectivamente (Segurado *et al.*, 2002). Nesse mesmo Estado, foi descrito o subtipo cosmopolita do subgrupo Transcontinental e o subtipo HTLV-2a, isolados de pacientes co-infectados com esses agentes (Catarino-de-Araújo *et al.*, 2000).

Na cidade de Salvador, um inquérito epidemiológico realizado com a população em geral, mulheres grávidas, UDI e pacientes atendidos em clínicas especializadas, revelou uma taxa de prevalência de 1,74%, pertencendo as cepas identificadas ao subtipo Cosmopolita, do subgrupo Transcontinental e do subtipo Cosmopolita do subgrupo Japonês (Dourado *et al.*, 2003; Alcântara *et al.*, 2003a). Além do HTLV-1, no Estado da Bahia, o HTLV-2a foi isolado a partir de amostras obtidas entre UDI e de um imigrante chileno residente no Estado (Alcântara *et al.*, 2003b).

Um estudo de epidemiologia molecular realizado nas cidades de Salvador, São Paulo, Rio de Janeiro e Porto Alegre, mostrou o subtipo Cosmopolita do

subgrupo Transcontinental e do subgrupo Japonês, como as cepas mais frequentes. Além disso, em relação ao HTLV-2, amostras provenientes de nove Estados localizados no Nordeste e Sudeste indicaram o subtipo HTLV-2c presente nessas localidades (Vicente *et al.*, 2005).

A soroprevalência da infecção pelo HTLV-1/2 em alguns Estados brasileiros pode ser considerada baixa, pois foi o que mostraram dados obtidos na população de doadores de sangue no Ceará, que variaram de 0,45% a 0,74% no período de 1997 a 2001 (Santos *et al.*, 2003; Souza *et al.*, 2003), enquanto que na Bahia a taxa foi de 0,48% (Mota *et al.*, 2006) e no Acre, de 0,11% (Colin *et al.*, 2003).

O Estado do Pará pode ser uma região considerada como endêmica para o HTLV, pois esse agente já foi detectado em várias comunidades indígenas (Ishak *et al.*, 1995; Vallinoto *et al.*, 2004) e na área metropolitana de Belém (Vallinoto *et al.*, 1998). O subtipo HTLV-2c, que inicialmente foi detectado apenas em comunidades indígenas na região amazônica (Ishak *et al.*, 1995; Eiraku *et al.*, 1996), atualmente é encontrado em outras regiões do Brasil (Shindo *et al.*, 2002; Catalan-Soares *et al.*, 2005b; Vicente *et al.*, 2005).

A infecção pelo HTLV-1 também é freqüente no referido Estado, principalmente do subtipo HTLV-1a (Cosmopolita do subgrupo Transcontinental). Isso ficou evidente em estudos moleculares realizados com mulheres grávidas, cuja prevalência foi de 1,4% (Costa *et al.*, 2005), com imigrantes japoneses no município de Tomé-Açu (1,8%) (Vallinoto *et al.*, 2004) e com pacientes co-infectados com o HIV-1 (3,5%) (Laurentino *et al.*, 2005).

#### 1.2.6.6. Soroprevalência e Subtipos do HTLV em MPS

A infecção pelo HTLV-1 já foi reportada entre MPS em áreas urbanas, com prevalências que variam dependendo do local estudado e do tamanho da amostra analisada. Em MPS de Camarões, foi identificada, após análise da região *LTR*, a presença do subtipo HTLV-2a (Mauclère *et al.*, 1995). No Zaire, a prevalência do HTLV-1 em MPS pode ser considerada elevada, pois é de aproximadamente 12,7% (Delaporte *et al.*, 1995). Por outro lado, na Nigéria a prevalência foi apenas de 2,8% (Dada *et al.*, 1995).

Na Espanha, a soroprevalência da infecção pelo HTLV-1 entre MPS é de 0,3% e de 0,2% para HTLV-2 e, principalmente em relação ao segundo caso, encontra-se relacionado ao uso de drogas endovenosas (Belza *et al.*, 2004). Na Argentina, a prevalência para o HTLV-1/2 foi de 1,6%, mais elevada do que aquela detectada na Espanha (Pando *et al.*, 2006).

Na Argentina, testes sorológicos realizados com MPS de Buenos Aires revelaram prevalência do HTLV-1 de 0,8%. No entanto, na Guiana Francesa foi descrita a presença do HTLV-2a em MPS imigrante de origem indígena que residia em Belém, Pará, Brasil (Kajanji *et al.*, 2001).

Segundo dados do Ministério da Saúde, a prevalência do HTLV era de 9% entre MPS do Rio de Janeiro e Minas Gerais, e de 2,8% entre MPS da cidade de Santos no ano de 2004 (Ministério da Saúde, 2004).

Um estudo populacional incluindo homens que fazem sexo com homens, mulheres bissexuais, MPS e hemofílicos de várias cidades brasileiras (Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Gerais) mostrou a soroprevalência para o HTLV-1 de 1% entre as

MPS (Cortes *et al.*, 1989) e em Santos, São Paulo, a prevalência de 2,8% (Ballei *et al.*, 1996).

### 1.3. OBJETIVOS

#### 1.3.1 Objetivo Geral

Descrever a soroprevalência da infecção e a caracterização molecular do HIV e do HTLV em MPS no Estado do Pará, Brasil.

#### 1.3.2. Objetivos específicos

- Descrever a prevalência do HIV-1 e do HTLV em MPS de quatro municípios (Bragança, Augusto Correa, Belém e Barcarena) do Estado do Pará;
- Determinar os tipos e os subtipos do HIV-1 circulantes nestas populações;
- Determinar os tipos e os subtipos do HTLV circulantes nestas populações;
- Verificar as relações filogenéticas desses vírus isolados com aqueles descritos na literatura e disponíveis no *Genbank*;
- Correlacionar as informações epidemiológicas fornecidas pelas participantes com a infecção pelos agentes investigados.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. ÁREA DE ESTUDO

A área de estudo compreendeu as cidades de Bragança, Augusto Correa, Barcarena e Belém (figura 18). As localidades de Bragança ( $00^{\circ} 47' 06''$  S,  $46^{\circ} 43' 41''$  O) e Augusto Correa ( $01^{\circ} 01' 45''$  S e  $46^{\circ} 38' 57''$  O) estão situadas na região nordeste do Estado do Pará e recebem muitos turistas e pescadores, principalmente dos Estados do Maranhão e Ceará.

A cidade de Belém ( $01^{\circ} 28' 03''$  S,  $48^{\circ} 29' 18''$  O), capital do Estado do Pará, é uma área de centro urbano que interfere na dinâmica de cidades como Barcarena ( $01^{\circ} 30' 24''$  S,  $48^{\circ} 37' 12''$  O), pois o fluxo diário de pessoas é muito elevado.

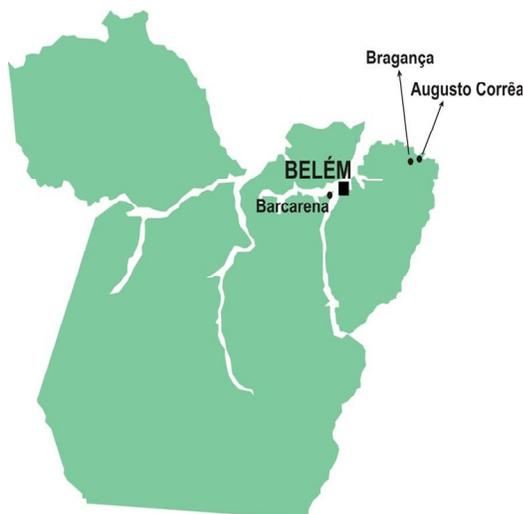


Figura 18 – Localização geográfica dos municípios onde as coletas das amostras foram efetuadas (Fonte primária).

## 2.2. POPULAÇÃO EXAMINADA

As amostras de sangue de 339 MPS (31 de Augusto Correa, 98 de Bragança, 105 de Belém e 105 de Barcarena) que se encontravam trabalhando em casas noturnas ou que admitiam exercer a atividade, foram coletadas de abril de 2005 a agosto de 2006. Primeiro era feita uma palestra sobre o projeto e as DST, destacando a prevenção e o controle. Após a explicação dos objetivos do trabalho, aquelas mulheres que concordaram em participar do mesmo assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (anexo 1) e responderam a um questionário epidemiológico (anexo 2). Posteriormente foram colhidas amostras de sangue total para os exames necessários.

### 2.2.1. Aspectos éticos

O presente trabalho foi submetido pela comissão de ética em pesquisa da Fundação de Hemoterapia e Hematologia do Pará (HEMOPA) e por ela aprovado, tendo seguido as diretrizes e as normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos (Resolução 196 do Conselho Nacional de Saúde).

### 2.2.2. Critérios de Inclusão e Exclusão

Foram incluídas no presente trabalho mulheres que se encontravam trabalhando em casas noturnas ou que declarassem exercer a atividade. Não foi feita qualquer restrição quanto à etnia, idade, condição social ou cor. Foram excluídas aquelas que não faziam programas sexuais ou que não aceitaram assinar o termo de consentimento.

### 2.3. COLETA DAS AMOSTRAS

As amostras de sangue foram coletadas em um sistema a vácuo, em um tubo com capacidade de 5 ml, contendo EDTA como anticoagulante. Essas amostras foram transportadas ao Laboratório de Virologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, onde o plasma foi separado por centrifugação a 8.000 rotações por minuto (rpm) e, juntamente com a fração celular, congelado a -20°C até o momento de uso.

### 2.4. SOROLOGIA

Os plasmas foram testados para a presença de anticorpos anti-HTLV-1/2 e anti-HIV-1/2, usando-se um ensaio imunoenzimático, ELISA (*HTLV-1/2 Ab-Capture ELISA Test System, Ortho Diagnostic Systems Inc., USA* e *HIV-1/2 Ab-Capture ELISA Test System, Ortho Diagnostic Systems Inc., USA*). As amostras reativas para o HTLV foram submetidas à confirmação por meio da Reação em Cadeia mediada pela Polimerase (PCR) e aquelas para o HIV foram confirmadas pelo Laboratório Central de Saúde Pública do Pará (LACEN-PA), pela técnica de imunofluorescência indireta (IFI).

### 2.5. EXTRAÇÃO DO DNA

O método de extração de DNA, a partir da porção celular de sangue das mulheres soropositivas para o HTLV e o HIV, seguiu as instruções do fabricante (*Puregene, Gentra Systems, Inc., USA*), obtendo-se ao final o DNA total das amostras. O procedimento ocorreu seguindo-se as etapas de lise celular, de precipitação de proteínas, de precipitação e de hidratação do DNA.

### **2.5.1 Lise Celular**

O protocolo de lise celular seguiu as etapas abaixo:

1. Adicionar 300  $\mu\text{L}$  de sangue total a um tubo eppendorf de 1,5 ml contendo 900  $\mu\text{L}$  de solução de lise RBC. Inverter para misturar e incubar 10 minutos à temperatura ambiente (25°C);
2. Centrifugar, por 20 segundos, entre 13.000 e 16.000 rpm. Remover o sobrenadante com uma micropipeta, deixando, ao fundo do tubo, o sedimento de leucócitos com um resíduo de 10-20  $\mu\text{L}$  do líquido;
3. Agitar vigorosamente, em agitador mecânico (vórtex), para ressuspender o sedimento de células e para facilitar a lise celular na etapa seguinte;
4. Adicionar 300  $\mu\text{L}$  de solução de lise celular e homogeneizar por pipetagem. É necessária a incubação a 37° C, caso seja possível visualizar aglomerados no sedimento.

### **2.5.2 Precipitação de Proteínas**

O protocolo de precipitação de proteínas seguiu as etapas abaixo:

1. Permitir à amostra atingir a temperatura ambiente (25°C);
2. Adicionar 100  $\mu\text{L}$  de solução de precipitação protéica ao lisado celular;
3. Agitar vigorosamente, em agitador mecânico, em alta velocidade, por 20 segundos, objetivando uma total homogeneização;
4. Centrifugar entre 13.000 e 16.000 rpm, por 3 minutos. As proteínas precipitadas formarão um sedimento marrom escuro no fundo do tubo.

### **2.5.3. Precipitação do DNA**

O protocolo de precipitação do DNA seguiu as etapas abaixo:

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

### **2.5.4. Hidratação do DNA**

O protocolo de hidratação do DNA seguiu as etapas abaixo:

1. Adicionar 100  $\mu$ L de solução de hidratação de DNA (concentração final de 100  $\mu$ g/ml);
2. Deixar o DNA reidratar durante a noite (entre 12 e 16 horas), à temperatura ambiente (25°C);
3. Estocar entre 2 e 8° C. Posteriormente, alíquotas de DNA foram usadas diretamente na reação de amplificação descrita a seguir.

## 2.6. REAÇÃO EM CADEIA MEDIADA PELA POLIMERASE (PCR) PARA O HTLV

A PCR foi efetuada em duas etapas (*nested* PCR), para a amplificação de regiões genômicas *pX* (159 pb) e *5'LTR* (800 pb) do DNA proviral do HTLV, a partir de leucócitos de indivíduos soropositivos. A amplificação do segmento gênico foi realizada no equipamento termo-ciclador da *Perkin-Elmer Cetus Corp., USA*. Após a PCR, os produtos amplificados das regiões *pX* (159 pb), foram digeridos por endonucleases de restrição (*TaqI*) e os segmentos *5'LTR* do HTLV-1 (788 pb) foram seqüenciados e submetidos à análise das seqüências de bases nucleotídicas obtidas.

### 2.6.1. Amplificação da região *pX*

A amplificação de uma região *pX* de 159 pb foi realizada com o objetivo de investigar a presença de um sítio de restrição (T/CGA) para a enzima *TaqI* (Invitrogen, USA), o qual encontra-se presente apenas no HTLV-2, servindo como critério discriminatório da infecção pelo HTLV-1 e pelo HTLV-2.

As reações de amplificação foram realizadas em um volume de 50µL contendo 500ng de DNA extraído, 200µM de cada dNTP (deoxinucleotídeos), 20 pmol de cada iniciador, tampão PCR 1X (KCl 50mM, Tris-HCl pH 8,3 10 mM), MgCl<sub>2</sub> 2,0 mM, e 0,5 U de *Taq* DNA polimerase (Invitrogen USA). 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, 30 segundos a 51,6°C e 1 minuto a 72°C. Os 35 ciclos foram seguidos por uma extensão final de 10 minutos a 72°C. No passo seguinte da amplificação foram utilizados 5 µL do produto da amplificação anterior, considerando as mesmas condições de reação (Tabela 1).

Tabela 1 – Iniciadores utilizados na PCR para amplificação da região genômica *pX*.

Região	Iniciadores	Nucleotídeos	Programa	
<i>pX</i> (159 pb) (Guroff <i>et al.</i> , 1982)	TR101	7219-7238	94°C 5`	
	TR102	7483-7464	35x { 94°C 40`` 51°C 30`` 72°C 1`	
	TR103L	7248-7268		72°C 10`
	TR104	7406-7386		

A análise de RFLP (Polimorfismo com Enzimas de Restrição) do produto do gene *pX* (159 pb) foi realizada misturando-se 6,0 µL do produto amplificado, 7 µL de H<sub>2</sub>O, 1,5 µL de tampão E (*Promega, Madison WI, USA*) e 0,5 µL da enzima de restrição *TaqI* (10 U/µL, *Promega, Madison WI, USA*), com posterior incubação a 65°C por 5 horas. A presença do sítio de restrição (T/CGA) gera dois fragmentos (85 pb e 53 pb). Esse sítio encontra-se presente no HTLV-2, porém é ausente no HTLV-1.

### 2.6.2. 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 na construção de árvores filogenéticas.

Para a amplificação da região 5'LTR, as reações foram executadas em um volume final de 50 µL, contendo 500 ng de DNA extraído, 125 µM de cada dNTP, 20 pmol/µL de cada iniciador, tampão PCR 1X (KCl 50mM, Tris-HCl pH 8,3 10 mM), MgCl<sub>2</sub> 2,0 mM, e 0,5 U de *Taq* DNA polimerase (*Invitrogen USA*). No segundo passo da amplificação (*Nested PCR*) foram utilizados 5,0 µL do produto da primeira amplificação utilizando as mesmas condições de reação (Tabela 2).

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

Tabela 2 – Iniciadores utilizados na PCR para amplificação da região 5' *LTR* do HTLV.

Região	Iniciadores	Nucleotídeos	Programa
5' <i>LTR</i> -I (800 pb) (Seiki <i>et al.</i> , 1983)	LTR-I.01	1-22	35x { 94°C 5" 94°C 40" 57°C 30" 72°C 1' 72°C 10"
	LTR-I.02	823-842	
	LTR-I.03	30-49	
	LTR-I.04	781-800	

### 2.6.3. Reação em cadeia mediada pela polimerase (PCR) para o HIV-1

#### 2.6.3.1. Amplificação do Gene *pro*

As reações de amplificação foram realizadas, primeiramente, em um volume de 50 µL, contendo 400 ng de DNA extraído, 225 µM de cada dNTP, 250 ng de cada iniciador, tampão PCR 1X (KCl 50mM, Tris-HCl pH 8,3 10 mM), MgCl<sub>2</sub> 2,0 mM, e 0,5 U de *Taq* DNA polimerase (Invitrogen USA). Na segunda etapa da amplificação (*Nested PCR*) foram utilizados 5 µL do produto da amplificação anterior, considerando as mesmas condições de reação (Janini *et al.*, 1996; Tanuri *et al.*, 1999). Essas reações se darão pela utilização de pares de iniciadores internos e externos (Tabela 3).

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

Os produtos da amplificação foram visualizados após eletroforese (100 V/45 minutos), em gel de agarose a 1,5%, em tampão TAE 1x (TAE 40x estoque – TrisBase 1,6 M, acetato de sódio 0,8 M e EDTA-Na<sub>2</sub> 40 mM/1000 ml água deionizada), contendo 5 µL de brometo de etídio (10mg/ml), mediante a utilização de transiluminador com fonte de luz ultravioleta.

Tabela 3 – Iniciadores utilizados na PCR para amplificação do gene *pro* do HIV-1

Região	Iniciadores	Nucleotídeos	Programa
<b>Gene</b> <i>pro</i>	DP16	5'- CCTCAAATCACTCTTTggCAAC -3'	35x { 94°C 5" 94°C 30" 50°C 30" 72°C 30" 72°C 10"
	DP17	5'- AAAATTTAAAgtgCAgCCAAT -3'	
	DP10	5'- CAACTCCCTCTCAgAAgCAggAgCCg -3'	
	DP11	5'- CCATTCCTggCTTTAATTTACTggTA -3'	

#### 2.6.3.2. Eletroforese

Os produtos das amplificações e das digestões enzimáticas serão visualizados após eletroforese (100 V/45 minutos) em gel de agarose a 2%, em tampão TAE 1x (TAE 40x estoque – TrisBase 1,6 M, Acetato de Na 0,8 M e EDTA-Na<sub>2</sub> 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.

#### 2.6.3.3. Purificação do produto da PCR

A reação de purificação dos produtos amplificados das regiões 5' *LTR* e do gene *pro* a partir da PCR visa à melhoria do processo de seqüenciamento de bases nucleotídicas. O processo de purificação seguiu o protocolo da *QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Inc., USA)*.

## 2.7. SEQÜENCIAMENTO DOS NUCLEOTÍDEOS

Após a purificação dos produtos das PCR (regiões 5'LTR) para o HTLV e o gene (*pro*) para o HIV, o DNA amplificado foi submetido ao seqüenciamento automático. A metodologia empregada foi baseada na síntese bioquímica da cadeia de DNA através do método de Sanger *et al.* (1977) utilizando *kit* da *ABI PRISM™ 310/377 BigDye Terminator v3.1 Matrix Standards (Applied Biosystems)*. As fitas de DNA serão seqüenciadas em ambas as direções, usando-se o equipamento de seqüenciamento automático *ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)*. A técnica foi realizada de acordo com o protocolo abaixo:

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

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

O *Terminator Ready Reaction Mix* é composto de *A-Dye Terminator*, *G-Dye Terminator*, *C-Dye Terminator*, *T-Dye Terminator*, dGTP, dATP, dCTP, dTTP, Tris-HCl pH9,0, MgCl<sub>2</sub>, Pirofosfato Termo-estável e *AmpliTaq* DNA Polimerase. Colocar os tubos contendo a mistura no termociclador (*GeneAmp PCR System 2400*) e realizar 35 ciclos de 10 segundos a 94°C, 5 segundos a 57°C e 4 minutos a 60°C. Ao final do processo, resfriar a mistura para 4°C.

### **2.7.1. Precipitação do DNA Seqüenciado**

1. Adicionar 40  $\mu$ L de isopropanol a 65% aos 10  $\mu$ L da solução anteriormente seqüenciada;
2. Homogeneizar em agitador mecânico;
3. Deixar à temperatura ambiente (25°C), não expondo à luz, por 15 minutos;
4. Centrifugar por 25 minutos a 14.000 rpm;
5. Desprezar o sobrenadante;
6. Adicionar 300  $\mu$ L de etanol a 60%;
7. Centrifugar a 14.000 rpm por 5 minutos;
8. Desprezar o sobrenadante;
9. Secar na estufa a 37°C.

### **2.7.2. Eletroforese do DNA Seqüenciado**

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

## **2.8. ANÁLISE DAS SEQÜÊNCIAS NUCLEOTÍDICAS**

### **2.8.1. Edição e Alinhamento das Seqüências**

A análise comparativa entre as seqüências nucleotídicas requer que elas estejam perfeitamente alinhadas, considerando o pareamento de bases homólogas. O alinhamento foi realizado por meio do programa Bioedit 7.0.5.3 (Hall, 1999).

### 2.8.2. Inferência estatística

Foi utilizado o método do qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para avaliar a relação dos dados epidemiológicos como a idade, a escolaridade, o uso de preservativos e a opção sexual confrontada com a infecção pelo HIV-1 e HTLV-1, sendo que a correção de Yates foi utilizada quando o referido teste apresentou valores de pouca confiança. O teste estatístico foi realizado por meio do programa BIOESTAT, versão 4.0 (Ayres *et al.*, 2005) e os resultados com  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes e para estimar a confiabilidade das inferências filogenéticas, foi feito o cálculo de bootstrap (Felsenstein, 1985).

### 2.8.3. Análise Filogenética

As seqüências nucleotídicas da região 5'*LTR* foram utilizadas para estabelecer as relações filogenéticas entre os HTLV-1 isolados neste estudo, assim como com outras seqüências previamente descritas na literatura e que estão disponíveis no *Genbank*.

#### 2.8.3.1. Método Agrupamento de Vizinhos (*Neighbor-Joining*) para a Análise Filogenética

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 desse método também será

utilizado o programa MEGA2 – *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* versão 2.1 (Kumar *et al.*, 2001). A sustentação estatística da árvore filogenética será efetuada por meio da análise de *bootstrap* que gera 2.000 réplicas do banco de dados.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. SOROLOGIA

Das 339 amostras testadas, oito (2,36%) foram reativas para o HIV e seis (1,77%) para o HTLV (Tabela 4).

A prevalência do HIV-1 foi de 6,67% na cidade de Belém e de 0,95% em Barcarena, não tendo sido encontrada soropositividade nas cidades de Bragança e Augusto Correa. Em relação ao HTLV, a prevalência encontrada foi de 3,23% na cidade de Augusto Correa, 3,81% na cidade de Belém e 0,95% na cidade de Barcarena. Nenhuma das amostras provenientes de Bragança apresentou soro-reatividade para este vírus (Tabela 4).

Tabela 4 – Soroprevalência do HIV e do HTLV nas cidades de Augusto Correa, Bragança, Belém e Barcarena.

Cidades	N	HIV	(%)	HTLV	(%)
Augusto Correa	31	0	0,00	1	3,23
Bragança	98	0	0,00	0	0,00
Belém	105	7	6,67	4	3,81
Barcarena	105	1	0,95	1	0,95
Total	339	8	2,36	6	1,77

### 3.2. INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO

A média de idade entre as MPS participantes do presente trabalho foi de 24,7 anos (variando de 15 a 54) em Bragança; 24,9 anos (variando de 16 a 56) em Augusto Correa; 31,7 anos (variando entre 15 a 71) em Belém e de 27,4 anos (variando entre 16 a 51) em Barcarena (gráfico 1).

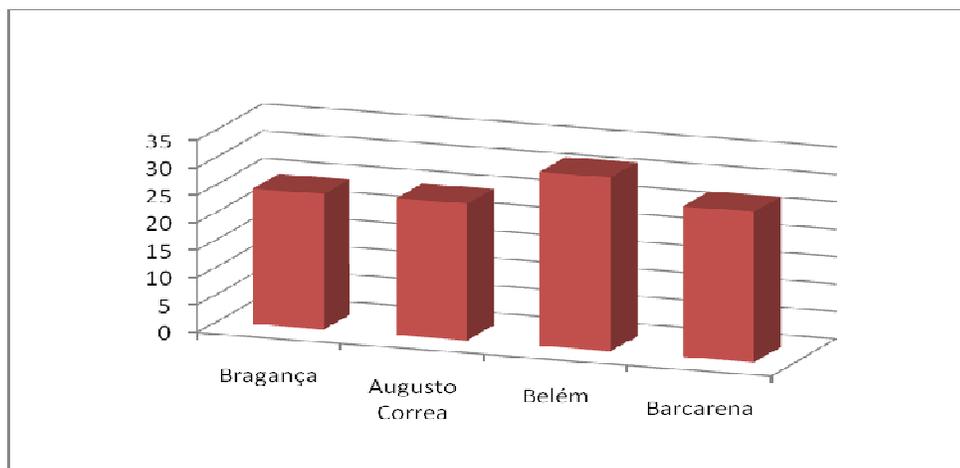


Gráfico 1 – Média de idade das MPS

Com relação ao estado civil das MPS de Bragança, 89,80% (88/98) declaram-se solteiras e as demais (10,20%; 10/98), casadas, enquanto que em Augusto Correa, 87,10% (27/31) eram solteiras e 12,90% (4/31) casadas. Em Belém, 83,81% (88/105) informaram ser solteiras e 16,19% (17/105) informaram ser casadas; já em Barcarena, 90,48% (95/105) informaram ser solteiras e 9,52% (10/105), casadas (gráfico 2).

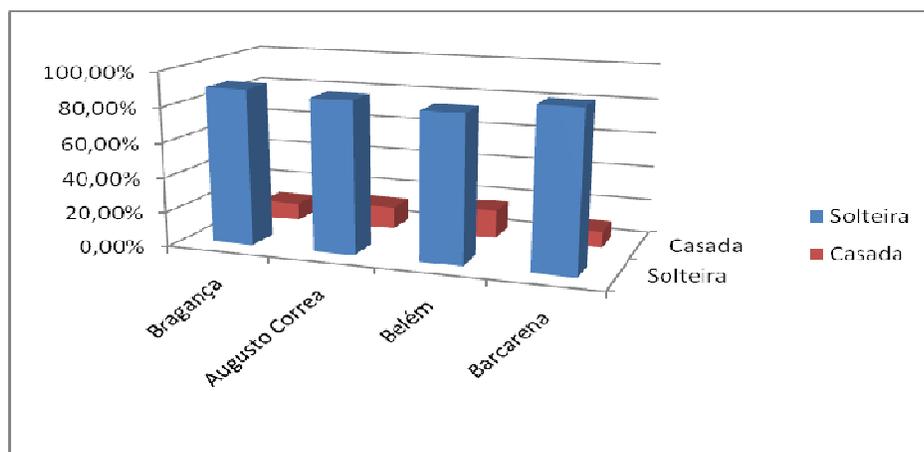


Gráfico 2 – Estado civil das MPS

Em relação ao grau de escolaridade das MPS de Bragança, 2,04% (2/98), não eram alfabetizadas, 89,80% (88/98) não haviam concluído o ensino fundamental e 8,16% (8/98) não tinham concluído o ensino médio. Em relação às de Augusto Correa, 9,68% (3/31) eram analfabetas, 83,87% (26/31) não concluíram o ensino fundamental e as demais (6,45%; 2/31) haviam concluído o ensino médio (gráfico 3).

Em Belém, 2,86% (3/105) eram analfabetas ou alfabetizadas, 82,86% (87/105) possuíam o ensino fundamental completo ou incompleto, 13,33% (14/105) não haviam concluído o ensino médio e 0,95% (1/105) tinham o terceiro grau. Em Barcarena, 0,95% (1/105) eram analfabetas, 69,52% (73/105) possuíam o ensino fundamental completo ou incompleto, 25,71% (27/105) não concluíram ou completaram o ensino médio e 3,81% (4/105) haviam concluído um curso superior (gráfico 3).

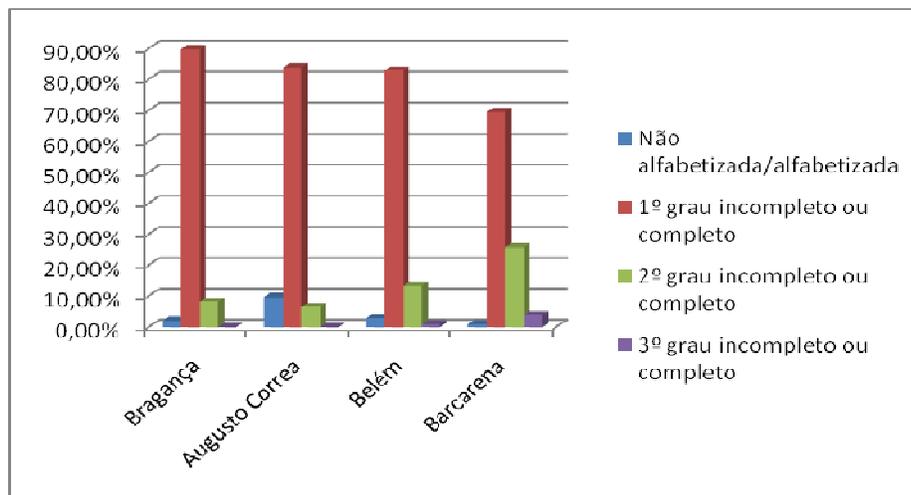


Gráfico 3 – Grau de escolaridade das MPS

Quando questionadas sobre o uso de drogas, em Barcarena 62,85% (66/105) das MPS entrevistadas consumiam bebidas alcoólicas diariamente ou faziam uso constante de bebidas alcoólicas e cigarro, 14,29% (15/105) consumiam maconha, 4,76% (5/105) eram UDI e 18,10% (19/105) informaram não consumir nenhuma dessas drogas citadas (gráfico 4).

Em Belém, 70,48% (74/105) consumiam apenas bebidas alcoólicas ou faziam uso simultâneo de bebidas alcoólicas e cigarro, 20,95% (22/105) declaram ter preferência por maconha, 2,86% (3/105) faziam uso de drogas injetáveis e 5,71% (6/105) relataram não fazer uso de drogas. Quanto às cidades de Bragança e Augusto Correa, não foi possível obter essas informações (gráfico 4).

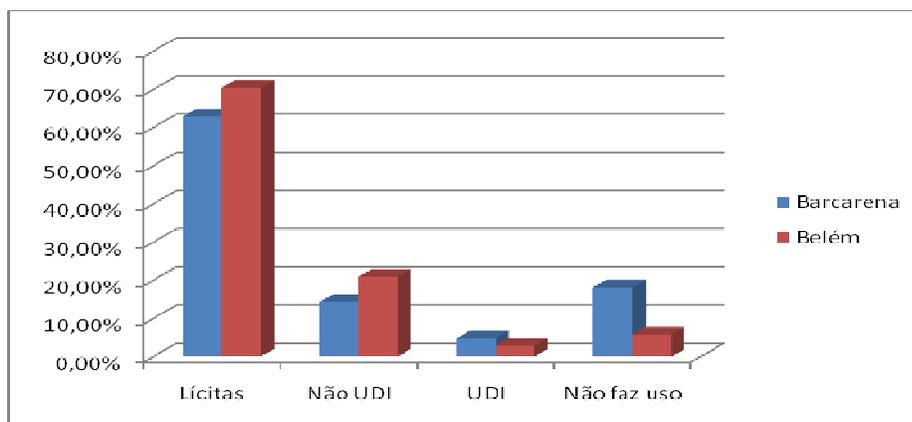


Gráfico 4 – Uso de drogas pelas MPS

A média de parceiros em Bragança foi de 12 (mínimo 1 e máximo 42), quanto ao comportamento sexual, 69,39% (68/98) declaram só ter relação com parceiros heterossexuais, 21,43% (21/98) informaram ter preferência por parceiras ou parceiros bissexuais e 9,18% (9/98) mantinham relações apenas com outras mulheres (gráfico 5).

Em Augusto Correa, a média de clientes por semana era de 8,9 (mínimo 1 e máximo 23), 54,84% (17/31) informaram que mantinham relações sexuais só com homens, 19,35% (6/31) declaram a preferência por parceiras ou parceiros bissexuais e 25,81% (8/31) mantinham relações sexuais apenas com homossexuais femininas (gráfico 5).

Em Belém, a média de parceiros por semana foi de 10,5 (mínimo 1 e máximo 50), sendo que 81,90% (86/105) das entrevistadas relataram preferência por clientes do sexo masculinos, 5,71% (6/105) responderam gostar apenas de parceiros bissexuais e 12,38% (13/105) informaram ter relações apenas com parceiras do mesmo sexo. Em Barcarena, a média de clientes por semana era de 7,0 (mínimo 1 e máximo 20), onde 89,52% (94/105) das MPS declaram só ter mantido relação sexual com

parceiro heterossexual, 8,57% (9/105) com parceiros bissexuais e 1,90% (2/105) com clientes do sexo feminino (gráfico 5).

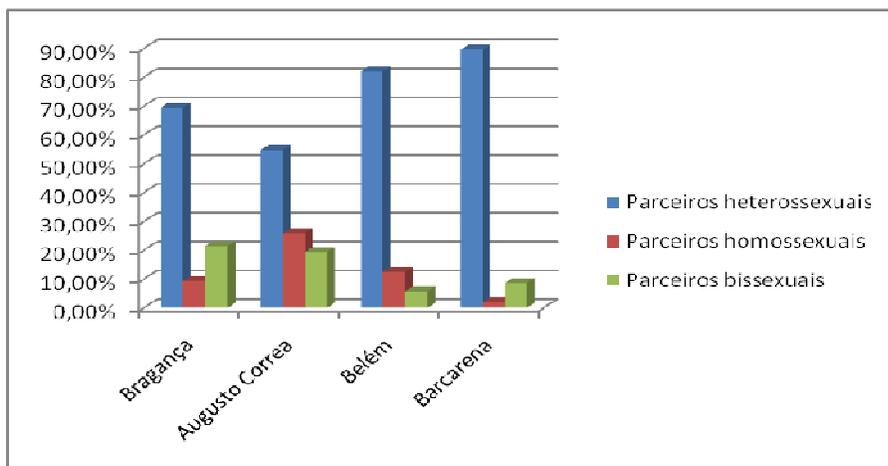


Gráfico 5 – Comportamento sexual das MPS

Constatou-se também que, embora, aparentemente, todas as MPS apresentassem conhecimento sobre a importância do uso de preservativo nas relações sexuais, em Bragança, 61,22% (60/98) informaram fazer sempre uso de preservativo, 34,69% (34/98) responderam que o usam apenas às vezes e 4,08% (4/98) nunca o usam (gráfico 6).

Em Augusto Correa, 51,61% (16/31) relataram fazer uso de preservativos sempre, 35,48% (11/31) os usavam apenas às vezes e 12,90% (4/31) nunca os usaram. Em Belém, 68,57% (72/105) dessas mulheres informaram usar sempre o preservativo, 26,67% (28/105) declararam usá-lo apenas às vezes e 4,76% (5/105) nunca o usaram. Em Barcarena, 63,81% (67/105) declararam usá-lo sempre, 27,62% (29/105) informaram usá-lo às vezes e 8,57% (9/105) relataram nunca tê-lo usado (gráfico 6).

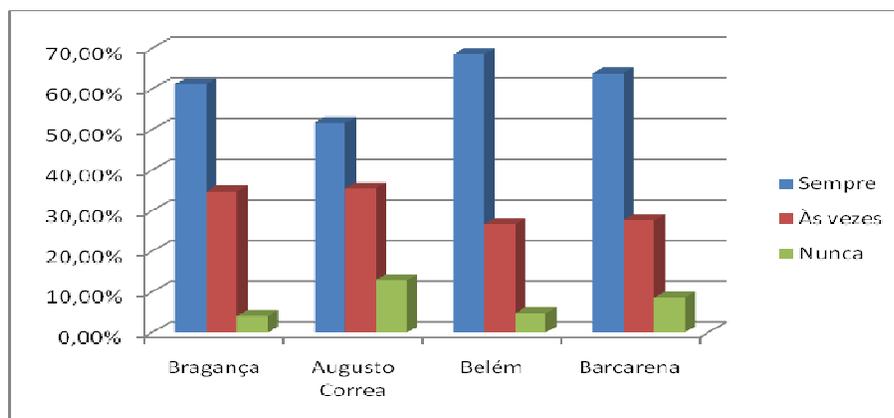


Gráfico 6 – Uso de preservativos nas relações sexuais pelas MPS

Quanto ao histórico de DST, em Bragança 19,39% (19/98) das participantes relataram já ter contraído sífilis (12/98) ou gonorréia (7/98). Em Augusto Correa, 48,39% (15/31) apresentaram histórico de DST, sendo que destas a gonorréia era a mais freqüente, perfazendo 66,67% (10/15) do total. Em Belém, 24,76% (26/105) das entrevistadas tinham histórico de DST, sendo que, entre as doenças citadas, as mais freqüentes são a sífilis 26,92% (7/26) e a gonorréia 46,15% (12/26). Em Barcarena, 14,29% (15/105) dessas profissionais tinham histórico de DST, com predomínio da gonorréia 53,33% (8/15).

### 3.3. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DAS MPS PORTADORAS DO HIV E DO HTLV

A média de idade das oito mulheres infectadas pelo HIV-1 foi de 32 anos (mínimo: 22 e máximo: 58), sendo todas solteiras; 62,50% (5/8) eram mães (média de 1,13 filhos); 25% (2/8) eram analfabetas e as demais (75%; 6/8) ainda não haviam concluído o ensino fundamental.

Quanto à preferência sexual, entre as MPS soropositivas, todas tinham preferência por parceiros heterossexuais com uma média de 14,13 por semana (mínimo 5 e máximo 25); 75% (6/8) faziam uso do preservativo apenas às vezes; 62,5% (5/8) declaram já ter contraído alguma DST e 37,5% (3/8) informaram já ter mantido relação sexual com indivíduos de outros Estados ou de outros países.

Quanto ao uso de drogas, 62,5% (5/8) eram consumidoras de bebidas alcoólicas associadas com cigarro e 37,5% (3/8) faziam uso diário de maconha, de cigarro e de álcool. Em relação ao uso de drogas injetáveis, 12,5% (1/8) declaram usá-las e as demais 87,5% (7/8) relataram nunca tê-las usado.

As seis MPS portadoras da infecção pelo HTLV eram todas solteiras, com a média de idade de 38,17 anos (mínimo: 25; máximo: 71), das quais 66,67% (4/6) tinham filhos (média de 2,33), 83,33% (5/6) não haviam concluído o ensino fundamental e 16,67% (1/6) consumiam álcool, cigarro e maconha concomitantemente. Quanto à preferência sexual, 83,33% (5/6) declararam que tinham apenas relações sexuais com parceiros heterossexuais e nenhuma informou fazer uso de droga injetável. Além disso, metade das MPS afirmou já ter mantido contato com parceiros de outros Estados, 66,67% (4/6) usavam preservativos apenas às vezes, metade das quais relatou já ter contraído alguma DST.

A análise dos dados epidemiológicos mostrou uma significativa associação da infecção pelo HIV-1 com o nível de instrução ( $p=0,0072$ ), com o número de parceiros por semana ( $p=0,0079$ ) e com o uso irregular de preservativos ( $p=0,0076$ ).

Já a infecção pelo HTLV-1 só mostrou associação estatisticamente significativa com o uso inconstante de preservativo ( $p=0,0482$ ) (Tabela 5).

Tabela 5 – Características epidemiológicas de 339 mulheres profissionais do sexo que fizeram parte do estudo.

Características	Anti-HIV		<i>p</i>	Anti-HTLV		<i>p</i>
	Negativo	Positivo		Negativo	Positivo	
Faixa etária			0,198			0,129
≤20	62	0		62	0	
21-34	212	6		214	4	
34 - 49	49	1		49	1	
≥50	8	1		8	1	
Escolaridade			<b>0,0072</b>			0,668
alfabetizada	10	2		12	0	
1º grau	264	6		264	6	
2º grau	51	0		51	0	
3º grau	6	0		6	0	
Estado Civil			0,252			0,728
Solteiro	290	8		293	5	
Casado	41	0		40	1	
Categoria/exposição			0,312			0,800
Heterossexual	256	8		259	5	
Homossexual	23	0		23	0	
Bissexual	52	0		51	1	
Parceiros /semana			<b>0,0079</b>			0,694
Um	35	0		35	0	
2-10	207	3		205	5	
11-20	78	3		80	1	
>20	11	2		13	0	
Preservativos			<b>0,0076</b>			<b>0,048</b>
Sempre	217	1		217	1	
Às vezes	93	6		95	4	
Nunca	21	1		21	1	

### 3.4. SUBTIPAGEM do HIV e do HTLV

Todas as (oito) amostras soropositivas para o HIV-1 foram confirmadas através da IFI e submetidas à caracterização molecular, tendo a amplificação do segmento do gene *pro* de 50% delas, revelado dois subtipos distintos, de três amostras de Belém e uma de Barcarena, conforme os programas *Blast* e *Beta Test*, cujas relações filogenéticas e valores de *Bootstrap* podem ser observados na Figura 19. O subtipo B foi o mais prevalente (75%), sendo dois de Belém e um de Barcarena, seguido do subtipo F (25%) proveniente de Belém.

Metade das amostras sororeativas para o HIV-1, todas provenientes de Belém, não amplificaram para o gene *pro*.

Os testes sorológicos revelaram a infecção pelo HTLV em seis amostras, a confirmação foi feita por meio da amplificação da região genômica *pX*, que após a digestão enzimática, mostrou que todas apresentavam um padrão de bandas correspondente ao HTLV-1. A análise nucleotídica de um segmento de 788 pb da região genômica 5' *LTR*, de duas amostras de Belém, depois de analisadas e comparadas com outras seqüências, obtidas no *GenBank*, permitiu classificá-las como subtipo Cosmopolita, subgrupo Transcontinental (Figura 20)

Todas as amostras testadas tiveram a região genômica *pX* amplificada e a análise por meio da técnica de RFLP, não identificou nenhuma delas como sendo do tipo HTLV-2. entretanto, o produto da PCR não amplificou para região *LTR* de 66,67% (4/6) das amostras sororeativas.

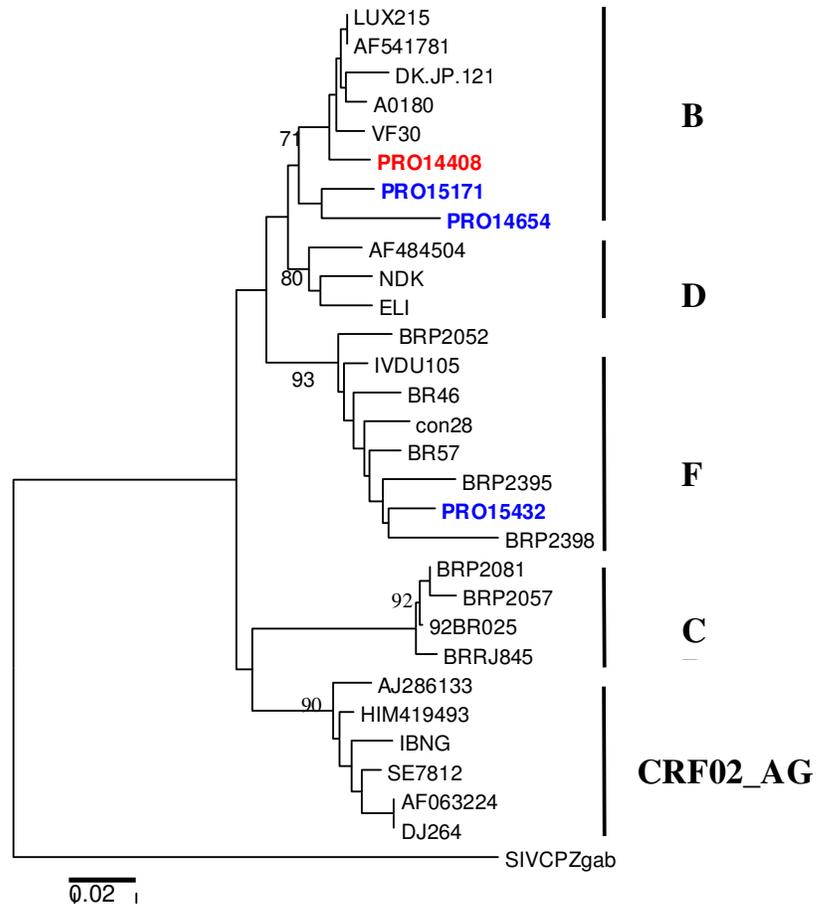


Figura 19 – Árvore filogenética baseada no alinhamento de 249 nucleotídeos do gene *pro* de três amostras de Belém (em azul) e uma de Barcarena (em vermelho) com aquelas disponíveis no *GenBank*. A sequência de SIVCPZGAB foi usada como grupo externo. A árvore foi construída usando o método de Neighbor-Joining. Os números nos nós da árvore indicam o valor *bootstrap*, obtidos usando-se 2.000 réplicas.

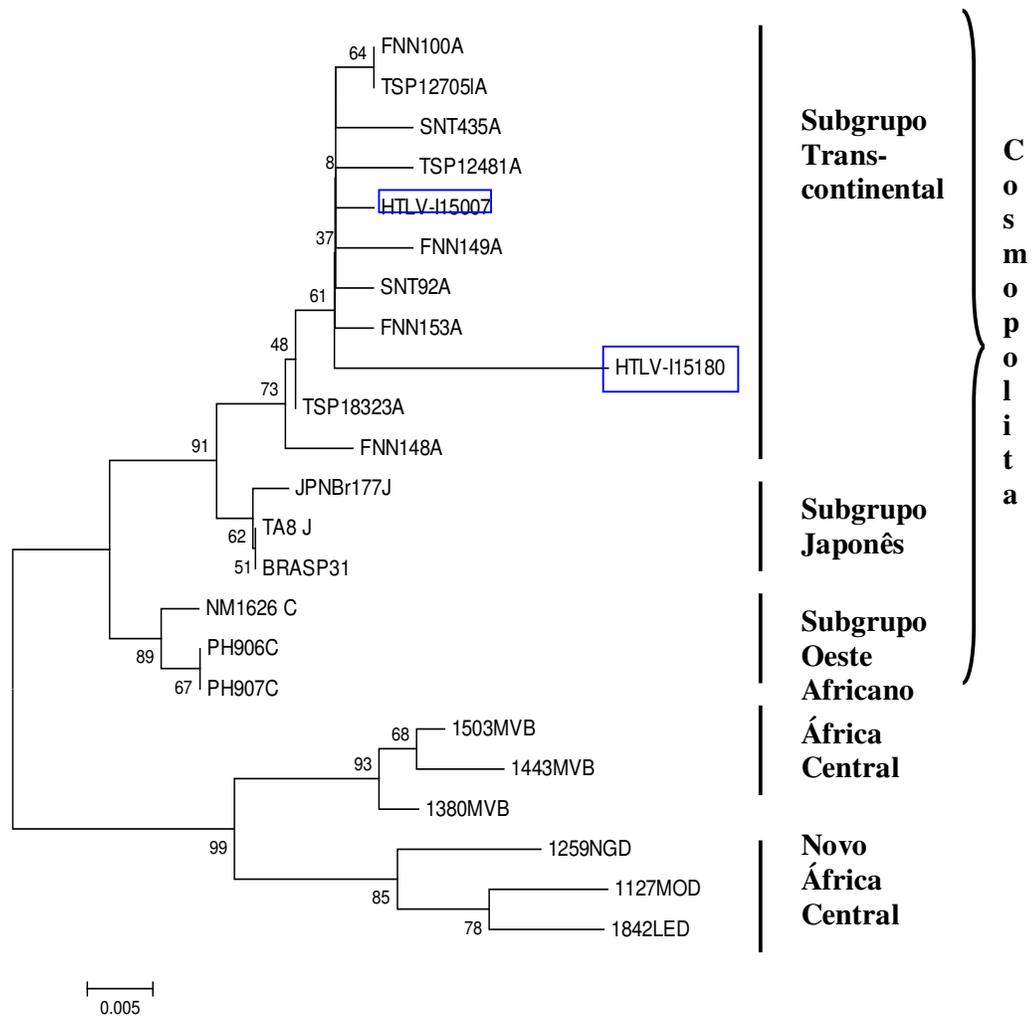


Figura 20 – Árvore filogenética mostrando as relações das cepas do vírus linfotrófico de células T humanas descritas no presente trabalho (HTLV-I15007, HTLV-I15180) com aquelas disponíveis no *GenBank*. A árvore foi construída por meio do método de Neighbor-Joining após o alinhamento de 410 nucleotídeos da região 5'LTR. O suporte estatístico foi efetuado por meio do uso de 2.000 réplicas de *bootstrap*.

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. EPIDEMIOLOGIA DO HIV

A prevalência da infecção pelo HIV entre as MPS residentes em quatro municípios do estado do Pará, descrita no presente trabalho, foi de 2,36%, semelhante à encontrada por Dutra *et al.* (2006) na cidade de Manaus (1,9%) e menor que a encontrada em Imbituba, Santa Catarina, que foi de 6,7% (Trevisol *et al.*, 2005). Essas diferenças podem ser o reflexo do fato de a região Norte do Brasil ter uma prevalência da infecção pelo HIV mais baixa em relação aos Estados do Sul e Sudeste do País (Boletim Epidemiológico, 2004). No entanto, em 2006, Monteiro *et al.* demonstraram a presença deste agente em 6,4% das MPS residentes na cidade de Belém, o que sugere que o vírus ainda tenha uma baixa circulação no interior do Estado do Pará, 3,23% em Augusto Correa e 0,95% em Barcarena.

A média de idade das MPS participantes do presente estudo foi de 28 anos, que é semelhante à encontrada em um trabalho realizado no Brasil (Schreiner *et al.*, 2004), não tendo sido verificada nenhuma associação entre a presença da infecção pelo HIV e a faixa etária das mulheres estudadas, como já foi relatado em outros lugares, como na Índia (Brahme *et al.*, 2006), na China (Chen *et al.*, 2005) e no México (Góngora-Biachi *et al.*, 2002).

No presente estudo foi verificada uma associação entre a infecção pelo HIV-1 e a baixa escolaridade das MPS participantes, sendo que aproximadamente 80% destas tinham o primeiro grau completo ou incompleto, evidenciando que a epidemia da infecção pelo vírus atinge, principalmente, a parcela com menor tempo de estudo. Esse fato deve ser resultado das dificuldades de acesso à escola ou, mais provavelmente, do abandono precoce do estudo, uma vez que 10% das MPS tinham idade entre 15 e 19

anos e já não estudavam mais. Esse aspecto também já havia sido observado em outros lugares do Brasil, como em Imbituba, Santa Catarina (Trevisol *et al.*, 2005) e em Ribeirão Preto (Passos & Figueiredo, 2004).

Outra possibilidade para o abandono precoce do estudo pelas MPS participantes deste trabalho é o fato de a maioria delas não possuir residência fixa, migrando constantemente para vários lugares, de acordo com o interesse de cada uma e com a oportunidade de trabalhar em cidades diferentes, como é comumente observado nessa população (Ohshige *et al.*, 2000; Trevisol *et al.*, 2005).

O uso inconstante de preservativos durante as relações sexuais, juntamente com o grande número de parceiros por semana, foram associados com a infecção pelo HIV-1 dentre as MPS do Pará. Essa associação também foi demonstrada por Montano *et al.* (2005) entre as MPS de nove países da América Sul (Venezuela, Colômbia, Equador, Peru, Chile, Bolívia, Paraguai, Uruguai e Argentina), o que indica que a promiscuidade sexual e o sexo desprotegido ainda são grandes obstáculos à contenção da epidemia de HIV nessas regiões estudadas.

O uso de drogas injetáveis não foi uma prática comumente observada entre as MPS do Pará, uma vez que somente 4,76% das MPS de Barcarena e 2,86% de Belém, declararam ser usuárias, destas apenas uma (0,3%) sendo portadora do HIV-1. No entanto, um grande número de mulheres relatou o uso de drogas não injetáveis, como o álcool, o cigarro e a maconha, ou ainda, ter parceiros usuários dessas drogas, sendo raro o relato de parceiros UDI. Isso indica que a via sexual ainda é a mais importante para a disseminação do vírus no Estado do Pará, semelhante ao relatado em Ribeirão Preto (Passos & Figueiredo, 2004) e em Imbituba, Santa Catarina (Trevisol *et al.*, 2005).

Nas cidades de Bragança e Augusto Correa não foi identificada a presença do HIV entre as MPS participantes do estudo. No entanto, ressalta-se a importância da realização de campanhas educativas para essa população específica, pois 6,20% das MPS dessas cidades relataram nunca usar preservativo durante as relações sexuais, embora a média do número de parceiros por semana chegue a 12 (máximo 42) em Bragança e 8 (máximo 23) em Augusto Correa, o que sugere que a introdução do vírus nessas comunidades fatalmente acontecerá.

#### 4.2. EPIDEMIOLOGIA DO HTLV

A prevalência do HTLV-1 reportada no presente trabalho foi de 1,77%. É semelhante à descrita previamente na cidade de Belém, que foi de 1,0% (Lopes & Miranda, 2004), e na cidade de Imbituba (Catarino-de-Araújo *et al.*, 2006), que foi de 1,1%. Entretanto, tal prevalência é mais baixa que a encontrada no Estado do Espírito Santo (Etzel *et al.*, 2001), que foi de 6,0% e no Peru (Zunt *et al.*, 2002), que foi de 8,7%. Essas diferenças quanto à soroprevalência da infecção pelo HTLV-1 entre as MPS das diferentes localidades podem estar associadas à distribuição heterogênea desse agente viral nos centros urbanos do Brasil e da América Latina.

A idade média das MPS infectadas pelo HTLV-1, nesse trabalho, foi de 38 anos (máximo 71), sendo superior à média de 24 anos verificada previamente em Belém (Lopes & Miranda, 2004), na Europa (34 anos; Zehender *et al.*, 2004) e na Espanha (29 anos; Belza *et al.*, 2004). Essa diferença ocorreu porque as participantes, principalmente as de Belém, apresentavam uma maior média de idade, o que sugere um maior tempo de exposição ao vírus, embora a associação da infecção com essa variável não se tenha mostrado estatisticamente significativa.

Uma das características das MPS portadoras do HTLV-1 incluídas no presente trabalho foi o baixo nível de escolaridade, pois todas tinham apenas o primeiro grau incompleto. Esse fato reflete o precoce abandono da escola por parte dessas mulheres e, embora algumas revelem a vontade de voltar a estudar, vários fatores – como o medo de ser discriminada, a família, o trabalho à noite e a falta de confiança – as afastam do retorno à escola. A predominância de MPS com baixa escolaridade também foi observada no Estado de Santa Catarina (Catarino-de-Araújo *et al.*, 2006).

Em relação ao uso de drogas ilícitas, somente uma das MPS portadoras do HTLV-1 informou usar maconha, e nenhuma declarou fazer uso de droga injetável. No entanto, a metade das mulheres participantes declarou fazer uso diário de drogas lícitas como cigarro e bebidas alcoólicas, o que poderia aumentar sua vulnerabilidade à aquisição de agentes infecciosos pela via sexual, em função do estado de despreocupação causado pelas referidas drogas, como já descrito em trabalhos realizados com MPS na Venezuela (Bartanjer & Pérez, 1998), no Peru (Miller *et al.*, 2004) e em Kwazulu-Natal, na África (Ramjee & Gouws, 2001).

No presente trabalho, o uso inconstante de preservativo foi um importante fator de risco associado à infecção pelo HTLV-1, pois, entre as MPS soropositivas, 66,6% usavam preservativo somente às vezes, fato que confirma observações realizadas em Feira de Santana, na Bahia (Morais *et al.*, 2006) e no Peru (Zunt *et al.*, 2002). Essa realidade pode refletir a ineficiência das campanhas educativas veiculadas nos meios de comunicação em massa, que terminam não atingindo esse público.

Na cidade de Bragança não se detectou nenhum caso de MPS soropositiva para o HTLV. Entretanto, faz-se necessária a implementação de ações

educativas nas escolas e nas casas de prostituição, pois, naquela localidade, a média de idade das MPS é baixa, não sendo raro observar meninas de quinze anos de idade já mantendo relações sexuais em troca de dinheiro por vários motivos, como a violência doméstica. Apesar de se encontrarem muitas mulheres menores de 20 anos de idade na população examinada, quase todas apresentam um elevado número de parceiros por semana.

No que concerne à frequência de DST relatada no presente trabalho, 22,12% das participantes relataram ter ou já ter tido alguma DST, sendo as mais frequentes a sífilis, com prevalência de 41,33%, e a gonorréia, com 49,77%, superiores ao encontrado na população de MPS em outros países, como no Vietnã (gonorréia, 10,7% e sífilis, 11,9%) (Thuong *et al.*, 2005), em Calcutá, na Índia, com 1,2% e 8,9% de sífilis e gonorréia, respectivamente (Gangopadhyay *et al.*, 2005) e de 3,3% de gonorréia e 14,4% de sífilis entre MPS no Camboja (Kim *et al.*, 2005). Esse fato pode dever-se a um conjunto de fatores, tais como o trabalho noturno, que dificulta o acesso aos serviços públicos de saúde, e o tratamento inadequado, feito sem orientação médica.

#### 4.3. EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DO HIV-1 EM MULHERES PROFISSIONAIS DO SEXO

Os estudos de epidemiologia molecular do HIV-1 no Brasil demonstram que o subtipo B é a cepa circulante mais prevalente no país, apesar de também já terem sido isolados os subtipos C, D, F e diversas formas recombinantes (Cerqueira *et al.*, 2004; Cabral *et al.*, 2006; Medeiros *et al.*, 2006). No presente trabalho, o subtipo B do HIV-1 foi o mais prevalente (75%), seguido do subtipo F (25%), o que está de acordo com o anteriormente observado no Estado do Pará (Machado *et al.*, 2004).

Esse é o primeiro relato de caracterização molecular do HIV-1 entre as MPS de cidades do interior do Estado do Pará, o que confirma a presença do subtipo B circulando não só nos grandes centros urbanos, mas também nas pequenas localidades da região.

A diversidade de cepas do HIV-1 circulando entre MPS está relacionada com a região geográfica em questão. No continente africano já foram descritos os sub-subtipos A2 e A3 em Senegal (Meloni *et al.* 2004), as formas recombinantes CRF02\_AG e CRF06\_cpx em Burkina (Manigart *et al.*, 2004), o subtipo C em Durbão e na Etiópia (Pollakis *et al.*, 2003; Grobler *et al.*, 2004) e as formas recombinantes CRF10\_CD na Tanzânia (kiwelu *et al.*, 2005), o que está de acordo com quantidade de formas circulantes do referido vírus na África (Yang *et al.*, 2005).

A diferença encontrada na prevalência de subtipos distintos do HIV-1 entre as MPS é um reflexo das cepas que circulam na população em geral, pois os subtipos B e F são as formas desse agente mais freqüente na região Norte (Machado *et al.*, 2004). Achados semelhantes já foram citados em outros trabalhos realizados com MPS em países como Índia (Segunpta *et al.*, 2005a; 2005b; 2005c), na Tailândia (Kilmax *et al.*, 2000), na Espanha (Gutierrez *et al.*, 2004) e na República Democrática do Congo (Vidal *et al.*, 2005).

#### 4.4. EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DO HTLV-1 EM MULHERES PROFISSIONAIS DO SEXO

No Brasil, com base em informações sorológicas provenientes de bancos de sangue, a infecção pelo HTLV-1 e pelo HTLV-2 já foi descrita em todos os Estados, porém não são muito freqüentes os estudos de epidemiologia molecular do vírus (Catalan-Soares *et al.*, 2005a), principalmente, em MPS.

No presente trabalho, é descrita pela primeira vez a prevalência da infecção pelo HTLV-1 em MPS do interior do Estado do Pará, confirmando a presença do HTLV-1 Cosmopolita como um agente viral amplamente distribuído e mais prevalente em áreas urbanas e rurais da Amazônia brasileira (Vallinoto *et al.*, 2004, 2006; Laurentino *et al.*, 2005; Souza *et al.*, 2006).

Em algumas amostras sororreativas no teste sorológico não foi possível a caracterização molecular, provavelmente devido à presença de mutações em sítios específicos dos iniciadores, resultando na ausência de amplificação do DNA proviral ou baixa qualidade do DNA extraído, o que pode dificultar a amplificação gênica. Essas limitações podem ser um indicativo da necessidade da construção de novos iniciadores.

A caracterização molecular de cepas do HTLV-1 como sendo Cosmopolita do subgrupo Transcontinental, entre as MPS, foi semelhante ao resultado obtido anteriormente em MPS do centro comercial da cidade de Belém (Costa, 2004). No referido trabalho, a prevalência foi de 1,07%, enquanto que neste, a prevalência foi de 1,77%. Essa diferença pode ser atribuída ao maior número de amostras e localidades estudadas.

A infecção pelo HTLV-1 Cosmopolita do subgrupo Transcontinental em MPS já foi reportada em trabalhos realizados com MPS imigrantes na Europa,

mostrando uma ampla distribuição desse agente na América Latina e nos países europeus (Gutiérrez *et al.*, 2004; Zehender *et al.*, 2004). Ademais, o subtipo Cosmopolita do subgrupo Oeste Africano foi também descrito em MPS no estudo desenvolvido por Zehender *et al.* (2004) de uma imigrante africana residente na Europa.

## 5. CONCLUSÕES

- 1) A soroprevalência de anti-HIV e de anti-HTLV em uma amostra da população de MPS do Estado do Pará foi de 2,36% e 1,77%, respectivamente;
- 2) Os subtipos do HIV-1 circulantes identificados foram do subtipo B e do subtipo F;
- 3) Todas as amostras soropositivas para o HTLV eram do tipo HTLV-1, sendo encontrado como subtipo o Cosmopolita, do subgrupo Transcontinental;
- 4) A relação sexual foi a mais provável via de aquisição da infecção pelos dois agentes virais, uma vez que o relato de uso de drogas endovenosas foi raro;
- 6) As MPS das referidas cidades apresentam baixo grau de escolaridade, são mães solteiras, fazem uso inconstante de preservativo, tem conhecimento dos riscos de contraírem DST e apresentam grande número de parceiros por semana;

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASZADEGAN, M.R., 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**: 2593-2595, 2003.

ACHKAR, J.M., BURDA, S.T., KONINGS, F.A.J., URBANSKI, M.M., WILLIAMS, C.A.U., SEIFEN, D., KAHIRIMBANYI, M.N., VOGLER, M., PARTA. M., LUPATKIN, H.C., PAZNER, S.Z., NYAMBI, P.N. Infection with HIV type 1 group M non-B subtypes in individuals living in New York City. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **36**: 835-844, 2004.

ADES, A.E., PARKER, S., WALKER, J., EDGINTON, M., TAYLOR,G.P., WEBER, J.N. Human T cell leukemia/lymphoma virus infection in pregnant women in the United Kingdom: population study. **British Medical Association**, **320**:1497-1501, 2000.

ADWAN, G., PAPA, A., KOUIDOU, S., ALEXIOU, S., MALISSIOVAS, N., NTOUTSOS, I., ANTONIADIS, A. Genetic heterogeneity of HIV-1 in Greece. **Microbes and Infection**, **2**: 353-357, 2000.

AGGARWAL, H., SMITH, M., TATT, ID., MURAD, S., OSNER, N., GERETTI, A.M., EASTERBROOK, J. Evidence for onward transmission of HIV-1 non-B subtype strains in the United Kingdom. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **41**: 201-209, 2006.

AKOUAMBA, B.S., VIEL, J., CHAREST, H., MERINDOL, N., SAMSON, J., LAPOINTE, N., BRENNER, B.G., LALONDE, R., HARRIGAN, P.R.,

- BOUCHER, M., SOUNDEYNS, H. HIV-1 genetic diversity in antenatal cohort, Canada. **Emerging Infectious Diseases**, **11**: 1230-1234, 2005.
- ALARY, M., TSHIBAKA, L.M., BERNIER, F., GERALDO, N., LOWNDES, C.M., MEDA, H., GNINTOUNGBE, C.A.B., ANAGONOU, S., JOLY, J.R. Decline in the prevalence of HIV and sexually transmitted diseases among female sex workers in Cotonou, Benin, 1993-1999. **AIDS**, **16**:463-470, 2002.
- ALCÂNTARA, L.C., VAN DOOREN, S., GONÇALVES, M.S., KASHIMA, S., COSTA, M.C.R., SANTOS, F.L.N., BITTENCOURT, A.L., DOURADO, I., FILHO, A.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, Brasil, suggest a post-columbian African origin of this virus. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **33**: 536-542, 2003a.
- ALCANTARA, L.C.J., OLIVEIRA, T., GORDON, M., PYBUS, O., MASCARENHAS, R.E., SEIXAS, M.O., GONÇALVES, M., HLELA, C., CASSOL, S., GALVÃO-CASTRO, B. Tracing the origin of Brazilian HTLV-1 as determined by analysis of host and viral genes. **AIDS**, **20**: 780-782, 2006.
- ALCANTARA, 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**: 519-523, 2003b.
- ANDO, Y., MATSUMOTO, S., NAKANO, S., SAITO, K., KAKIMOTO, K., TANIGAWA, T., EKUNI, Y., KAWA, M., TOYAMA, T. Long-term follow up

study of vertical HTLV-I infection in children breast-fed by seropositive mothers.

**Journal of Infection**, **46**: 177-179, 2003.

ANDRADE NETO, J.L. **Epidemiologia da síndrome da imunodeficiência adquirida em prostitutas**. Dissertação de Mestrado. Curitiba, Paraná, Universidade Federal do Paraná, 1993.

ARAÚJO, A.C., FORTUNA, E.S. Seropositivity to *Chlamydia trachomatis* in prostitutes: relationship to other sexually transmitted disease (STDs). **Brazilian Journal Medical Biology Research**, **23**: 697-700, 1998.

ARAUJO, L.M., RODRIGUES, O.O., NOLETO, A.A.S. Conhecimentos e práticas de prevenção do HIV/AIDS de mulheres atendidas na atenção básica em Teresina – PI. **VI Congresso da Sociedade Brasileira de Doenças Sexualmente Transmissíveis e II Congresso Brasileiro de AIDS, 2006**.

ARIUMI, Y., KAIDA, A., LIN, J.Y., HIROTA, M., MASUI, O., YAMAOKA, S., TAYA, Y., SHIMOTOHNO, K. HTLV-1 *tax* oncoprotein repress the p53-mediated trans-activation function through coactivator CBP sequestration. **Oncogene**, **19**: 1491-1499, 2000.

AROLD, S., BAUR, A.S. Dynamic Nef and Nef dynamics: show structure could explain the complex activities of this small HIV protein. **TRENDS in Biochemical Sciences**, **26**: 356-366, 2001.

ASANTE-APPIAH, E., SKALKA, A.M. Molecular mechanisms in retrovirus DNA integration. **Antiviral Research**, **36**: 139-156, 1997.

AULICINO, P.C., KOPKA, J., MANGANO, A.M., ROCCO, C., IACONO, M., BOLOGNA, R., SEM, L. Circulation of novel HIV type 1 A, B/C, and F subtypes in Argentina. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **21**: 158-164, 2005.

- AYRES, M., AYRES Jr., M., AYRES, D.L., SANTOS, A.S. **Bioestat 4.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências bilógicas e médicas**. Belém: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília, CNPq. 2005. 291p.
- BABIC, D.Z., ZELNILKAR, M., SEME, K., VANDAMME, A.M., SNOECK, J., TOMAZIC, J., VIDMAR, L., KARNER, P., POLJAK, P. Prevalence of antiretroviral drug resistance mutations and HIV-1 non-B subtypes in newly diagnosed drug-naïve patients in Slovenia, 2000-2004. **Virus Research**, **118**: 156-163, 2006.
- BALLEI, N.C.J., GRANATO, C.F.H., TOMYIAMA, H., CASTELO, A., FERREIRA, O. HTLV infection in a group of prostitutes and their male sexual clients in Brazil: seroprevalence and risk factors. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, **90**: 122-125, 1996.
- BALODE, D., FERDATS, A., DIEVBERNA, I., VIKSNA, L., ROZENTALE, B., KOLUPAJEVA, T., KONICHEVA, V., LEITNER, T. Rapid epidemic spread of HIV type 1 subtype A1 among drug users in Latvia and slower spread of subtype B among other risk groups. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **20**: 245-249, 2004.
- BANGHAM, C.R.M. The immune control and cell-to-cell spread of human T-lymphotropic virus type 1. **Journal of General Virology**, **84**: 3177-3189, 2003.
- BARCELLOS, N.T., FUCHS, S.C., MONDINI, L.G., MURPHY, E.L. Human T lymphotropic virus type I/II infection: prevalence and risk factors in individuals testing for HIV in counseling centers from Southern Brazil. **Sexually Transmitted Diseases**, **33**: 302-306, 2006.

- BARRÉ-SINOUSI, F., CHERMANN, J.C., REY, F., NUGEYRE, M.T., CHAMARET, S., GRUEST, J., DAUGUET, C., AXLER-BLIN, C., VÉZINET-BRUN, F., ROUZIOUX, C., ROZENBAUM, W., MONTAGNIER, L. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science**, **220**: 868-871, 1983.
- BARTANJER, E.C., PEREZ, E. Seroprevalencia de HTLV-I/II en hombres gays y trabajadoras sexuales de la Islã de Margarita, Venezuela. **Revista da sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **31**: 391-393, 1998.
- BÁRTOLO, I., EPALANGA, M., BARTOLOMEU, J., FONSECA, M., MENDES, A., GAMA, A., TAVEIRA, N. High diversity of human immunodeficiency virus type 1 in Angola. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **12**: 306-310, 2005.
- BASTIAN, I., GARDNER, J., WEBB, D., GARDNER, I. Isolation of human T-lymphotropic virus type I strains from Australian aborigenals. **Journal of Virology**, **67**: 843-851, 1993.
- BAYER, P., KRAFT, M., EJCHART, A., WESTENDORP, M., FRANK, R., RÖSCH, P. Structural studies of HIV-1 Tat protein. **Journal of Molecular Biology**, **247**: 529-535, 1995.
- BEERENS, N., BERKHOUT, B. The tRNA primer activation Signal in the Human Immunodeficiency Virus type 1 Genome is Important for initiation and processive Elongation of Reverse Transcription. **Journal of Virology**, **31**: 2329-2002, 2002.
- BELZA, M.J. On behalf of the Spanish group for the unlinked anonymous survey of HIV seroprevalence in STD patients: Prevalence of HIV, HTLV-I and HTLV-II among female sex workers in Spain, 2000-2001. **European Journal of Epidemiology**, **19**: 279-282, 2004.

- BESSONG, P.O., OBI, C.L., CILLIERS, T., CHOGE, I., PHOSWA, M., PILLAY, C., PAPATHANASOPOULOS, M., MORRIS, L. Characterization of Human immunodeficiency virus type 1 from a previously unexplored region of South Africa with a high HIV prevalence. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **21**: 103-109, 2005.
- BHANA, N., ORMROD, O., PERRY, C.M., FIGGITT, D.P. Zidovudine: a review of its use in the management of vertically-acquired pediatric HIV infection. **Pediatric Drugs**, **4**: 515-553, 2002.
- BIGLIONE, M., VIDAN, O., MAHIEUX, R., COLOMBO, M., BASUALDO, M.A., BONNET, M., PANKOV, G., EFRON, M.A., ZORRILLA, A., TEKAIA, F., MURPHY, E., THÉ, G., GESSAIN, A. Seroepidemiological and molecular studies of Human T Cell Lymphotropic Virus type II, subtype b, in isolated groups of Mataco and Toba Indians of Northern Argentina. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **15**: 407-417, 1999.
- BIGLIONE, M.M., ASTOLOA, L., SALOMAON, H. High prevalence of HTLV-I and HTLV-II among blood donors in Argentina: A South American health concern. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **21**: 1-4, 2005.
- BLUT, A. Human T-cell Lymphotropic Viruses type 1 and 2 (HTLV-I/II). **Infusionsther Transfusionsmed**, **26**: 321-326, 1999.
- BOBKOV, A.F., KAKENNOVA, E.V., SUKHANOVA, A.L., BOBKOVA, M.R., POKROVSKY, V.V., ZEMAN, V.V., KOVTUNENKO, N.G., ERASILOVA, I.B. An HIV type 1 subtype A outbreak among injecting drug users in Kazakhstan. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **20**: 1134-1136, 2004.

- BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO: critérios de definição de casos de AIDS em adultos e crianças, 2004.
- BORBA, K.P., CLAPIS, M.J. Mulheres profissionais do sexo infectadas pelo HIV e a vulnerabilidade para a infecção. **VI Congresso da Sociedade Brasileira de Doenças Sexualmente Transmissíveis e II Congresso Brasileiro de AIDS, 2006.**
- BRAHME, R., MEHTA, S., SAHAY, S., JOGLEKAR, N., GHATE, M., JOSHI, S., GANGAKHEDKAR, R., RISBUD, A., BOLLINGER, R., MEHENDALE, S. Correlates and trend of HIV prevalence among female sex workers attending sexually transmitted disease clinics in Pune, Índia (1993-2002). **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes, 41:** 107-113, 2006.
- BRÍGIDO, L.F.M., FRANCO, H.M., CUSTODIO, R.M., OLIVEIRA, C.A.F., PEREIRA, J.L.P., EIRA, M., BERGEL, F., ARAÚJO, F., CARVALHEIRO, J.R., RODRIGUES, R. Molecular characteristics of HIV type 1 circulating in São Paulo, Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses, 21:** 673-682, 2005.
- BRYSON, Y.J. Perinatal HIV-1 transmission: recent advances and therapeutic interventions. **AIDS, 10:** 33S-42, 1996.
- CABRAL, V.P., CUNHA, C.B., MAGALHÃES, E.F.L., PINTO-NETO, L.F., COUTO-FERNAEDZ, J.C., DIETZE, R., MORGADO, M.G., RIBEIRO-RODRIGUES, R. Human immunodeficiency virus type-1 subtypes of infected patients in Espírito Santo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 101:** 881-885, 2006.
- CALATTINI S., CHEVALIER S.A, DUPREZ R., BASSOT S., FROMENT A., AHIEUX R., GESSAIN A. Discovery of a new human T-cell lymphotropic virus (HTLV-3) in Central Africa. **Retrovirology, 2:** 1-4, 2005.

- CANNOR, E.M., SPERLING, R.S., GELBER, R., KISELEV, P., SCOTT, G., O'SULLIVAN, M.J. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with Zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. **England Journal Medical**, **331**: 1173-1180, 1994.
- CAPDEPONT, S., GAGLIARD, D.L., JOUBERT, M., CORREZE, P., LAFON, M.E., GUILLEMAIN, B., FLEURY, H.J. New insights in HTLV-I phylogeny by sequencing and analyzing the entire envelope gene. **AIDS Research Human Retroviruses**, **21**: 28-42, 2005.
- CARRETO, R., KASHIMA, S., COVAS, D.T. Molecular characterization the isolates of the HIV-1 in the region of Ribeirão Preto. **XVI National Meeting of Virology**, **10**: p310, 2005.
- CASTRO, C., MORENO, M., DEIBIS, L., PEREZ, G: Trends of HIV-1 molecular epidemiology in Venezuela: introduction of subtype C and identification of a novel B/C mosaic genome. **Journal of Clinical Virology**, **32**: 257-258, 2005.
- CASTRO, E., ECHEVERRIA, G., DEIBIS, L., GONZALEZ de SELMA, B., Dos SANTOS MOREIRA, A., GUIMARAES, M.L. Molecular epidemiology of HIV-1 infection in Venezuela: high prevalence of HIV-1 subtype B and identification of a B/F recombinant infection. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **3**: 338-44, 2003.
- CATALAN-SOARES, B., CARNEIRO-PROIETTI, A.B.F., PROIETTI, F.A. Heterogeneous geographic distribution of human T-cell lymphotropic viruses I and II (HTLV-I/II): serological screening prevalence rates in blood donors from large urban areas in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, **21**: 926-931, 2005a.

- CATALAN-SOARES, B., STANCIOLI, E.F.B., ALCANTARA, L.C.J., CARNEIRO-PROIETTI, A.B.F., MARTINS, M.L., LOPES, M.S.N., 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 Human and Retroviruses**, **21**: 521-526, 2005b.
- CATARINO-DE-ARAÚJO, A., FAVERO, A., ELIZABETH, S.F., SULEIMAN, J., CHIEGO-BIACHI, L., CALABRO, M.L. HTLV-I/HTLV-II co-infection in an AIDS patient from São Paulo, Brazil. **AIDS Research Human and Retroviruses**, **16**: 715-719, 2000.
- CATARINO-DE-ARAÚJO, A., SANTOS-FORTUNA, E., MAGRI, M.C., SCHUELTER-TREVISOL, F., SILVA, M.V. Unpredicted HTLV-1 infection in female sex worker from Imbituba, Santa Catarina, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, **48**: 237-238, 2006.
- CERQUEIRA, D.C., AMORIM, R.M.S., GENI, N.L., BRÍGIDO, M.M., MARTINS, C.R.F. Antiretroviral resistance and genetic diversity of human immunodeficiency virus type 1 isolates from the Federal District, Central Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **99**: 877-882, 2004.
- CESSAR, O., CAPUANO, C., MEERTENS, L., CHUNGUE, E., GESSAIN, A. Human T-cell leukemia virus type 1 molecular variants, Vanuatu, Melanésia. **Emerging Infectious Diseases**, **11**: 706-710, 2005.
- CHAIX, M-L., DESCAMPS, D., HARZIC, M., SCHNEIDER, V., DEVEAU, C., TAMALET, C., PELLEGRIN, I., IZOPET, J., RUFFAULT, A., MASQUELIER, B., MEYER, L., ROUZIOUX, C., BRUN-VEZINET, F., COSTAGLIOLA, D.

Stable prevalence of genotypic drug resistance mutations but increase in non-B virus among patients with primary HIV-1 infection in France. **AIDS**, **17**: 2635-2643, 2003.

CHEN, J., ZEKENG, L., YAMASHITA, M., TAKEISHA, J., MIURA, T., IDO, E., MBOUDJEKA, I., TSAGUE, J.M., HAYAMI, M., KAPTUE, L. HTLV isolated from a Pygmy in Cameroon is related but distinct from the known Central African type. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **11**: 1529-1531, 1995.

CHEN, X-D., YIN, Y-P, LIANG, G-J., GONG, X-D, LI, H.S., POUMEROL, G., THUY, N., SHI, M.Q., YU, Y.H. Sexually transmitted infections among female sex workers in Yunnan, China. **AIDS Patient Care and STD**, **19**: 853-859, 2005.

CHEN, Y.A., TING, S.T., LEE, C.M., LIU, W.T., PAN, W.H., CHENG, A.T.A., CHOU, P. Community-based molecular epidemiology of HTLV type I in Taiwan and Kinmen: implications of the origin of the Cosmopolitan subtype in Northeast Asia. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **3**: 299- 237, 1999.

CHIAVETTA, J.A., ESCOBAR, M., NEWMAN, A., HE, Y., DRIEZEN, P., DEEKS, S., HONE, D., SHER, G. Incidence and estimated rates of residual risk for HIV, hepatitis C, hepatitis B and human T-cell lymphotropic viruses in blood donors in Canada, 1990-2000. **Canadian Medical Association**, **14**: 767-773, 2003.

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.

- CLAVEL, F., GUYADER, M., GUETARD, D., SALLE, M., MONTANGNIER, L., ALIZON, M. Molecular cloning and polymorphism of the human immune deficiency virus type 2. **Nature**, **324**: 691-695, 1986.
- COFFIN, J. M. *Retroviridae: The viruses and their replication*. In **fundamental virology**. Lippicortt-Raven, Philadelphia. p. 763-843, 1996.
- COFFIN, J., HAASE, A., LEVY, J.A., MONTAGNIER, L., OROSZLAN, S., TEICH, N., TEMIN, H., TOYOSHIMA, K., VARMUS, H., VOGT, P., WEISS, R.A. What to call the AIDS virus? **Nature**, **321**: 10, 1986.
- COLIN, D.D., ALCÂNTARA, L.C.J., SANTOS, F.L.N., UCHOA, R., TAVARES-NETO, L. 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**: 667-683, 2003.
- CORTES, E., DETELS, R., ABOULAFIA, D., LI, X.L., MOUDGIL, T., ALAM, M., BONECKER, C., GONZAGA, A., OYAFUSO, L., TONDO, M. HIV-1, HIV-2, and HTLV-1 infection in high-risk groups in Brazil. **England Journal Medical**, **21**: 321-322, 1989.
- COSTA, P.S.O.F. Investigação sorológica e molecular da infecção pelos retrovírus HIV-1 e HTLV-I/II em prostitutas do centro comercial de Belém, Pará, Brasil. XV seminário de Iniciação Científica da UFPA, 2004.
- COSTA, P.S.O.F., ISHAK, R., ISHAK, M.O.G., MACHADO, L.F.A., VALLINOTO, A.C.R., MADEIRA, L.D.P.S., FREITAS, L.C.M., PINHEIRO, L.K.M., MACHADO, M.I. Seroprevalence and molecular characterization of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and of human T-cell lymphotropic virus

types 1/2 (HTLV-1/2) among pregnant women linked to unified health cares system in the Pará state. **XVI Seminário de Iniciação Científica da UFPA**, 2005.

COUTO-FERNANDEZ, J.C., SIVA-DE JESUS, C., VELOSO, V.G., RACHID, M., GRACIE, R.S.G., CHEQUER-FERNANSEZ, S.L., OLIVEIRA, S.M., ARAKAKI-SANCHEZ, D., CHEQUER, P.N.J., MORGADO, M.G. Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genotyping in Rio de Janeiro, Brazil: assessing subtype and drug-resistance associated mutations in HIV infected individuals failing highly active antiretroviral therapy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **100**: 73-78, 2005.

CUEVAS, M.T., RUIBAL, I., VILHAHERMOSA, M.L., DÍAZ, H., DELGADO, E., PARGA, E.V., PÉREZ-ÁLVAREZ, L., ARMAS, M.B., CUEVAS, L., MEDRANO, L., NOA, E., OSMANOV, S., NÁJERA, R., THOMSON, M.M. High HIV-1 genetic diversity in Cuba. **AIDS**, **16**: 1643-1653, 2002.

DABIS, F., NEWELL, M.L., FRANSEN, L., SABA, J., LEPAJE, P., LEROY, V. Prevention of mother-to-child transmission of HIV in developing countries: recommendations for practice. **Health Policy Planning**, **15**: 34-42, 2000.

DADA, A.J., OYWOLE, F., ONOFOWOKAN, R., NASIDI, A., HARRIS, B., LEVIN, A., DIAMONDSTONE, L., QUINN, T.C., BLATTNER, W.A. Demographic characteristics of retroviral infections (HIV-1, HIV-2, and HTLV-1) among female professional sex workers in Lagos, Nigeria. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **29**: 1358-1363, 1993.

De la FUENTE, L., TORO, C., SORIANO, V., BRUGAL, M.T., VALLEJO, F., BARRIO, G., JIMENEZ, V., SILVA, T. HTLV infection among young injecting

- and non-injecting heroin users in Spain: prevalence and correlates. **Journal of Clinical Virology**, **12**: 123-127, 2005.
- DELAPORTE, E., BUVE, A., NZILA, N., GEOMAN, J., DAZZA, M.C., HENZEL, H.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**, **8**: 511-515, 1995.
- DELGADO, E., LEON-PONTE, M., VILLAHERMOSA, M.L., CUEVA, M.T., DEIBIS, L., SCHECARRIA, G. Analysis of HIV type 1 protease and reverse transcriptase sequences from Venezuela for drug resistance-associated mutations and subtype classification: a UNAIDS study. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **17**: 753-758, 2001.
- DELGADO, E., THOMSON, M.M., VILLAHERMOSA, M.L., SIERRA, M., OCAMPO, A., MIRALLES, C., RODRÍGUEZ-PÉREZ, R., DIZ-AREN, J., CASTRO, R., LOSADA, E., CUEVAS, M.T., PARGA, E.V., CARMONA, R., PÉREZ-ÁLVAREZ, L., MEDRANO, L., CUEVAS, L., TABOADA, J.A., NÁJERA, R. Identification of a newly characterized HIV-1 BG intersubtype circulating recombinant form in Galicia, Spain, which exhibits a pseudotype-like virion structure. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **29**: 536-543, 2002.
- DELWART, E.L., MULLINS, J.I., GUPTA, P., JR, L.G.H., HOLODNIY, M., KATZENSTEIN, D., WALKER, B.D., SINGH, M.K. Human immunodeficiency virus type 1 in blood and semen. **Journal of Virology**, **72**: 617-23, 2000.

- DELWART, E.L., RTON, S., PAREKH, B., DOBBS, T., CLARK, K., BUSCH, M.P.M. Two percent of HIV-positive U.S. blood donors are infected with non-subtype B strains. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **19**: 1065-1070, 2003.
- DEORA, A., RATNER, L. Viral protein U (Vpu)-mediated enhancement of Human immunodeficiency virus type 1 particle release depends on the rate of cellular proliferation. **Journal of Virology**, **75**: 6714-6718, 2001.
- DEROO, S., ROBERT, I., FONTAINE, E., LAMBERT, C., PLESSÉRIA, J-M., ARENDT, V., STAUB, T., HEMMER, R., SCHENEIDER, F., SCHMIT, J-C. HIV-1 subtypes in Luxembourg, 1983-2000. **AIDS**, **16**: 2461-2467, 2002.
- DESHPANDE, A., PINSON, P.R., DESHMUKH, R., FAURE, M., JAUVIN, V., GARRIGUE, I., LAFON, M.E., FLEURY, H.J. Molecular characterization of HIV type 1 isolates from untreated patients of Mumbai (Bombay), India, and detection of rare resistance mutations. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **20**: 1032-1035, 2004.
- DING, Y., DETELS, R., ZHAO, Z., ZHU, Y., ZHU, G., ZHANG, B., SHEN, T., XUE, X. HIV infection and sexually transmitted diseases in Female Commercial Sex Worker in China. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **38**: 314-318, 2005.
- 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 Darkar, Senegal. **Journal of Clinical Microbiology**, **44**: 1550-1554, 2006.

- DOMINGUEZ, M.C., CASTILHO, A., CABRERA, J., EIZURU, Y., GARCIA-VALLEJO, F. Envelope sequence variation and phylogenetic relations of human t cell lymphotropic virus type 1 from endemic areas of Colombia. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **18**: 887-890, 2002.
- DONATI, M., SEYEDZADEH, H., LEUNG, T., BLOTT, M., ZUCKERMAN, M. Prevalence of antibody to human T cell leukemia/lymphoma virus in women attending antenatal clinic in southeast London: retrospective study. **British Medical Association**, **320**: 92-93, 2000.
- DOURADO, I., ALCANTARA, L.C.J., BARRETO, M.L., TEIXEIRA, M.G., GAVÃO-CASTRO, B. HTLV-I in the general population of Salvador, Brasil. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology**, **34**: 527-530, 2003.
- DOURADO, I., ANDRADE, T., CARPENTER, C.L., GALVÃO-CASTRO, B. Risk factors for Human T cell lymphotropic virus type I among injecting users in Northeast Brazil: possibly greater efficiency of male to female transmission. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **94**: 13-18, 1999.
- DOWE, G., SMIKLE, M.F., THESIGER, C., WILLIAMS, E.M. Bloodborne sexually transmitted infections in patients presenting for substance abuse treatment in Jamaica. **Sexually Transmitted Infection**, **28**: 266-269, 2000.
- DUARTE, G., QUINTANA, S.M., EL BEITUNE, P. Estratégias que reduzem a transmissão vertical do vírus da imunodeficiência humana tipo 1. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, **27**: 768-778, 2005.

- DUNKLE, K.L., BEKSINSKA, M.E., BALLARD, R.C., HTUN, Ye., WILSON, M.L.  
Risk factors for HIV infection among sex workers in Johannesburg, South Africa.  
**International Journal of STD & AIDS**, **3**: 256-261, 2005.
- DUTRA, J.C., VASQUEZ, G.F., BENZAQUEN, A.S. Dados preliminares de estudo de  
prevalência das DST em mulheres trabalhadoras do sexo na cidade de Manaus. **VI  
Congresso da Sociedade Brasileira de Doenças Sexualmente Transmissíveis e II  
Congresso Brasileiro de AIDS, 2006.**
- ECKSTEIN, D.A., SHERMAN, M.P., PENN, M.L., CHIN, P.S., De NORONHA,  
C.M., GREENE, W.C., GOLDSMITH, M.A. HIV-1 Vpr enhances viral burden by  
facilitating infection of tissue macrophages but not nondividing CD4+ T cells.  
**Journal Experimental Medical**, **194**: 1407-1419, 2001.
- EGAN, J.F., O'LEARY, B., LEWIS, M.J., MULCAHY, F., SHEEHY, N.,  
HASEGAWA, H., FITZPATRICK, F., O'CONNOR, J.J., O'RIORDAN, J., HALL,  
W.W. High rate of Human T lymphotropic virus type IIa infection in HIV type 1-  
infected intravenous drug abusers in Ireland. **AIDS Research and Human  
Retroviruses**, **15**: 699-7055, 1999.
- 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.
- EMBREE, J.E., NJENGA, S., DATTA, P., NAGELKERKE, N.J.D., NDINYA-  
ACHOLA, J.O., MOHAMMED, Z., RAMDAHIN, S., BWAYO, J.J., PLUMMER,

- F.A. Risk factors for postnatal mother-child transmission of HIV-1. **AIDS**, **14**: 2535-2541, 2000.
- ETZEL, A., SHIBATA, G.Y., ROZMAN, M., JORGE, M.L.S.G., DAMAS, C.D., SEGURADO, A.A.C. HTLV-1 and HTLV-2 infections in HIV-infected individuals from Santos, Brazil: seroprevalence and risk factors. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **26**: 185-190, 2001.
- FALSENSTEIN, J. confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap.. **Evolution**, **39**: 783-791, 1985.
- FAWAZ, N.A., TAMIM, H., ALMAWI, 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.
- FERNANDES, M.F.A., CARVALHO, M.L., ABIB, A.R., MACDOWELL, M.F., SANTANA, R.S. Reinvestigação de casos de AIDS classificados na categoria de exposição transfusão no SINAN/AIDS, Brasil 1999/2000. Boleim Epidemiológico, ano XVI, 2002.
- FERNANDES, R.C.S.C., ARAUJO, L.C., MEDINA-COSTA, E. O desafio da prevenção da transmissão vertical do HIV no Município de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil. **Cadenos de Saúde Pública**, **21**: 1153-1159, 2005.
- FERNANDEZ, J.C.C., OLIVEIRA, S.M., JESUS, C.S., VELOSO, V., RACHID, M., MORGADO, M.G. Epidemiology of HIV-1 subtypes and drug resistance in Rio de Janeiro, Brazil. **XVI National Meeting of Virology**, **10**: p301, 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.
- FILHO, D.J.S., SUCUPIRA, M.C.A., CASIERO, M.M., SABINO, E.C., DIAZ, R.S., JANINI, L.M. Identification of two HIV type 1 circulation recombinant forms in Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **22**: 1-3, 2006.
- FOWLER, M.G., NEWELL, M.L. Breast-feeding and HIV-1 transmission in resource-limited settings. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **3**: 230-239, 2002.
- FRANCHINI, G. Viral Disease in Hematology. **Hematology**, **D804**: 409-423, 2000.
- FREED, E. O: HIV-1 Gag Proteins: Diverse Functions in the virus life Cycle. **Virology**, **251**: 1-15, 1998.
- FUJINO, T., NAGATA, Y. HTLV-1 transmission from mother to child. **Journal of Reproductive Immunology**, **47**: 197-206, 2000.
- FUJIYOSHI, T., LI, H-C., LOU, H., YASHIKI, S., KARINO, S., ZANINOVIC, V., ONEEGLO, S.G., CAMACHO, M., ANDRADE, R., HURTADO, L.V., GOMEZ, L.H., SOODA, H., TAJIMA, K. Characteristic distribution of HTLV type I and HTLV type II carriers among native ethnic groups in South America. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **14**: 1235-1239, 1999.
- FUKUSHIMA, Y., LEWIS, M.J., MONKEN, C., KOMERO, K., KUSAGAWA, S., SATO, H., TAKEBE, Y., YAMAZAKI, S., NGUYEN, T.H., HOANG, A., HOANG, T.L., HOND, A.M., HALL, W.W. identification and molecular characterization of human T-cell lymphotropic virus type II infection in intravenous

- drug abusers in the former south Vietnam. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **14**: 537-540, 1998.
- GADDIS, N.C., CHERTOVA, E., SHEEHY, A.M., HENDERSON, L.E., MALIN, M.H. Comprehensive investigation of the molecular defect in *Vif*-deficient Human Immunodeficiency Virus Type 1 virions. **Journal of Virology**, **26**: 5810-5820, 2003.
- GADELHA, S.R., SHINDO, N., CRUZ, J.N.M., MORGADO, M.G., GALVÃO-CASTRO. Molecular epidemiology of human immunodeficiency virus-1 in the state of Ceará, northeast, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **98**: 461-463, 2003.
- GALLO, R.C., SALAHUDDIN, S.Z., POPOVIC, M., SHEARER, G.M., KAPLAN, M., HAYNES, B.F., PALKER, T.J., REDFIELD, R., OLESKE, J., SAFAI, B., WHITE, G., FORSTER, P., MAKHAM, P. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. **Science**, **224**: 500-503, 1984.
- GALLO, S.A., FINNEGAN, C.M., VIARD, M., RAVIV, Y., DIMITROV, A., RAWAT, S.S., PURI, A., DURELL, S., BLUMENTHAL R. The HIV Env-mediated fusion reaction. **Biochemical Biophysical Acta**, **1614**: 36-50, 2003.
- GANGOPADHYAY, D.N., CHANDA, M., SARKAR, K., NIYOGI, S.K., CHAKRABORTY, S., SAHA, M.K., MANNA, B., JANA, S., RAY, P., BHATTACHARYA, S.K., DETELS, R. Evaluation of sexually transmitted diseases/human immunodeficiency virus intervention programs for sex workers in Calcutta, India. **Sexually Transmitted Diseases**, **32**: 680-684, 2005.

- GASMI, M., FAROUQI, B., d'ICAN, M., DESGRANGES, C. Long terminal repeat sequence analysis of HTLV type I molecular variants identified in four North African patients. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **10**: 1313-1315, 1994.
- GELMANN, E.P., FRANCHINI, G., MANZARI, V., WONG-STAAAL, F., GALLO, R.C. Molecular cloning of a unique T-cell leukemia virus (HTLV-II Mo). **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, **81**: 993-997, 1984.
- GESSAIN, A. Human retrovirus HTLV-1 and HTLV-2. **Maladies Infectieuses**, **1**: 203-220, 2004.
- GESSAIN, A., BARIN, F., VERNANT, J. Antibodies to human T-lymphotropic virus type I in patients with tropical spastic Paraparesis. **Lacert**, **2**: 407-412, 1985.
- GESSAIN, A., GALLO, R.C., FRANCHINI, G. Low degree of human T-cell leukemia/lymphoma virus type I genetic drift in vivo as a means of monitoring viral transmission and movement of ancient human populations. **Journal of Virology**, **66**: 2288-2295, 1992.
- GESSAIN, A., MAUCLERE, P., FROMENT, A., BIGLIONE, M., HESRAN, J.Y., TEKAIA, F., MILLAN, J., DE THÉ, G. Isolation and molecular characterization of human T-cell lymphotropic virus type II (HTLV-II), subtype B, from a healthy Pygmy living in remote area of Cameroon: an ancient origin for HTLV-II in Africa. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, **92**: 4041-4045, 1995
- GESSAIN, A., RENAUD, M., GUY, T. Genetic variability and molecular epidemiology of human and simian T-cell leukemia/lymphoma virus type I. **Meladies Infectieuses**, **13**: S132-S145, 1996.

- GHYS, P.D., DIALLO, M.O., TRAORÉ, V.E., KALÉ, K., TAWIL, O., CARAEL, M., TRAORÉ, T., COCK, K.M., GREENBER, A.E. Increase in condom use and decline in HIV and sexually transmitted diseases among female sex workers in Abidjan, Côte d'Ivoire, 1991-1998. **AIDS**, **16**: 251-258, 2002.
- GHYS, P.D., JENKINS, C., PISANI, E. HIV surveillance among female sex workers. **AIDS**, **15**: S33-S40, 2001.
- GÓGORA-BIACHI, R.A., RUZ, N.P., GAMBOA, L.V., MARTINEZ, P.G., ABUXAPQUI, J.F., RODRIGUEZ, W.M., PERERA, D.L., SALOMON, G.A. Knowledge, behavior and seroprevalence towards HIV infection among female sex workers in Yucatan, Mexico. **Revista Biomed**, **13**: 257-263, 2002.
- GOLDSMITH, M.A., DOMS, R.W. HIV entry: are all receptors created equal? **Nature Immunology**, **3**:709-710, 2002.
- GONZALES, M.J., MACHEKANO, R.N., SHAFER, R.W. Human immunodeficiency virus type 1 reverse-transcriptase and protease subtypes: classification, amino acid mutation patterns, and prevalence in a Northern California clinic-based population. **Journal of Infectious Diseases**, **184**: 998-1006, 2001.
- GOOD, L., MAGGIRWAR, S.B., SUN, S.C. activation of the IL-2 gene promoter by HTLV-I tax involves induction of NF-AT complexes bound to the CD28-responsive element. **The EMBO Journal**, **15**: 3744-3750, 1996.
- GREENE, W. C. The molecular biology of human immunodeficiency virus type 1 infection. **New England Journal of Medicine**, **324**: 308-317, 1991.
- GREENWAY, A.L., HOLLOWAY, G., McPHEE, D.A., ELLIS, P., CORNALL, A., LIDMAN, M. HIV-1 Nef control of cell signaling molecules: multiple strategies to promote virus replication. **Journal of Bioscience**, **28**: 323-335, 2003.

- GROBLER, J., GRAY, C.M., REDEMEYER, C., SEOIGHE, C., RAMJEE, G., KARIM, S.A., MORRIS, L., WILLIAMSOM, C. Incidence of HIV-1 dual infection and its association with increased viral load set point in cohort of HIV-1 subtype C-infected female sex workers. **The Journal of Infectious Diseases**, **190**: 1355-1359, 2004.
- GUIMARÃES, M.L., BASTOS, F.I., TELLES, P.R. Retrovirus infection 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**: 143-51, 2001.
- GUROFF, R.M., NAKAO, Y., NOTAKE, K., ITO, T., SLISKI, A., GALLO, R.C. Natural antibodies to human retrovirus HTLV in cluster of Japanese patients with adult T-cell leukemia. **Science**, **215**: 975-978, 1982.
- GUTIÉRREZ, M., TAJADA, P., ALVAREZ, A., De 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 Medical of Virology**, **74**: 521-527, 2004.
- HA, T.T.T., MALJKOVIC, I., SWARTLING, S., CAM, P.D., CHIODI, F., LEITNER, T. HIV-1 CRF01\_AE in intravenous drug users in Hanoi, Vietnam. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **3**: 341-345, 2004.
- HAHN, B.H., SHAW, G.M., POPOVIC, M., LO MONICO, A., GALLO, R.C., WONG-STAAAL, F. Molecular cloning and analysis of a new variant of human T-cell leukemia virus (HTLV-Ib) from an African patient with adult T-cell leukemia. **International Journal of Câncer**, **34**: 613-618, 1984.

- HALL, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, **41**: 95-98, 1999.
- HALL, W.W., TAKAHASHI, H., LIU, C., KAPLAN, M.H., SHEEWIND, O., IJICHI, S., NAGASHIMA, K., GALLO, R.C. Multiple isolates and characteristics of human T-cell leukemia virus type II. **Journal of Virology**, **66**: 2456-2463, 1992.
- HALL, W.W., ZHU, S.W., HORAL, P., FURUTA, Y., ZAGAANY, G., VAHLNE, A. HTLV-II infection in Mongolia. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **10** : 443, 1994.
- HARRIS, B., TRUCHSESS, I.V., SCHATZL, H.M., DEVARE, S.G., JR, J.H. Genomic characterization of a novel HIV type 1 B/G intersubtype recombinant strain from an injecting drug user in Germany. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **7**: 654-660, 2005.
- HIERHOLZER, J., MONTANO, S., HOELSCHER, M., NEGRETE, M., HIERHOLZER, M., AVILA, M.M., CARRILLO, M.G., RUSSI, J.C., VINOLES, J., ALAVA, A., ACOSTA, M.E., GIANELLA, A., ANDRADE, R., SANCHEZ, J.L., CARRION, G., SANCHEZ, J.L., RUSSEL, K., ROBB, M., BIRX, MCCUTCHAN, F., CARR, J.K. Molecular epidemiology of HIV type 1 in Ecuador, Peru, Bolivia, Uruguay, and Argentina. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **10**: 1339-1350, 2002.
- HINO, S., YAMAGUCHI, K., KATAMINE, S., SUGIYAMA, H., AMAGASAKI, T., KINOSHITA, K., MIYAMOTO, T., Mother-to-child transmission of human T-cell leukemia virus type I. **Journal Cancer Research**, **76**: 474-480, 1985.

- 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., SCALF, R., SWENSON, S. High frequency of human T-cell leukemia virus type II infection in New Mexico blood donors: determination by sequence-specific oligonucleotide hybridization. **Blood**, **76**: 450-454, 1990.
- HJELLE, B., ZHU, S.W., TAKAHASHI, H., IJICHI, S., HALL, W.W. Endemic human T-cell leukemia virus type II infection in Southwestern US Indians involving two prototype variants of virus. **Journal of Infectious Diseases**, **168**: 737-740, 1993.
- HOELSCHER, M., KIM, B., MABOKO, L., MHALU, F., VON SONNENBURG, F.; BIRX, D. L., MCCUTCHAN, F.E. The UNAIDS Network for HIV isolation and characterization. High proportion of unrelated HIV-1 intersubtype recombinants in the Mbeya region of southwest Tanzania. **AIDS**, **15**: 1461-1470, 2001
- HOLGUÍN, A., ÁLVAREZ, A., SORIANO, V. High prevalence of HIV-1 subtype G and natural polymorphisms at protease gene among HIV-infected immigrants in Madrid. **AIDS**, **16**:1163-1170, 2002.
- HOLZMAYR, V., ZEKENG, L., KAPTUÉ, L., GURTLER, L., DEVARE, S.G., JR, J.H. Near-full-length genomic sequence of a Human immunodeficiency type 1 subtype G strain from Cameroon. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **5**: 414-419; 2005.
- HUSSEIN, M., ALMAZ ABEBE, GEORGIOS POLLAKIS, MARGREET BROUWER, BEYENE PETROS, ARNAUD L. FONTANET F. RINKE DE WIT. HIV-1 Subtype C in commercial sex workers in Addis Ababa, Ethiopia. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **23**: 120-127, 2000.

- IMIRIZALDU, J.J.Z., ESTEBAN, J.C.G., AXPE, I.R., CONCHA, T.P., JUANES, F.V., SUSAEETA, IA., CARRANCEJA, J.M.C. Post-transplantation HTLV-1 myelopathy in three recipients from a single donor. **Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry**, **74**: 1080-1084, 2003.
- INICIARDI, J.A., SURRATT, H.L., KURTZ, S.P. HIV, HBV, and HVC infections among drug-involved, Inner-City, Street Sex Workers in Miami, Florida. **Sexually Transmitted Infection**, **76**: 294-298, 2005.
- ISHAK, R., WILLIAM, J., HARRINGTON, J.R., AZEVEDO, NOBUTAKA, E., ISHAK, M.O.G., GUERREIRO, J.F., SANTOS, S.B., KUBO, T., MONKEN, C., ALEXANDRE, S., HALL, W.W. Identifacation of human T cell lymphotropic virus type Ila infection in the Kayapo, an indigenous population of Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **7**: 813-821, 1995.
- JANINI, L.M., TANURI, A., SCHECHTER, M., PERALTA, J.M., VICENTE, A.C.P., TORRE, N.D., PIENIACZEK, N.J., LUO, C., RAMOS, A., SORIANO, V., SCHOCHETMAN, G., RAYFIELD, M.A., PIENIACZEEK, D. Horizontal and vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1 dual infections caused by virus of subtypes B and C. **Journal of Infectious Diseases**, **177**: 227-231, 1996.
- JAWETZ, E., MELNICK, J.L., ADELBERG, E.A., BROOKS, G.F., BUTEL, J.S., ORSNTON, L.N. Vírus tumorais e oncogenes. In: **Microbiologia Médica**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991. p. 445-461.
- JETZT, A.E., YU, H., KLARMANN, G.J., RON, Y., PRESTON, B.D., DOUGHERTY, J.P: High rate of recombination throughout the human immunodeficiency virus type 1 genome. **Journal of Virology**, **32**: 1234-1240, 2000.

- KAKUDA, K., IKEMATSU, H., CHONG, W.L.Y., HAYASHI, J., KASHIWAGI, S.  
Molecular epidemiology of human T lymphotropic virus type 1 transmission in Okinawa, Japan. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, **66**: 404-408, 2002.
- KALYANARAMAN, V. S., SANRNGADHARAM, M. G., ROBERT-GUROFF, M., MIYOSHI, I. GOLDE, D. GALLO, R. C: A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II) associated wit a T-cell variant of hairy cell leukemia. **Science** **218**: 571-573, 1982.
- KANDATHIL, A.J., RAMALINGAM, S., KANNANGAI, R., DAVID, S., SRIDHARAN, G. Molecular epidemiology of HIV. **Indian Journal Medical Research**, **121**: 333-344, 2005.
- KASHUBA, A.D.M., DYER, J.R., KRAMER, L.M., RAASCH, R.H., ERON, J.J., COHEN, M.S. Antiretroviral-drug concentrations in semen: implications for sexual transmission of human immunodeficiency virus type 1. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, **43**: 1817-1826, 1999.
- KATO, S., SAITO, Y., TANAKA, R., HIRAISHI, Y., KITAMURA, N., MATSUMOTO, T., HANABUSA, H., KAMAKURA, M., IKEDA, Y., NEGISHI, M. Differential prevalence of HIV type 1 subtype B and CRF01\_AE among different sexual transmission groups in Tokyo, Japan, as revealed by subtype-specific PCR. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **19**: 1057-1063, 2003.
- KAZANJI, M., GESSAIN, A. Human T-cell lymphotropic virus types I and II (HTLV-I/II) in French Guiana: Clinical and Molecular epidemiology. **Cadernos de Saúde Pública**, **19**: 1227-1240, 2003.

- KAZANJI, M., LAVERGNE, A., POULIQUEN, J.F., MAGNIEN, C., BISSUEL, F., MARTY, C., COUPPIE, P., TALARMIN, A: Genetic diversity and phylogenetic analysis of human immunodeficiency virus type 1 subtypes circulating in French Guiana. **AIDS Research Human and Retroviruses**, **9**: 857-61, 2001.
- KELLEHER, A.D., LONG, C., HOLMES, E.C. Clustered mutations in HIV-1 gag are consistently required for escape from HLA- B27 restricted cytotoxic T lymphocyte responses. **Journal Experimental Medical**, **193**: 375-11; 2001.
- KHAMADI, S.A., OCHIENG, W., LIHANA, R.W., KINYUA, J., MURIUKI, J., MWANGI, J., LWEMBE, R., KIPTOO, M., OSMAN, S., LAGAT, N., PELLE, R., MUIGAI, A., CARTER, J.Y., OISHI, I., ICHIMURA, H., MWANIKI, D.L., OKOTH, F.A., MPOKE, S., SONGOK, E.M. HIV type 1 subtypes in circulation in Northern Kenya. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **21**: 810-814, 2005.
- KILMARX, P.H., LIMPAKARNJANARAT, K., KAEWKUNGWAL, J., SRISMITH, R., SAISORN, S., UTHAIVORAVIT, W., YOUNG, N.L., MASTRO, T.D. Disease progression and survival with human immunodeficiency virus type 1 subtype E infection among female sex workers in Thailand. **The Journal of Infectious diseases**, **181**: 1598-1606, 2000.
- KIM, A.A., SUN, L.P., CHHORVANN, C., LINDAN, C., GRIENSVEN, F.V., KILMAX, P.H., SIRIVONGRANGSON, P., LOUIE, J.K., LENG, B.H. SHAFER, K.P. High prevalence of HIV and sexually transmitted infections among indirect sex workers in Cambodia. **Sexually Transmitted Diseases**, **32**: 745-751, 2005.
- KIWELU, I.E., KOULINSKA, I.N., NKYA, W.M.M.M., SHAO, J., KAPICA, S., ESSEX, M. Identification of CRF10\_CD viruses among bar and hotel workers in

- Moshi, Northern Tanzania. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **21**: 897-900, 2005.
- KOCH, N., NDIHOKUBWAYO, J.B., YAHI, N., TOURRES, C., FANTINI, J., TAMALET, C. Genetic analysis of HIV type 1 strains in Bujumbura (Burundi): predominance of subtype C variant. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **17**: 269-273, 2001.
- KOYANAGI, ITOYAMA, Y., NAKAMURA, N., TAKAMATSU, K., KIRA, J., IWAMASA, T., GOTO, I., YAMAMOTO, N. In vivo infection of human T-cell leukemia virus type I in non-T cells. **Virology**, **196**: 25-33, 1993.
- KUMAR, K., TAMURA, K., NEI, M. **MEGA** (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*, V2.1), The Pennsylvania State University, University Park, 2001.
- KURBANOV, F., KONDO, M., TANAKA, Y., ZALALIEVA, M., GIASOVA, G., SHIMA, T., JOUNAI, N., YULDASHEVA, N., RUZIBAKIEV, R., MIZOKAMI, M., IMAI, M. Human immunodeficiency virus in Uzbekistan: epidemiological and genetic analyses. **AIDS Research Human Retroviruses**, **9**: 731-738, 2003.
- LAKE, J-A., CARR, J., FENG, F., MUNDY, L., BURELL, C., LI, P. The role of Vif during HIV-1 infection: interaction with novel host cellular factors. **Journal Clinical of Virology**, **26**: 143-152, 2003.
- LAL, R.B., RUDOLPH, D.L. Constitutive production of interleukin-6 and tumor necrosis factors- $\alpha$  from spontaneously proliferating T-cells in patients with human T-cell lymphotropic virus type-I/II. **Blood**, **78**: 571-574, 1991.
- LANCHY, J-M., ISEL, C., KEITH, G., GRICE, S.F.J., EHRESMANN, C., EHERSMANN, B., MARQUET, R. Dynamics of the HIV-1 reverse transcription

- complex during initiation of DNA synthesis. **Journal Biological and Chemical**, **275**: 12306-12312, 2000.
- 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.
- LEE, C.N., WANG, W.K., FAN, W.S., TWU, S.J., CHEN, S.C., SHENG, M.C., CHEN, M.Y. Determination of Human Immunodeficiency Virus type 1 subtypes in Taiwan by *vpu* gene analysis. **Journal of Clinical Microbiology**, **38**: 2468-2474, 2000.
- LEVASSEUR, R.J., SOUTHENR, S.O., SOUTHENR, P.J. Mammary epithelial cells support and transfer productive human T-cell lymphotropic virus infections. **Journal of Virology**, **1**: 214-223, 1998.
- LEVINE, P.H., JACOBSON, S., ELLITOR, R., CAVALLERO, A., COLCLOUGH, G., DORRY, C., KNIGGE, RM., DRUMMOND, J., NISHIMURA, M., TAYLOR, M.E., WIKTOR, S., SHAW, G.M. HTLV-II infection in Florida Indians. **AIDS Research and Retroviruses**, **9**: 123-127, 1993.
- LI, X.J., KUSAGAWA, S., XIA, X., YANG, C., WANG, Q., YOKOTA, Y., HOSHINA, Y., ONOGI, T., NOHTOMI, K., IMAMURA, Y., SHIINO, T., YANG, R., YAMAMOTO, N., BEN, K., TAKEBE, Y. Molecular epidemiology of the heterosexual HIV-1 transmission I Kunming, Yunnan Province of China suggests origin from the local IDU epidemic. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **21**: 977-980, 2005.

- LIBONATTI, O., LOMBARDI, V., BOXACA, M. Prevalência de anticuerpos anti-HTLV-I em adictos a drogas endovenosas em la Argentina. **Medicina**, **49**: 546-547, 1989.
- LIMPAKARNJANARAT, K., MASTRO, T.D., SAISORN, S., UTHAIVORAVIT, W., KAEWKUNGWAL, J., KORATTANA, S., YOUNG, N.L., MORSE, S.A., SCHMID, D.S., WENIGER, B.G., NIEBURG, P. HIV-1 and other sexually transmitted infections in a cohort of female sex workers in Chiang Rai, Thailand. **Sexually Transmitted Infection**, **75**: 30-35, 1999.
- LIU, H.F., VANDAMME, A.M., KAZADI, K., KARTON, H., DESMYTER, J., GOUBAU, P. Familial transmission and minimal sequence variability of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) in Zaire. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **10**: 1135-1142, 1994.
- LOCATELI, D., STOCO, P.H., GRISARD, E.R., PINTO, A.R., ZANETTI, C.R., GRISARD, E.C. Molecular Characterization of HIV-1 subtypes circulating in the Santa Catarina State, southern Brazil. **XVI National Meeting of Virology**, **10**: p309, 2005.
- LOPES, I.G.L., MIRANDA, D.S. **Estudo soropidemiológico da infecção por retrovírus (HIV-1 e HTLV-I/II) em prostitutas do centro comercial de Belém, Pará, Brasil**. Trabalho de Conclusão de Curso. Centro Federal de Educação Tecnológica do Pará, 2004, 46p.
- MACCORMACK, G.P., GLYNN, J.R., CRAMPIN, A.C., SIBANDE, F., MULAWA, D., BLISS, L., BROADBENT, P., ABARCA, K., PONNIGHAUS, J.M., FINE, P.E.M., CLEWLEY, J.P. Early evolution of the human immunodeficiency virus

- type 1 subtype C epidemic in rural Malawi. **Journal of Virology**, **76**: 12890-12899, 2002.
- MACHADO, A.C., COSTA, J.C., GIR, E., MORIYA, T.M., FIGUEREDO, J.F.C. Risco de infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) em profissionais de Saúde. **Boletim Epidemiológico**, 2002.
- MACHADO, L.F.A. **Epidemiologia molecular do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) nas cidades de Belém e Macapá (Amapá), Brasil. 2004.** Tese de Doutorado-Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém.
- MACHUCA, A., TUSET, C., SORIANO, V., CABALLERO, E., AGUILERA, A., LEJARAZU, R.O. Prevalence of HTLV infection in pregnant women in Spain. **Sexually Transmitted Diseases**, **76**: 366-370, 2000.
- MADANI, N., KABAT, D. Cellular and viral specificities of Human Immunodeficiency virus type 1 Vif Protein. **Journal of Virology**, **28**: 5982-5987, 2000.
- MAHÉ, A., MEERTENS, L., LY, F., SOW, P.S., DIOP, C.T., SAMB, N.D., DIOP, O.M., VALENSI, F., GESSAIN, A. Human T-cell leukemia/lymphoma virus type 1-associated infective dermatitis in Africa: a report of five cases from Senegal. **British Journal of Dermatology**, **150**: 958-965, 2004.
- MAHIEUX, R., IBRAHIM, F., MAUCLERE, P., HERVE, V., MICHEL, P., TEKAIA, F., CHAPPEY, C., GARIN, B., Van Der RYST, E., GUILLEMAIN, B., LEDRU, E., DELAPORTE, E., De The, G., GESSAIN, A. Molecular epidemiology of 58 new African human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I) strains: identification of a new distinct HTLV-I molecular subtype in Central Africa and in Pygmies. **Journal of Virology**, **71**: 1317-1333, 1997.

- MANDELBROT, L., LE CHENADEC, J., BERREBI, A., BONGAIN, A., BENIFLA, J.L. DELFRAAISSY, J.F. Perinatal HIV-1 transmission: interaction between zidovudine prophylaxis and mode of delivery in French Perinatal cohort. **The Journal of American Medical Association**, **280**: 55-60, 1999.
- MANEL, N., KIM, F.J., KINET, S., TAYLOR, N., SITBON, M., BATTINI, J.L. The ubiquitous glucose transporter GLUT-I is a receptor for HTLV. **Cell**, **115**: 449-459, 2003.
- MANIGART, O., COURGNAUD, V., SANOU, O., VALÉA, D., NAGOT, N., MEDA, N., DELAPORTE, E., PEETERS, M., Van de PERRE, P. HIV-1 superinfections in a cohort of commercial sex workers in Burkina Faso as assessed by an autologous heteroduplex mobility procedure. **AIDS**, **18**: 1645-1651, 2004.
- MARECHAL, V., CLAVEL, F., HEARD, J.M., SCHWARTZ, O. Cytosolic Gag p24 as an index of productive entry of human immunodeficiency virus type 1. **Journal of Virology**, **72**: 2208-2212, 1998.
- MARIA, M., KATALIN, B., BABIC, D.Z., TÓTH, G., CECH, G., VAJNA, B., TAUBER, T., SEME, K., TOMAZIC, J., VIDMAR, L., POLJAK, M., MINAROVITS, J. Genetic variability of gag and env regions of HIV type 1 strains circulating in Slovenia. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **1**: 109-113, 2006.
- MARTINEZ, A.M.B., BARBOSA, E.F., FERREIRA, P.C.P., CARDOSO, F.A., SILVEIRA, J., SASSI, G., SILVA, C.M., SIGNORINI, V.M., ANTUNES, C.M.F. Molecular epidemiology of HIV-1 in Rio Grande, RS, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **35**: 471-476, 2002.

- MAUCLÉRE, P., MATHIEUX, R., GARCIA-CALLEJA, J., SALLA, R., TEKAIA, F., MILLAN, J., DE THÉ, G., GESSAIN, A. A new HTLV type II subtype isolate in an HIV type I infected prostitute from Cameroon, Central Africa. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **11**: 989-993, 1995.
- MCCUTCHAN, F.E. Understanding the genetic diversity of HIV-1. **AIDS**, **14**: 31-44, 2000.
- MEDEIROS, L.B., LACERDA, H.R., CAVALCANTI, A.M.S., ALBURQUERQUE, M.F.P.M. Primary resistance of human immunodeficiency virus type 1 in a reference center in Recife, Pernambuco, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **101**: 845-849, 2006.
- MELLO, M.A.G., SILVA, A.M.O., FERRARO, G.J.A., PRATES, D.V.O., QUEIROZ, D.C.F., GALVÃO, B. Characterization of HIV-1 subtypes in the State of Bahia. **XVI National Meeting of Virology**, **10**: p302, 2005.
- MELONI, S.E., SANKELÉ, J-L., HAMEL, D.J., EISEN, G., GUÉYE-NDIAYE., MBOUP, S., KANKI, P.J. Molecular epidemiology of human immunodeficiency virus type 1 sub-subtype A3 in Senegal from 1988 to 2001. **Journal of Virology**, **11**: 12455-61, 2004.
- MILLER, G.A., MENDOZA, W., KRONE, M.R., MEZA, R., CACERES, C.F., COATES, T.J., KLAUSNER, D. Clients of female sex workers in Lima, Peru a bridge population for sexually transmitted disease/HIV transmission? **Sexually Transmitted Disease**, **31**: 337-342, 2004.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE: Guia de Manejo clínico do paciente com HTLV. Brasília-DF, 2004. <http://www.aids.gov.br>.

MIURA, T., FUKUNAGA, T., IGARASHI, T., YAMASHITA, M., IDO, E., FUNAHASHI, S.I., ISHIDA, T., WASHIO, K., UEDA, S., HASHIMOTO, K., YOSHIDA, M., OSAME, M., SINGHAL, B. S., ZENINOVIC, V., CARTIER, L., SONODA, S.,TAJIMA, K., INA, Y., GOJOBORI, T., HAYAMI, M. Phylogenetic subtypes of human T-lymphotropic virus type I and their relations to the anthropological background. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, **91**: 1124-1127, 1994.

MONTAL, M. Structure-function correlates of Vpu, a membrane protein of HIV-1. **Journal of Virology**, **552**: 47-52, 2003.

MONTANO, S.M., SANCHEZ, J.L., LAGUNA-TORRES, A., CUCHI, P. Prevalences, genotypes, and risk factors for HIV transmission in South America. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **40**: 57-64, 2005.

MONTEIRO, J.C., ALMEIDA, N.C.C., MARTINS, R.N., AZEVEDO, V.N., VALLINOTO, A.C.R., ISHAK, M.O.G., ISHAK, R., MACHADO, L.F.A. Prevalência da infecção pelo vírus da imunodeficiência Human (HIV) e pelo vírus da hepatite C (HCV) em mulheres profissionais do sexo na cidade de Belém, Pará, Brasil. **VI Congresso da Sociedade Brasileira de Doenças Sexualmente Transmissíveis e II Congresso Brasileiro de AIDS, 2006**.

MORAIS, V.O., FERREIRA, S.L. As vulnerabilidades feminina as DST/HIV/AIDS no trabalho sexual no beco da energia. **VI Congresso da Sociedade Brasileira de Doenças Sexualmente Transmissíveis e II Congresso Brasileiro de AIDS, 2006**.

MORRISON, L., WEISS, H.A., BUVÉ, A., CARAEL, M., ABEGA, S.C., KAONA, F., KANHONOU, L., CHEGE, J., HAYES, R.J. Commercial sex and the spread of HIV in four cities in Sub-Saharan Africa. **AIDS**, **15**: S61-S69, 2001.

- MOTA, A.C.A., NUNES, C.X., MELO, A.B., ROMEO, M., BOA SORTE, N., DOURADO, I., ALCÂNTARA, L.C.J., GALVÃO-CASTRO, B. A case-control study of HTLV-1 infection among blood donors in Salvador, Bahia, Brazil-associated risk factors and trend toward declining prevalence. **IX Simpósio Internacional sobre HTLV no Brasil**, 2006.
- MUNKANTA, M., HANDEMA, R., KASAI, H., GONDWE, C., DENG, X., YAMASHITA, A., ASAGI, T., YAMAMOTO, N., ITO, M., KASOLO, F., TERUNUMA, H. Predominance of three NF- $\kappa$ B binding sites in the long terminal repeat region of HIV type 1 C isolates from Zambia. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **21**: 901-906, 2005.
- MURPHY, E.L., WATABE, K., NASS, C.C., OWNBY, H., WILLIAMS, A., NEMO, G. Evidence among blood donors for a 30-year-old epidemic of human T lymphotropic virus type II infection in the United States. **Journal of Infectious Diseases**, **180**: 1777-83, 1999.
- MURPHY, F.A. Virus taxonomy. In: **Fundamental Virology**. Lippincott-Raven, Philadelphia, p. 15-57. 1996.
- NAKAMURA, N., TAMURA, S., OHSHIMA, K., TANAKA, M., ARAKAKI, M., MIYAUCHI, T. Prognosis of HTLV-I-positive renal transplant recipients. **Transplantation Proceedings**, **37**: 1779-1782, 2005.
- NAKANO, S., ANDO, Y., ICHIJO, M., MORIYAMA, Y., SAITO, S., SUGAMURA, K., HAIMUNA, Y. Search for possible routes of vertical and horizontal transmission of adult T-cell leukemia virus. **Transplantation Proceedings**, **75**: 1044-5, 1984.

- NYDEGGER, S., FOTI, M., DERDOWKI, A., SPEARMAN, P., THALI, M. HIV-1 egress is gated through late endosomal membranes. **Traffic**, **4**: 902-910, 2003.
- OHKURA, S., ISHIDA, T., BABU, P-G., KOYANAGI, Y., YAMAMOTO, N., MIURA, T., H, M. Phylogenetic heterogeneity of new HTLV type 1 isolates from Southern India in subgroup A. **AIDS Research Human and Retroviruses**, **21**: 325-330, 2005.
- OHKURA, S., YANAGIHARA, R., YAMASHITA, M., HAYAMI, M. Phylogenetic relatedness of HTLV type I from Bellona, a Polynesian outlier within the Solomon Islands, to HTLV type I from Japan and far Eastern Asia. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **15**: 1041-1045, 1999.
- OHSHIGE, K., MORIO, S., MIZUSHIMA, S., KITAMURA, K., TAJIMA, K., SUYAMA, A., USUKU, S., TIA, P., HOR, L.B., HENG, S., SAPHONN, V., TOCHIKUBO, O., SODA, K. Behavioural and serological human immunodeficiency virus risk factors among female commercial sex workers in Cambodia. **International Epidemiological Association**, **29**: 344-354, 2000.
- ORLLOF, S.L., SIMONDS, R.J., STEKETEE, R.W., LOUIS, M.E. Determinants of perinatal hiv-1 transmission. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, **39**: 386-395, 1996.
- OSMANOV, S., PATTOU, C., WALKER, N., ESPARZA, J. Estimated global distribution and regional spread of HIV-1 genetic subtypes in the year 2000. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **29**: 184-190, 2002.
- OTSUKI, K., GASTALDELLO, R., REMONDEGUI, C., VICENTE, A.C.P., GALLEGO, S. Variabilidade genética do HTLV-1 na Argentina. **VIII International Symposium about HTLV in Brazil**, 2005.

- OVERBAUGH, J., MILLER, A.D., EIDEN, M.V: Receptors and entry cofactors for retroviruses include single and multiple transmembrana-Spanning protein as well as newly described glycoposphadylinositol-anchored and secreted proteins.. **Molecular Biology Reviews**, **15**: 371-389, 2001.
- PANDO, M.A., BERINI, C., BIBINI, M., FERNANDEZ, M., REINAGE, E., MAULEN, S., MARONE, R., BIGLIONE, M., MONTANO, S.M., BAUTISTA, C.T., WEISSENBACHER, M., SANCHEZ, J.L., AVILA, M.M. Prevalence of HIV and other sexually transmitted infections among female commercial sex workers in Argentina. **American Journal Tropical Medicine Hygiene** **74**: 233-238, 2006.
- PAO, D., FISHER, M., HUÉ, S., DEAN, G., MURPHY, G., CANE, P.A., SABIN, C.A., PILLAY, D. Transmission of HIV-1 during primary infection: relationship to sexual risk and sexually transmitted infections. **AIDS**, **19**: 85-90, 2005.
- PAPA, A., PAPADIMITRIOU, E., PAPOTSI, A., KIOSSES, V., ANTONIADIS, A. HIV-1 subtypes and circulating recombinant forms (CRFs) in Northern Greece. **Virus Research**, **85**:85-93, 2002.
- PASSOS, A.D.C., FIGUEREDO, J.F.C. Fatores de risco para doenças sexualmente transmissíveis entre prostitutas e travestis de Ribeirão Preto (SP), Brasil. **Revista Panamericana de Saúde Pública**, **16**: 95-101, 2004.
- PEETERS, M., TOURE-KANE, C., NKENGASONG, J.N. Genetic diversity of HIV in Africa: impact on diagnosis, treatment, vaccine development and trials. **AIDS**, **17**: 2547-2560, 2003.

- PELCHEN-MATTHEWS, A., KRAMER, B., MARSH, M. Infectious HIV-1 assembles in late endosomes in primary macrophages. **Journal Cell Biology**, **162**: 443-455, 2003.
- PERRIN, L., KAISER, L., YERLY, S. Travel and the spread of HIV-1 genetic variants. **Lancet Infectious Diseases**, **3**: 22-27, 2003.
- PETERS, A.A., COULTHART, M.B., OGER, J.J.F., WATERS, D.J., CRANDAL, K.A., BAUMGARTNER, A.A., WARD, R.H., DEKABAN, G.A. HTLV Type I/II in British Columbia Amerindians: a seroprevalence study and sequence characterization of an HTLV type IIa isolate. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **16**: 883-892, 2000.
- PETERSEN, M., TOURE-KANE, C., NKENGASONG, J.N. Genetic diversity of HIV in Africa: impact on diagnosis, treatment vaccine development and trials. **AIDS**, **17**: 2547-2560, 2003.
- PETTERSON, T.L., SEMPLE, S.J., FRAGA, M., BUCARDO, J., DAVILA-FRAGA, W., STRATHDEE, S.A. An HIV-prevention intervention for sex workers in Tijuana, Mexico: a pilot study. **Hispanic Journal of Behavioral Science**, **27**: 82-100, 2005.
- PHILLIPS, M.L. New human retroviruses. **Environmental Health Perspectives**, **113**: 12, 2005.
- PINHEIRO, A.K.B., CARVALHO, A.L.S., LEITAO, N.M.A., NOBRE, R.N.S., BEZERRA, S.J.S. Uso do preservativo entre jovens freqüentadores de casas noturnas. **VI Congresso da Sociedade Brasileira de Doenças Sexualmente Transmissíveis e II Congresso Brasileiro de AIDS**, 2006.

- PINTO, M.E., STRUCHINER, C.J. A diversidade do HIV-1: uma ferramenta para o estudo da pandemia. **Cadernos de Saúde Pública**, **22**: 473-484, 2006.
- PIRES, I.C.P., MIRANDA, A.E.B. Prevalência e fatores correlatos de infecção pelo HIV e sífilis em prostitutas atendidas em Centro de Referência DST/AIDS. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, **20**: 151-154, 1998.
- POIESZ, B.J., POIESZ, M.J., CHOI, D. The human T-cell lymphoma/Lekemia viruses. **Cancer Investigation**, **21**: 253-277, 2003.
- POIESZ, B.J., RUSCETTUI, F. W., GAZDAR, A. F., BUNN, P. A., MINNA, J. A., AND GALLO, R. C. Detection and isolation of type C retrovirus particules from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, **77**: 7415-7419. 1980.
- POLLAKIS, G., ABEBE, A., KLIPHUIS, A., WIT, T.F.R., FISSEHA, B., TEGBARU, B., TEFAYE, G., NEGASSA, H., MENGISTU, Y., FONTANET, A.L., CORNELISSEN, M., GOUDSMIT, J. Recombination of HIV type 1C (C'/C'') in Ethiopia: possible link of eth HIV-1C' to subtype C sequences from the high-prevalence epidemics in India and Southern Africa. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **19**: 999-1008, 2003.
- POULIQUEN, J-F., HARDY, L., LAVERGNE, A., KAFILUDINE, E., KAZANJI, M. High seroprevalence of human T-cell lymphotropic virus type 1 in blood donors in Guyana and molecular and phylogenetic analysis of new strains in the Guyana shelf (Guyana, Suriname, and French Guiana). **Journal of Clinical Microbiology**, **42**: 2020-2026, 2004.

- POVEDA, E., BARREIRO, P., RODÉS, B., SORIANO, V. Enfuvirtide is active against HIV type 1 group O. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **21**: 583-585, 2005.
- RAMAREZ, 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.
- RAMJEE, G., GOUWS, L. Prevalence of HIV among truck drivers visiting sex workers in Kwazulu-Natal, South Africa. **Sexually Transmitted Diseases**, **29**: 4449, 2001.
- READ, J.S. Human milk, breastfeeding, and transmission of human immunodeficiency virus type 1 in the United States. American Academy of Pediatrics Committee on Pediatric AIDS. **Pediatrics**, **112**: 1196-1205, 2003.
- RENNER, J.D.P., LAURINO, J.P., MENNA-BARRETO, M., SCHMITT, V.M. Molecular evidence of intrafamilial transmission of Human T-lymphotropic virus type-II subtypes A and B in Porto Alegre, Southern Brazil. **XVI National Meeting of Virology**, **10**: p369, 2005.
- RHODES, T., LOWNDES, C., JUDD, A., MIKHAILOVA, L.A., SARANG, A., RYLKOV, A., TICHONOV, M., LEWIS, K., ULYANOVA, N., ALPATOVA, T., KARAVASHKIN, V., KHUTORSKY, M., HICKMAN, M., PARRY, J.V., RENTON, A: Explosive spread and high prevalence of HIV infection among injectin drug users in Togliatti City, Russia. **AIDS**, **16**: F25-F31, 2002.
- RIOS, M., FERNANDEZ, J., JARAMILLO, P., PAREDES, V., SANCHEZ, J.L., LAGUNA-TORRES, V.A., CARR, J.K., RAMIREZ, E. Molecular epidemiology of HIV type 1 in Chile: differential geographic and transmission route distribution of B and F subtypes. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **21**: 385-840, 2005.

- RIVERA-MORALES, L.G., NOVITSKY, V.A., TRUJILLO, R., MONTALVO, C.L., DOMINGUEZ, C.C., FLORES, L.F., GUILLEN, P.L., GILBERT, P., VANBERG, F., GUERRA, R.T., PADILLA, C.R., ASSEX, M. The molecular epidemiology of HIV type 1 of men in Mexico. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **17**: 87-92, 2001.
- ROQUE, P., ROBERTSON, D.L., SOUQUIÈRE, S., APETREI, C., NERRIENET, E., BARRÉ-SINOUSI, F., MULLER-TRUTWIN, M., SIMON, F. Phylogenetic characteristics of three new HIV-1 N strains and implications for the origin of group N. **AIDS**, **18**: 1371-1381, 2004.
- RUSSELL, K.L., CARCAMO, C., WATTS, D.C., SANCHEZ, J., GOTUZZO, E., EULER, A., BLANCO, J.C., GALEANO, A., ALAVA, A., MULLINS, J.I., HOLMES, K.K., CARR, J. Emerging genetic diversity of HIV-1 in South America. **AIDS**, **14**: 1785-1791, 2000.
- SAIDEL, T.J., JARLAIS, D.D., PEERAPATANAPOKIN, W., DORABJEE, J., SINGH, S., BROWN, T. Potential impact of HIV among IDUs on heterosexual transmission in Asian settings: scenarios from the Asian Epidemic Model. **International Journal of Drug Policy**, **14**: 63-74, 2003.
- 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., VAN DOOREN, S., AUDENAERT, E., DELAPORTE, E., GOUBAU, P., DESMYTER, J., VANDAMME, A.-M. Two new human T-lymphotropic virus type I phylogenetic subtypes in seroindeterminates, an Mbuti pygmy and a Gabonese, have closest relatives among African STLV-I strains. **Virology**, **246**: 277-284, 1998.

- 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.
- SANTOS, D.E.M. **Subtipagem genômica do HIV-1 a partir do gene env, em pacientes portadores do hiv-1 ou com SIDA/AIDS, na cidade de Belém-Pa, Brasil**. Dissertação de Mestrado. Belém, Pará, Universidade Federal do Pará, 1998. 118p.
- SANTOS, T.J.T., COSTA, C.M.C., VANDAMME, P.G.A-M., DESMYTER, J., VAN DOOREN, S., MOTA, M.S., COSTA, F.B.C., OLIVEIRA, A.C.S., GOMES, V.B.A.F., CARNEIRO-PROIETTI, A.B., BRUIN, V.M.S., SOUSA, F.C.F., ORIÁ, R.B. Western Blot seroindeterminate individuals for human T-lymphotropic virus 1/2 (HTLV-1/2) in Fortaleza (Brazil): a serological and molecular diagnostic and epidemiological approach. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, **7**: 202-209, 2003.
- SAWAYA, B.E., KHALILI, K., GORDON, J., TAUBES, R., AMINI, S. Cooperative interaction between HIV-1 regulatory proteins Tat and Vpr modulates transcription of the viral genome. **Journal Biological Chemical**, **275**: 35209-35214, 2000.
- SCARLATA, S., CARTER, C. Role of HIV-1 Gag domains in viral assembly. **Biochemical Biophysical Acta**, **1614**: 62-72, 2003.
- SCHREINER, L., PAIM, L.L., RAMOS, F., FILHO, E.V.C., MARTINS, D.M., JUNIOR, C.L.S., BAÚ, M.C., CARDINAL, T.M., FURTADO, N.R., PICON, P. Prevalência de sintomas depressivos em uma amostra de prostitutas de Porto Alegre. **Revista de Psiquiatria**, **26**: 13-20, 2004.

- SEDGH, G., SPIEGELMAN, D., LARSEN, U., MSAMANGA, G., FAWZI, W.W.  
Breastfeeding and maternal HIV-1 disease progression and mortality. **AIDS**, **18**:  
1043-1049, 2004.
- SEGURADO, A.C.C., BIASUTTI, C., ZEIGLER, R., RODRIGUES, C., DAMAS,  
C.D., JORGE, M.L.S.G., MACHIORI, P.E. Identification of human T-lymphotropic  
virus type I (HTLV-I) subtypes using Restricted Fragment Length Polimorphism in  
a cohort of assymptomatic carriers and patients with HTLV-I associated  
myelopathy/tropical spastic paraparesis from São Paulo, Brazil. **Memórias do  
Instituto Oswaldo Cruz**, **97**: 329-333, 2002.
- SEIKI, M., HATTARI, 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**:3618-3622, 1983.
- SENGUPTA, S., JANA, S., ROY, P., SARKAR, K., BHATTACHARYA, S.K.,  
CHAKRABARTI, S. Phylogenetic analysis of p24-p7 region of the Human  
Immunodeficiency Virus type 1 *gag* gene to determine subtype distribution among  
female sex workers in Calcutta, India. **Journal of Clinical Microbiology**, **43**: 5787-  
5791, 2005b.
- SENGUPTA, S., JANA, S., SARKAR, K., BHATTACHARYA, S.K.,  
CHAKRABARTI, S. Determintion of Gag subtypes of HIV type 1 detected among  
female sex workers in Calcutta, India. **AIDS Research and Human Retroviruses**  
**21**: 806-809, 2005c.

- SENGUPTA, S., KHETAWAT, D., JANA, S., SARKAR, K., BHATTACHARYA, S.K., CAHKRABARTI, S. Polymorphism of HIV-1 *gag* (p17) gene from female sex workers in Calcutta, India. **Archives of Virology**, 20: 2005a.
- SERVAIS, J., LAMBERT, C., KARITA, E., VANHOVE, D., FISCHER, A., BAURITH, T., SCHMIT, J-C., SCHNEIDER, F., HEMMER, R., ARENDT, V. HIV type 1 *pol* gene diversity and archived nevirapine resistance mutation in pregnant women in Rwanda. **AIDS Research and Human Retroviruses** 3: 279-283, 2004.
- SHEPHERD, B.E., ROSSINI, A.J., SOTO, R.J., RIVERA, I.L., MULLINS, J.I. Sampling designs for HIV molecular epidemiology with application to Honduras. **AIDS Research and Human Retroviruses** 21: 907-914, 2005.
- SHERMAN, M., GREENE, W.C. Slipping through the door: HIV entry into the nucleus. **Microbes and Infection**, 4: 67-73, 2002.
- 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.
- SHINDO, N., ALCANTARA, L.C.J., DOOREN, S.V., SALEMI, M., COSTA, M.C.R., KASHIMA, S., COVAS, D.T., TEVA, A., PELLEGRINI, M., VANDAMME, A-M., GALVÃO-CASTRO: Human retroviruses (HIV and HTLV) in Brazilian Indians: seroepidemiological study and molecular epidemiology of HTLV type 2 isolates. **AIDS Research and Human Retroviruses**, 18: 71-78, 2002.

- SIERRA, S., HUPFER, B., KAISER, R. Basics of the virology of HIV-1 and its replication. **Journal of Clinical Virology**, **34**: 233-244, 2005.
- SILVA, A.F., ALMEIDA, C., MARTINS, C.H., 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**: 249-255, 2005.
- SILVA, A.R.V. O impacto das ações de prevenção em AIDS em mulheres profissionais do sexo. **VI Congresso da Sociedade Brasileira de Doenças Sexualmente Transmissíveis e II Congresso Brasileiro de AIDS, 2006**.
- SINGH, S., MILLS, E., HONEYMAN, S., SUVEDI, B.K., PANT, N.P. HIV in Nepal: is the violent conflict fuelling the epidemic? **Plos Medicine**, **2**: 075-0709, 2005.
- SNOECK, J., VAN DOOREN, S., VAN LAETHEM, K., DERDELINCKX, I., VAN WIJNGAERDEN, E., CLERCQ, E., VANDAMME, A-M. Prevalence and origin of HIV-1 group M subtypes among patients attending a Belgian hospital in 1999. **Virus Research**, **85**: 95-107, 2002.
- SOARES, E.A.J.M., SANTOS, R.P., PELLEGRINI, J.A., SPRINZ, E., TANURI, A., SOARES, M.A. Epidemiologic and molecular characterization of Human Immunodeficiency Virus type 1 in southern Brazil. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **34**: 520-526, 2003.
- SÓUZA, G.F., MAGALHÃES, S.M.M., COSTA, C.M.C., FILHO, F.D.R., MOTA, R.M.S. Soroprevalência e perfil imunofenotípico de células linfóides T em indivíduos soropositivos para o vírus linfotrópico de células T humanas. **Revista Brasileira de Hematologia Hemoterapia**, **25**: 33-38, 2003.

- SOUZA, L.A., LOPES, I.G.L., MAIA, E.L.M., AZEVEDO, V.N., MACHADO, L.F.A., ISHAK, 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**: 504-506, 2006.
- SPITTAL, P.M., CRAIB, K.J.P., WOOD, E., LALIBERTÉ, N., LI, K., TYNDALL, M.W., O'SHAUGHNESSY, M.V., SCHECHTER, M.T. Risk factors for elevated HIV incidence rates among female injection drug users in Vancouver. **Journal of the American Medical Association**, **166**: 894-899, 2002.
- SWITZER, W.M., PIENIAZEK, D., SWANSON, P., SANDAL, H.H., SORIANO, V., KHABBAZ, R.F., KAPLAN, J.E., LAL, R.B., HENEINE, W. Phylogenetic relationship and geographic virus type II subtypes. **Journal of Virology**, **69**: 621-632, 1995.
- TABOADA, R.B., CANTERO, A.S., REGUEIRO, T.L. SIDA: estudio en dos provincias cubana. **Revista Cubana Higiene e Epidemiologia**, **38**: 43-37, 2000.
- TAJIMA, K., TOMINAGA, S., SUCHI, T., KAWAGOE, T., KOMODA, H., HIMUNA, Y., ODA, T., FUJITA, K. Epidemiological analysis of the distribution of antibody to adult T-cell leukemia-virus-associated antigen: possible horizontal transmission of adult T cell-leukemia virus. **Gann** **73**: 893-901, 1982.
- TAMIM, H., MUSHARRAFIEH, U., RAMIA, S., ALMAWI, W.Y., AL-JISR, T., AYOUB, T., MAJZOUB, M.N., KAZMA, H., BAZ, E.K. Is seroprevalence of HTLV-I/II among blood donors in Lebanon relevant? **American Journal Infection Control**, **32**: 220-223, 2004.

- TANGY, F. Molecular Biology of HTLV-I. In: **HTLV, truths and questions**. Zaninovic, V. (editors). Colombia, Cali, Feriva Editores, 1996. p. 1-13.
- TANURI, A., VICENTE, A.C.P., OTSUKI, K., RAMOS, C.A., FERREIRA JR, O.C., SCHECHTER, M., JANINI, L.M., PIENIAZEK, D., RAYFIELD, M.A. Genetic variation and susceptibilities to protease inhibitors among subtype B and F isolates in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, **43**: 235-258, 1999.
- TATT, I.D., BARLOW, K.L., CLEWLEY, J.P., GILL, O.N., PARRY, J.V. Surveillance of HIV-1 subtypes among heterosexuals in England and Wales, 1997-2000. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **36**: 1092-1099, 2004.
- TAYLOR, G.P. The epidemiology and clinical impact of HTLV infection in Europe. **AIDS**, **1**: 195-204, 1999.
- TEE, K.K., SAW, T.L., PON, C.K., KAMARULZAMAN, A., NG, K.P. The evolving molecular epidemiology of HIV type 1 among injecting drug users (IDUs) in Malaysia. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **12**: 1046-1050, 2005.
- TEIXEIRA, S.L.M., BASTOS, F.I., TELLES, P.R., HACKER, M.A., BRIGIDO, L.F., OLIVEIRA, C.A.F., BONGERTZ, V., MORGADO, M.G. HIV-1 infection among injection and ex-injection drug users from Rio de Janeiro, Brazil: prevalence, estimated incidence and genetic diversity. **Journal Clinical Virology**, **31**: 221-226, 2004.
- TIRELLI, U., SPINA, M. HIV-1 infection and prostitutes. **Lancet**, **351**: 70, 1998.
- TONI, T., ADJÉ-TOURÉ, C., VIDAL, N., MINGA, A., HUET, C., BORGER, M.Y., RECORDON-PINSON, P., MASQUELIER, B., NOLAN, M., NKENGASONG, J., FLEURY, H.J., DELAPORTE, E., PEETERS, M. Presence of CRF09-cpx and

- complex CRF02-AG/CRF09-cpx recombinant HIV type 1 strains in Côte d'Ivoire, west Africa. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **21**: 667-672, 2005.
- TORO C, RODÉS B, BASSANI S, JIMÉNEZ V, TUSET C, BRUGAL MT, FUENT L, SORIANO V. Molecular epidemiology of HTLV-2 infection among intravenous drug users in Spain. **Journal of Clinical Virology**, **33**: 65-70, 2005.
- TOVANABUTRA, S. BAYRER, C., SAKKHACHORNPHOP, S., RAZAR, M.H., RAMOS, G.L., VONGCHAK, T., RUNGRUENTGTHANAKIT, K., SAOKHIEO, P., TEJAFONG, K., KIM, B., SOUZA, M., ROBB, M.L., BIRX, D.L., JITTIWUTKARN, J., CELENTANO, D.D., MCCUTCHAN, F.E. The changing molecular epidemiology of HIV type 1 among northern Thai drug users, 1999 to 2002. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **20**: 465-475, 2004.
- TOVANABUTRA, S., BRODINE, S.K., MASCOLA, J.R., SANKALE, J.L., SANDERS-BUELL, E., KIM, B., BIRX, D.L., McCUTCHAN, F.E. Characterization of complete HIV type 1 genomes from non-B subtype infections in U.S. military personnel. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **34**: 520-526, 2005.
- TRAMUTO, F., VITALE, F., BONURA, F., ROMANO, N. Detection of HIV type 1 non-B subtypes in Sicily, Italy. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **20**: 251-254, 2004.
- TRAN, T.N., DETELS, R., LONG, H.T., PHUNG, V., LAN, H.P. HIV infection and risk characteristics among Female Sex Workers in Hanoi, Vietnam. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **39**: 581-586, 2005.
- TREVISOL, F.S., SILVA, M.V. HIV frequency among female sex workers in Imbituba, Santa Catarina, Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, **9**: 500-505, 2005.

- TRIPATHY, S.P., KULKARNI, S.S., JADHAY, S.D., AGNIHOTRI, K.D., JERE, A.J., KURLE, S.N., BHATTACHARYA, S.K., SINGH, K., TRIPATHY, S.P., PARANJAPE, R.S. Subtype B and subtype C HIV type 1 recombinants in the Northeastern State of Manipur, India. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **21**: 152-157, 2005.
- TURNER, B.G., SUMMERS, M. F. Structural biology of HIV. **Journal Molecular Biology**, **285**: 1-32, 1999.
- UNAIDS/WHO. AIDS epidemic update, special report on HIV prevention <http://www.unaids.org>, 2005.
- UNAIDS/WHO. AIDS epidemic update, special report on HIV prevention <http://www.unaids.org>, 2006.
- VACHOT, L., ATAMAN-ONAL, Y., TERRAT, C., DURANT, P.Y., PONCEAU, B., BIRON, F., VERRIER, B. Retrospective study to time the introduction of HIV type 1 non-B subtypes in Lyon, France, using env genes obtained from primary infection samples. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **20**: 687-691, 2004.
- VALLEJO, A., CAPOTE, F.J., GUIADO, F., LEAL, M., CALDERÓN, E. Cosmopolitan HTLV-Ia subtype among Spanish native patients. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **19**: 609-611, 2003.
- VALLET, S., LEGRAND-QUILLIEN, M-C., ROGER, C., BELLEIN, V., PERFEZOU, P., SAINT-MARTIN, L., GARRE, M., BRUN-VEZINET, F., PICARD, B. HIV-1 genetic diversity in Western Brittany, France. **Immunological Medical Microbiology**, **34**: 65-71, 2002.
- VALLINOTO, A.C.R., AZEVEDO, V.N., SANTOS, D.E.M., CANICEIRO, S., MESQUITA, F.C.L., HALL, W.W., ISHAK, M.O.G., ISHAK, R. Serological

- evidence of HTLV-I and HTLV-II coinfections in HIV-1 positive patients in Belém, state of Pará, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **93**: 407-409, 1998.
- 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**: 103-105, 2006.
- VALLINOTO, A.C.R., MUTO, N.A., PONTES, G.S., MACHADO, L.F.A., AZEVEDO, V.N., SANTOS, S.E.B., RIBEIRO-DOS-SANTOS, A.K.C., ISHAK, M.O.G., ISHAK, R. Serological and molecular evidence of HTLV-I infections among Japanese immigrants living in the Amazon region of Brazil. **Journal of Infectious Diseases**, **57**: 156-159, 2004.
- VAN DOOREN, S., GOTUZZO, E., SALEMI, M., WATTS, D., AUDENAERT, E., DUWE, S., ELLERBROK, H., GRASSMANN, R., HAGELBERG, E., DESMYTER, J., VANDAMME, A.-M. Evidence for post-columbian introduction of human T-cell lymphotropic virus in Latin America. **Journal of General Virology**, **79**: 2695-2708, 1998.
- VAN DYKE, R.B., HENEINE, W., PERRIN, M.E., RUDOLPH, D., STARSZAK, E., WOODS, T., SWITZER, W.M., KAPLAN, J.E. Mother-to-child transmission of human T-lymphotropic virus type II. **Journal Pediatric**, **127**: 924-928, 1995.
- VAN VELDHUISEN, P.C., WALTERS, M., SAWADA, T., LEVINE, P.H., WILKS, R., HANCHARD, B., HISADA, M. Seroincidence of Human T-lymphotropic Virus

- type I infection and characterization of seroconverters in Jamaican Food Handlers, **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **33**: 387-392, 2003.
- VANDAMME AM, BERTAZZONI U, SALEME M. Evolutionary strategies of human T-cell lymphotropic virus type II. **Gene**, **30**:171-183. 2000
- VANDAMME, A.M., LIU, H.F., GOUBAU, P., DESMYTER, J. Primate T-lymphotropic virus type I LTR sequence variation and phylogentic analysis: compatibility with an African origin of PTLV-I. **Virology**, **202**: 212-223, 1994.
- VANDAMME, A.-M., VAN BRUSSEL, M., LIU, H.-F., SALEMI, M., VAN LAETHEM, K., VANRANST, M., MICELS, L., DESMYTER, J., GOUBAU, P. African origin of human T-lymphotropic virus type 2 (HTLV-II) supported by a new subtype HTLV-II<sub>d</sub> in Zairean Bambuti Efe Pygmies, **Journal of Virology**, **72**: 4327-4340. 1998.
- VELAVERDE-DUNOIS, K.G., GUIMARAES, M.L., LA FUENTE, C., ANDRADE, R., AREVALO, R., PANTOJA, S., MARISCAL, R., SANDOVAL, R., IRIARTE, F., CHAMON, V., MELGAR, M.L., CARVAJAL, R., MORGADO, M.G. Molecular characterization of human immunodeficiency virus type 1 infected individuals from Bolivia reveals the presence two distinct subtypes B and F. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **16**: 1921-1926, 2000.
- VICENTE, A.C.P., OTSUKI, K., SILVA, E., IÑIGUEZ, A. Molecular epidemiology of HTLV-1 and HTLV-2 in Brazilian urban areas. **VIII International Symposium about HTLV in Brazil**, 2005.
- VICENTE, A.C.P., OTSUKI, K., SILVA, E.A., IÑIGUEZ, A.M. Molecular epidemiology of human T-lymphotropic virus type 2 in Brazil: an update. **IX Simpósio Internacional sobre HTLV no Brasil**, 2006.

- VICENTE, A.C.P., OTSUKI, K., SILVA, N.B., CASTILHO, M.C., BARROS, F.S., PIENIAZEK, D., HU, D., RAYFIELD, M.A., BRETAS, G., TANURI, A. The HIV epidemic in the Amazon Basin is driven by prototypic and recombinant HIV-1 subtypes B and F. **Journal Acquired Immunology Deficiency Syndromes** **23**: 327-331, 2000.
- VIDAL, N., MARTINE PEETERS, CLAIRE MULANGA-KABEYA, NZILA NZILAMBI, DAVID ROBERTSON, WANTABALA ILUNGA, HUROGO SEMA, KAZADI TSHIMANGA, BENI BONGO, AND DELAPORTE. Unprecedented degree of Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1) grup M genetic diversity in the Democratic republic of Congo suggests that the HIV-1 pandemic originated in Central Africa. **Journal of Virology**, **22**: 10498-10507, 2000.
- VIDAL, N., MULANGA, C., BAZAPEO, S.E., MWAMBA, J.K., TSHIMPAKA, J-W., KASHI, M., MAMA, N., LAURENT, C., LAPIRA, F., DELAPARTE, E., PEETERS, M: Distribution of HIV-1 variants in the Democratic Republic of Congo suggests increase of subtype C in Kinshasa between 1997 and 2002. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **40**: 456-462, 2005
- VIDAL, N., MULANGA, C., BAZEPEO, S., LEPIRA, F., DELAPORTE, E., PEETERS, M. Identification and molecular characterization of subtype A4 in Central Africa. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **22**: 182-187, 2006.
- VINOLES. J, SERRA, M., RUSSI, J.C, RUCHANSKY.D, SOSA-ESTANIS, MONTANO.S.M, CARRION.G, EYZAGUIRRE.L.M, CARR.J.K, OLSON.J.G, BAUTISTA, C.T, SANCHEZ. J.L, WEISSENBACHER.M. Soroincidence and phylogeny of human immunodeficiency virus infections in a cohort of commercial

- sex workers in Montevideo, Uruguay. **Journal Tropical Medical Hygiene** **72**: 495-500, 2005.
- VOYLES, B. A. **The Biology of Viruses**. St. Louis, Missouri, Mosby, 1993. 386p.
- WAINBERG, M.A. HIV-1 subtype distribution and the problem of drug resistance. **AIDS**, **18**: S63-S68, 2004.
- WATTEL, E., VARTANIAN, J.P., PANNETIER, C., WAIN-HOBSON, S. Clonal expansion of human T-cell leukemia virus type 1-infected cells in asymptomatic and symptomatic carries without malignancy. **Journal of Virology**, **69**: 2863-2868, 1995.
- WEI, X., GHOSH, S. K., TAYLOR, M. E., JOHNSON, V. A., EMINI, E. A., DEUTSCH, P., LIFSON, J. D., BONHOEFFER, S., NOWAK, M. A., HAHN, B. H. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. **Nature**, **373**: 117-122, 1995.
- WENZEL, S.L., TUCKER, J.S. Reemphasizing the context of women's risk for HIV/AIDS in the United States. **Women's Health Issues**, **15**: 154-156, 2005.
- WHITE, D.O., FENNER, F.J., **Medical Virology**. California, Academic Press, 1994. 603p.
- WIGG, M.D. Vírus da Imunodeficiência humana. In: **Introdução a Virologia Humana**. Editora Guanabara Koogan S.A. pp: 183-197, 2002.
- WOLFE, N.D., HENEINE W., CARR J.K., GARCIA A.D, SHANMUGAM V., TAMOUFE U., TORIMIRO J.N., PROSSER A.T., LEBRETON M., MPOUDI-NGOLE 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 United States of America**, **102**: 7994-7999, 2005.
- WOMACK, C., ROTH, W., NEWMAN, C., RISSING, J.P., LOVELL, R., HABURCHAK, D., ESSEX, M., BOND, V.C. Identification of non-B human immunodeficiency type 1 subtypes in rural Georgia. **Journal of Infectious Diseases**, **183**: 138-142, 2001.
- WYATT, R., SODROSKI, J. The HIV-1 envelope glycoproteins: fusogens, antigens, and immunogens. **Science**, **280**: 1884-1888, 1998.
- YAMASHITA, M., ISHIDA, T., OHKURA, S., MIURA, T., HAYAMI, M. Phylogenetic characterization of a new HTLV type 1 from Ainu in Japan. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **8**: 783-787, 2001.
- YANG, C., LI, M., MOKILI, J.L.K., WINTER, J., LUBAKI, N.M., MWANDAGALIRWA, K.M., KASALI, M.J., LOSOMA, A.J., QUINN, T.C., BOLLINGER, R.C., LAL, R.B. Genetic diversification and recombination of HIV type 1 group M in Kinshasa, Democratic Republic of Congo. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **21**: 661-666, 2005.
- YANG, C., LI, M., NEWMAN, R.D., SHI, Y-P., AYSI, J., EIJK, A.M.V., OTIENO, J., MISORE, A.O., STEKETEE, R.W., NAHLEN, J., LAL, R.B. Genetic diversity of HIV-1 in western Kenya: subtype-specific differences in mother-to-child transmission. **AIDS**, **17**: 1667-1674, 2003.
- YASUNAGA, J., SAKAI, T., NOSAKA, K., ETOH, K., TAMIYA, S., KOGA, S., MITA, S., UCHINO, M., MITSUYA, H., MATSUOTKA, M. Impaired production of naive T lymphocytes in human T-cell leukemia virus type I infected individuals: its implications in the immunodeficient state. **Blood**, **97**: 3177-3183, 2001.

- YU, X-F, LIU, W., CHEN, J., KONG, W., KONG, W., LIU, B., LIU, B., ZHU, Q., LIANG, F., MCCUTCHAN, F., PIYASIRISILP, S., LAI, S. Maintaining low HIV type 1 Env Genetic diversity among injection drug users infected with a B/C recombinant and CRF01\_AE HIV type 1 in Southern China. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **18**: 167-170, 2002.
- ZEHENDER, G., COLASANTE, C., CHIARA, M., BERNINI, F., SAVASI, V., PERSICO, T., MERLI, S., RIDOLFO, A., SANTAMBROGIO, S., MORONI, M., GALLI, M. High prevalence of Human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) in immigrant male-to-female transsexual Sex Workers with HIV-1 infection. **Journal of Medical Virology**, **74**: 207-215, 2004.
- ZENNOU, V., C. PETIT, D.GUETARD, U. NERHBASS, L. MONTAGNIER, P. CHARNEAU: HIV-1 Genoma nuclear import is mediated by a central DNA Flap. **Cell**, **101**: 173-185, 2000.
- ZERVOU, E.K., BOUMBA, D.S., LIASKOS, C.H., GEORGIADOU, S., TSIANOS, E.V., DALEKOS, G.N. Low prevalence of HCV, HIV, and HTLV-I/II infection markers in northwestern Greece: results of a 3-year prospective donor study (1995-1997). **European Journal of Internal Medicine**, **14**: 39-44, 2003.
- ZETTERBERG, V., USTINA, V., LIITSOLA, K., ZILMER, K., KALIKOVA, N., SEVASTIANOVA, K., LEINIKKI, P., SALMINEN, M.O. Two viral strains and a possible novel recombinant are responsible for the explosive injecting drug use-associated HIV type 1 epidemic in Estonia. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **20**: 1148-1156, 2004.
- ZHANG, H; POMARANTZ, R.J; DORNADULA, G; SUN, Y. Human immunodeficiency virus type 1 Vif protein is an integral component of an mRNP

complex of viral RNA and could be involved in the viral RNA folding and packaging process. **Journal of Virology**, **78**: 8252-61. 2000.

ZHANG, M., WILBE, K., WOLFE, N.D., GASCHEN, B., CARR, J.K., LEITER, T. HIV type 1 CRF13\_cpx revisited: identification of a new sequence from Cameroon and signal for subtype J2. **AIDS Research Human Retroviruses**, **11**: 955-960; 2005a.

ZHENG, X., TIAN, C., CHOI, K.H. Injecting drug use and HIV infection in southwest China. **AIDS**, **8**: 1141-1147, 1994.

ZUNT, J.R., DEZZUTTI, C.S., MOTANO, S.M., THOMAS, K.K., ALARCÓN, J.O.V., QUIJANO, E., COURTOIS, B.N., SANCHEZ, J.L., CAMPOS, P., GOTUZZO, E., GUENTHNER, P.C., LAL, R.B., HOLMES, K.K. Cervical shedding of Human T Cell Lymphotropic Virus type I is associated with cervicitis. **The Journal of Infectious Diseases**, **186**: 1669-1672, 2002.

**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
LABORATÓRIO DE VIROLOGIA**

Protuário nº : \_\_\_\_\_ Protocolo nº : \_\_\_\_\_ Data da coleta: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
Procedência : \_\_\_\_\_

Nome da paciente: \_\_\_\_\_ Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Estado Civil: 1. casada 2. solteira 3. separada 4. viúva filhos? a) sim b) não quantos? \_\_\_\_\_

Numero de gestações: \_\_\_\_\_ amamentou? a) sim b) não fez pré-natal de quantos? \_\_\_\_\_

Aborto? a) sim b) não quantos? \_\_\_\_\_ tempo de gestação? \_\_\_\_\_

Já fez teste para AIDS? a) sim b) não quantos? \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Município: \_\_\_\_\_ naturalidade: \_\_\_\_\_

Município de residência anterior (se reside a menos de cinco anos no endereço atual): \_\_\_\_\_

Escolaridade:

- |                       |                       |                       |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1. não alfabetizado   | 2. alfabetizado       | 3. 1º grau incompleto |
| 4. 1º grau completo   | 5. 2º grau incompleto | 6. 2º grau completo   |
| 7. 3º grau incompleto | 8. 3º grau completo   |                       |

Profissão: \_\_\_\_\_ Renda familiar: \_\_\_\_\_

Tipo de moradia:

Já usou algum tipo de droga? a) álcool b) cigarro c) maconha d) outros: \_\_\_\_\_

Uso de droga endovenosa alguma vez? 1. sim, mas não quer comentar a) sim b) não

Há quanto tempo faz uso de DE? \_\_\_\_\_ parou ( ) não ( ) ultima vez que usou \_\_\_\_\_

Como você costumava fazer uso de seringa e agulha:

1. sempre sozinho 2. dividia com pessoa fixa 3. dividia com mais de uma pessoa

Você já fez uso de droga 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 parceiros (a) heterossexual 2. com parceiros bissexual 3. com parceiros (a) homossexual  
4. com parceiros (a) usuário de drogas não-injetáveis 5. com parceiros (a) usuário de drogas EV  
6. com múltiplos (a) parceiros (a) 7. com parceiros (a) transfundido 8. com parceiros hemofílicos  
9. com parceiros portador do HIV

Numero de parceiros :

Por semana: \_\_\_\_\_ por mês: \_\_\_\_\_

Parceiro (s) de ou outros estados? 1. sim 2. não 3. não sabe Se sim, quais estados \_\_\_\_\_

Parceiro (s) de ou outros países? 1. sim 2. não 3. não sabe Se sim, quais estados \_\_\_\_\_

Sexo anal:

1. sempre 2. às vezes 3. nunca 4. não quer comentar

Sexo com trabalhador (a) comercial do sexo?

1. sim 2. não 3. não que comentar

Uso de preservativo Sexo anal:

1. sempre 2. às vezes 3. nunca 4. não quer comentar

Já teve hepatite? 1. sim 2. não 3. não sabe qual hepatite? \_\_\_\_\_

Histórico de DST: 1. sim 2. não 3. não sabe Quais: \_\_\_\_\_

**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
LABORATÓRIO DE VIROLOGIA**

**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Estou sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa sobre Avaliação da prevalência de doenças sexualmente transmissíveis (DST) e AIDS em prostitutas no município de Barcarena, Pará, Brasil, que será desenvolvida pelas seguintes instituições: Universidade Federal do Pará e secretária Municipal de Saúde do Município de Barcarena.

Para que eu decida participar ou não da pesquisa me foram prestadas as seguintes informações:

1. O pesquisador responsável pela pesquisa é o Prof. Dr. Luiz Fernando Almeida Machado, Biomédico, Professor Adjunto da Universidade Federal do Pará e o estudante de mestrado Ronaldo Lopes de Sousa.
2. O objetivo da pesquisa é a vigilância do HIV-1 e das DST prevalentes no Município.
3. Durante a pesquisa o paciente deverá responder a um questionário, depois será submetido à coleta de sangue para exame de laboratório.
4. Essa pesquisa não oferece riscos, porque as praticas são de uso rotineiro. Uma pequena quantidade de sangue (5 mL) será coletada para detecção de marcadores genéticos do vírus e do hospedeiro.
5. serão utilizados descartáveis, não oferecendo risco para a pessoa.
6. 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.
7. Não haverá nenhum tipo de despesas para participação da pesquisa, assim como não haverá nenhuma forma de pagamento para participação.
8. O grande benefício desta pesquisa para todos os que participam, é possibilitar um melhor entendimento sobre os subtipos do HIV-1 circulantes em nossa região, as possíveis associações com marcadores genéticos de resistência e o impacto das co-infecções na progressão para SIDA/AIDS.
9. A participação na pesquisa é sigilosa, isto significa que somente os pesquisadores ficarão sabendo de sua participação. Os dados utilizados na pesquisa terão uso exclusivo neste trabalho, sem a identificação individual da participante.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Pesquisador Responsável

**CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Declaro que li as informações acima sobre a pesquisa, que me sinto perfeitamente esclarecida 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.

Barcarena, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante

Prontuário: \_\_\_\_\_

Protocolo: \_\_\_\_\_