

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOLOGIA DE AGENTES INFECCIOSOS E PARASITÁRIOS

**EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DOS VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T
HUMANAS 1 E 2 (HTLV-1 E HTLV-2) E DO *HERPESVÍRUS HUMANO 8 (HHV-8)*
CO-INFECTANDO PORTADORES DO *VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA
HUMANA 1 (HIV-1)***

REGIANE SIQUEIRA DE VILHENA

Belém-Pará
2010

REGIANE SIQUEIRA DE VILHENA

**EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DOS VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T
HUMANAS 1 E 2 (HTLV-1 E HTLV-2) E DO *HERPESVÍRUS HUMANO 8* (HHV-8)
CO-INFECTANDO PORTADORES DO *VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA
HUMANA 1* (HIV-1)**

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

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Ishak

Belém-Pará
2010

REGIANE SIQUEIRA DE VILHENA

**EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DOS VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T
HUMANAS 1 E 2 (HTLV-1 E HTLV-2) E DO *HERPESVÍRUS HUMANO 8 (HHV-8)*
CO-INFECTANDO PORTADORES DO *VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA
HUMANA 1 (HIV-1)***

Dissertação de Mestrado 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. Ricardo Ishak

Banca Examinadora: Profa. Dra. Marluísa de Oliveira Guimarães Ishak

Prof. Dr. Antonio Carlos Rosário Vallinoto

Prof. Dr. Luiz Fernando A. Machado

Prof. Dr. José Alexandre Rodrigues Lemos (Suplente)

Belém, 04 de outubro de 2010

EPÍGRAFE

*"Há homens que lutam um dia e são bons.
Há outros que lutam um ano e são melhores.
Há os que lutam muitos anos e são muito bons.
Porém, há os que lutam toda a vida.
Esses são os imprescindíveis."*

Bertolt Brecht

DEDICATÓRIA

À DEUS pela força, pois tudo em minha vida foi sempre cuidadosamente permitido e conduzido por ele.

Aos meus pais Miguel e Regina e irmãos Jorge, Guilherme e Adi, que sempre torceram por mim, demonstrando sempre apoio e carinho.

Ao meu esposo Wanderley que está sempre ao meu lado com muito amor.

Aos meus padrinhos (*in memoriam*) que me ajudaram nos estudos e foram meus companheiros fiéis nesta vida.

À tia Nazira Buainain, incentivadora de todos os passos de minha vida profissional.

Aos amigos pelo carinho, compreensão e incentivo na minha vida profissional.

Ao Prof. Dr. Ricardo Ishak, que acreditou em mim e me permitiu a chance de novos horizontes profissionais.

AGRADECIMENTOS

À Deus que se fez presente em todos os momentos de alegrias e tristezas, dúvidas e certezas, numa caminhada com flores e espinhos. Flores das conquistas e espinhos próprios de quem se propõe a transpor todo e qualquer obstáculo para vencer, atingir o objetivo. Digo-lhe meu Pai; obrigada pela vida e luz em todos os meus caminhos e pela força que me impulsionou a concluir este trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo Ishak, pelo constante incentivo, sempre indicando a direção a ser tomada nos momentos de maior dificuldade. Agradeço, principalmente, pela confiança depositada, por todos os ensinamentos, apoio, paciência, amizade e competência com que se dedica a todas as suas pesquisas. É com muita emoção que afirmo “orientador é uma palavra ideal para defini-lo: é sob sua tutela que guio meus passos”. Muito obrigada!

Ao coordenador Prof. Dr. Luiz Fernando Almeida Machado, que se dedica incansavelmente para o bom desempenho do curso de pós-graduação e conseqüentemente para ótima qualidade dos alunos.

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Rosário Vallinoto, pela atenção, pela paciência e pelo apoio durante o desenvolvimento deste trabalho. Obrigada também por contribuir com este curso de mestrado, sempre incentivando os alunos ao crescimento científico.

Ao Prof. Dr. Ricardo Ishak e à prof^a Dr^a Marluisa de Oliveira Guimarães Ishak por permitiram a realização desta pesquisa no Laboratório de Virologia do Instituto de Ciências Biológicas, UFPA.

À banca examinadora, que gentilmente aceitaram participar e colaborar com este trabalho fazendo uma revisão precisa.

À todos os professores do mestrado que contribuíram para a realização desta dissertação, dando-me força e incentivo.

À minha turma de mestrado, onde tive a chance de conhecer vários amigos e companheiros de estudo. À Daniela C. Soares, David Bichara, Di Paula Madeira, Ednelza S. Graça, Eduardo Arruda, Felipe Freitas, Izélia C. da Penha, Luiz Wagner, Mauro Araújo, Milena Magalhães, Nelba T. Pinheiro, Paula Costa e aos alunos do doutorado: Teixeira, Albaneide e Vânia Nakauth Azevedo. Muito obrigada a todos.

Aos que me deram a vida, aconchego, minha fortaleza nos momentos difíceis e meu exemplo de vida e dignidade. Esta é a realização de mais um dos meus sonhos, e nele os seus sacrifícios e incentivos estão gravados. A vocês, papai e mamãe, fica o agradecimento mais simples, mas que retrata o que sinto agora: Amo vocês.

Aos meus padrinhos (*in memoriam*) e meus segundos pais que muitas vezes me ensinaram a buscar meu ideal. Por todo tempo que eu ainda viver hei de ser fiel aos seus princípios. Este trabalho é fruto de tudo que vocês me ensinaram. Apesar de sua ausência, cada parágrafo deste trabalho possui suas participações viva e marcante.

À tia Nazira, uma amiga-irmã, que sempre acreditou e torceu por mim. Esta vitória não é só minha, porque você estava ao meu lado e é com muito carinho que dedico essa conquista também á você!

Ao meu esposo Wanderley que me ajudou na finalização deste trabalho, mostrando apoio e amizade, que me ensinou a ser mais paciente e por estar sempre perto de mim.

Aos meus irmãos que tornaram momentos hostis mais amenos quando me esperavam chegar em casa para momentos de lazer, quando iam me buscar na UFPA e quando me incetivavam e torciam por mim, palavras são poucas para traduzir meu

obrigada.

Aos meus amigos de graduação, que me incentivaram a fazer a prova de seleção do BAIP: Carla, Keila, Gabriel, Jeferson, Kleverton e Marília. Vocês são meus amigos sinceros.

À prof^{ta}. MSc. Rosimar Martins, pelas calorosas boas vindas ao laboratório, pelo ensinamento e ajuda nas técnicas laboratoriais, principalmente do HHV-8. À Hellen pelas informações do HTLV, contribuição nas técnicas e mais uma amiga que Deus me presenteou.

Aos colegas do laboratório de virologia da UFPA, em especial Maria Helena, Helen, Ethiene, Renata, Larissa, Paula, Di Paula, Caroline, Jamila, Lucinda, Iran, Leonardo, Jaqueline, Deivid, Estefane, Barbara, Albaneide, Elizabeth, Tamy, Lucio e Simone, pelo apoio, amizade e sugestões que contribuíram plenamente na realização deste. É muito bom, todos os dias, receber um “bom dia” de pessoas que realmente desejam a você um bom dia. Muitas alegrias juntos, muitas dificuldades e agora muita saudade. Mas sempre amigos!

As amigas de sempre Keuri, Lidineusa e Guaraciara que sempre me ajudaram e me apoiaram, principalmente na finalização deste trabalho. Obrigada de coração.

Aos profissionais da URE-DIPE que participaram do trabalho permitindo a coleta das amostras.

À todos os usuários que compreenderam a importância deste trabalho e que concordaram em participar desta pesquisa.

À Universidade Federal do Pará, pelo apoio prestado á realização deste.

À CAPES pelo auxílio financeiro fornecido durante a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	13
LISTA DE FIGURAS	14
LISTA DE QUADROS	16
RESUMO	17
ABSTRACT	18
1. INTRODUÇÃO	19
1.1 FAMÍLIA <i>RETROVIRIDAE</i>	19
1.1.1 Vírus da imunodeficiência humana 1 (HIV-1)	20
1.1.1.1 Biologia do HIV-1.....	20
1.1.1.2 Epidemiologia do HIV-1.....	22
1.1.2 Vírus Linfotrófico de Células T Humanas (HTLV)	25
1.1.2.1 Biologia do HTLV.....	25
1.1.2.2 Doenças Associadas ao HTLV.....	30
1.1.2.3 Epidemiologia do HTLV.....	32
1.1.2.4 Diagnóstico Laboratorial do HTLV.....	37
1.1.2.5 Tratamento, Prevenção e Controle do HTLV.....	39
1.1.2.6 O Impacto da Co-Infecção HIV-1/HTLV.....	41
1.2 A FAMÍLIA <i>HERPESVIRIDAE</i>	44
1.2.1 Herpesvírus Humano 8 (HHV-8)	46
1.2.1.1 Biologia do HHV-8.....	46
1.2.1.2 Doenças Associadas ao HHV-8.....	52
1.2.1.3 Epidemiologia do HHV-8.....	55
1.2.1.4 Diagnóstico Laboratorial do HHV-8.....	60
1.2.1.5 Tratamento, Prevenção e Controle do HHV-8.....	62
1.2.1.6 O Impacto da Co-Infecção HIV-1/HHV-8.....	63
1.3 OBJETIVOS	66
1.3.1 Objetivo Geral	66

1.3.2 Objetivos Específicos	66
2. MATERIAL E MÉTODOS	67
2.1 POPULAÇÕES EXAMINADAS E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS.....	67
2.1.1 Grupo Populacional a ser Estudado	67
2.1.2 Colheita das Amostras	68
2.1.3 Aspectos Éticos	68
2.2 MÉTODOS LABORATORIAIS DE SOROLOGIA	69
2.2.1 Ensaio Imunoenzimático para a Detecção de Anticorpos anti-HTLV-1/2	69
2.2.2 Ensaio Imuno Enzimático para a Detecção de Anticorpos anti-HHV-8	69
2.3 MÉTODOS LABORATORIAIS DE BIOLOGIA MOLECULAR	69
2.3.1 Reação em Cadeia Mediada pela Polimerase (PCR)	70
2.3.1.1 Amplificação da Região do Gene <i>pX</i> do HTLV.....	72
2.3.1.2 Amplificação do Gene <i>env</i> do HTLV.....	73
2.3.1.3 Amplificação da Região 5` <i>LTR</i> do HTLV-1.....	74
2.3.1.4 Amplificação da Região 5` <i>LTR</i> do HTLV-2.....	75
2.3.1.5 Amplificação da Região <i>ORF26</i> do HHV-8.....	76
2.3.1.6 Amplificação da Região Variável 1 (VR1) do Gene <i>K1</i> do HHV-8.....	77
2.4 PURIFICAÇÃO DO PRODUTO DA PCR.....	78
2.5 SEQÜENCIAMENTO.....	79
2.6 ANÁLISE DAS SEQÜÊNCIAS NUCLEOTÍDICAS.....	80
2.6.1 Edição e Alinhamento das seqüências	80
2.6.2 Análise Nucleotídica	80
2.6.3 Análise Filogenética	81
2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	82
3. RESULTADOS	83
3.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	83
3.1.1 Caracterização de acordo com o perfil sócio-demográfico da população de portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.	83
3.1.2 Caracterização de acordo com fatores de risco da população de portadores	85

do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.....	
3.2 SOROLOGIA	88
3.2.1 Análise sorológica para a infecção pelo HTLV-1/2 e pelo HHV-8 em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.	88
3.2.2 Relação entre os fatores sócio-demográficos e a infecção pelo HTLV em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.	89
3.2.3 Relação entre os fatores de risco e a infecção pelo HTLV em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.....	92
3.2.4 Relação entre os fatores sócio-demográficos e a infecção pelo HHV-8 em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.	96
3.2.5 Relação entre os fatores de risco e a infecção pelo HHV-8 em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.....	98
3.2.6 Relação entre a Contagem de Linfócitos T CD4 ⁺ e T CD8 ⁺ e Carga viral entre os pacientes co-infectados HIV-1/HTLV e os HTLV negativos.....	102
3.2.7 Relação entre a Contagem de Linfócitos T CD4 ⁺ e T CD8 ⁺ e Carga viral entre os pacientes co-infectados HIV-1/ HHV-8 e os HHV-8 negativos.....	103
3.3 REAÇÃO EM CADEIA MEDIADA PELA POLIMERASE (PCR)	105
3.3.1 Amplificação do Fragmento de 160pb da região <i>pX</i>	105
3.3.2 Amplificação do Fragmento de 630pb da região <i>env</i>	106
3.3.3 Amplificação do Fragmento de 800pb da região 5' <i>LTR</i> do HTLV-1.....	108
3.3.4 Amplificação do Fragmento de 788pb da região 5' <i>LTR</i> do HTLV-2.....	109
3.3.5 Amplificação da Região ORF26 do HHV-8.....	110
3.3.6 Amplificação da Região Variável 1 (VR1) do Gene <i>K1</i> do HHV-8.....	110
3.4 ANÁLISE DAS SEQÜÊNCIAS NUCLEOTÍDICAS.....	111
3.4.1 Análise Filogenética.....	112
4. DISCUSSÃO.....	116
4.1 PERFIL SÓCIO-DEMOGRÁFICO DA POPULAÇÃO DE PORTADORES DO	116

HIV-1 COM OU SEM SIDA/AIDS ATENDIDOS NA URE-DIPE EM BELÉM/PA.	
4.2 FATORES DE RISCO DA POPULAÇÃO DE PORTADORES DO HIV-1 COM OU SEM SIDA/AIDS ATENDIDOS NA URE-DIPE EM BELÉM/PA.	118
4.3 PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELO HTLV-1/2 EM PORTADORES DO HIV-1 COM OU SEM SIDA/AIDS ATENDIDOS NA URE-DIPE EM BELÉM/PA.	120
4.3.1 Subtipos do HTLV-1 e HTLV-2 em Portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS Atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.	120
4.3.2 Fatores Sócio-Demográficos e Fatores de Risco dos Indivíduos Co-infectados HIV/HTLV com ou sem SIDA/AIDS Atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.	123
4.3.3 Ausência de Associação entre a Contagem de Linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ e Carga Viral dos pacientes co-infectados HIV-1/HTLV com os monoinfectados.....	126
4.4 PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELO HHV-8 EM PORTADORES DO HIV-1 COM OU SEM SIDA/AIDS ATENDIDOS NA URE-DIPE EM BELÉM/PA.....	127
4.4.1 Subtipos do HHV-8 em Portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS Atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.	127
4.4.2 Fatores Sócio-Demográficos e Fatores de Risco dos Indivíduos Co-infectados HIV/ HHV-8 com ou sem SIDA/AIDS Atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.	129
4.4.3 Presença de Associação entre a Contagem de Linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ e Carga Viral dos pacientes co-infectados HIV-1/HHV-8 com os monoinfectados.....	132
5. CONCLUSÕES.....	134
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	136
ANEXOS	

LISTA DE TABELAS	Página
Tabela 1 – Iniciadores utilizados na PCR e respectivas regiões do HTLV amplificadas.....	71
Tabela 2 – Perfil de RFLP das regiões genômicas do HTLV amplificadas.....	72
Tabela 3 - Características sócio-demográficas da população de portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.....	84
Tabela 4- Distribuição dos possíveis fatores de risco na população de portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.....	87
Tabela 5 - Distribuição dos resultados dos testes sorológicos para a presença de anticorpos anti-HTLV-1/2 e anti-HHV-8 IgG na população de portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.....	89
Tabela 6 – Distribuição da infecção pelo HTLV de acordo com as características sócio-demográficas em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS.....	90
Tabela 7 – Distribuição da infecção pelo HTLV de acordo com os fatores de risco em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS.....	93
Tabela 8 – Distribuição da infecção pelo HHV-8 de acordo com as características sócio-demográficas em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS.....	97
Tabela 9 – Distribuição da infecção pelo HHV-8 de acordo com os fatores de risco em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS.....	100
Tabela 10- Distribuição das contagens de linfócitos T CD4 ⁺ e T CD8 ⁺ e carga viral entre os indivíduos co-infectados HIV-1/HTLV e os HTLV negativos.	103
Tabela 11- Distribuição das contagens de linfócitos T CD4 ⁺ e carga viral entre os indivíduos co-infectados HIV-1/ HHV-8 e os HHV-8 negativos.....	104

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Esquema da Estrutura da Particula Viral do HTLV.....	26
Figura 2 - Representação Esquemática da estrutura Genômica do HTLV.....	27
Figura 3 - Representação Esquemática da Replicação do HTLV.....	30
Figura 4 - Representação Esquemática do HHV-8.....	47
Figura 5 - Representação Esquemática da estrutura Genômica do HHV-8 na Forma Epissomal	49
Figura 6 – Perfil eletroforético do fragmento de 160pb amplificado da região <i>pX</i> do genoma proviral do HTLV-1. PM (peso molecular de 100 pb); CN (controle negativo); CP (controle positivo); Amostras positivas (17779, 18490, 18491, 14011, 13993, 14019, 18596, 20002, 20067).....	105
Figura 7 – Perfil de RFLP, com a enzima <i>TaqI</i> , a partir do fragmento de 160pb da região <i>pX</i> . 1-2 – PM (peso molecular de 100 pb); CN (controle negativo); Controles positivos para HTLV-1 e HTLV-2 (CP-1 e CP-2); Amostras positivas para HTLV-1 (14011, 13993, 14019, 18596) e amostras positivas para HTLV-2 (17779, 18490, 18491, 20002, 20067).....	106
Figura 8 – Perfil eletroforético do fragmento de 630pb amplificado da região <i>env</i> do genoma proviral do HTLV-2. PM (peso molecular de 100 pb); CN (controle negativo); Controle positivo para HTLV-2 (CP-2); Amostras positivas para HTLV-2 (17779, 18490, 18491, 20002, 20067).....	107
Figura 9 – Perfil da RFLP, com a enzima <i>XhoI</i> , a partir do fragmento de 630pb da região <i>env</i> do HTLV-2. PM (peso molecular de 100 pb); CN (controle negativo); Controle positivo para HTLV-2 (CP-2); Amostras positivas para HTLV2a/2c (17779, 18490, 18491, 20002, 20067).....	107
Figura 10 – Perfil eletroforético do fragmento de 800pb amplificado da região 5' <i>LTR</i> do genoma proviral do HTLV-1. PM (peso molecular de 100 pb); CN (controle negativo); Controle positivo para HTLV-1 (CP-1); Amostras positivas para HTLV-1 (18596).	108
Figura 11 – Perfil eletroforético do fragmento de 788pb amplificado da região 5' <i>LTR</i> do genoma proviral do HTLV-2. PM (peso molecular de 100 pb); CN (controle	109

negativo); Controle positivo para HTLV-2 (CP-2);. Amostras positivas para HTLV-2 (17779, 18490, 18491, 20002).....

Figura 12 - Perfil eletroforético do fragmento de 233 pb amplificado da região ORF26 do genoma proviral do HHV-8. PM (peso molecular de 100 pb), CN (controle negativo); CP-1 (controle positivo); Amostras positivas para a ORF26 (17608 e 18863).....

110

Figura 13 - Perfil eletroforético do fragmento de 435 pb amplificado da região VR1 do genoma proviral do HHV-8. PM (peso molecular de 100 pb); CN (controle negativo); CP (controle positivo); Amostra positiva (17608).....

111

Figura 14- Árvore filogenética, mostrando as relações filogenéticas entre as amostras de HTLV-1 disponíveis no *GenBank* e aquela descrita no presente estudo (amostra 18596). A árvore foi construída usando o modelo de Agrupamento de Vizinhos (*Neighbor-Joining*) após o alinhamento de 370 nucleotídeos da região 5' *LTR*. O teste de sustentação estatística (*bootstrap*) foi aplicado usando 1000 réplicas.....

113

Figura 15 - Árvore filogenética, mostrando as relações filogenéticas entre as amostras de HTLV-2 disponíveis no *GenBank* e aquelas descritas no presente estudo (amostras 17779, 18490, 18491, 20002). A árvore foi construída usando o modelo de Agrupamento de Vizinhos (*Neighbor-Joining*) após o alinhamento de 530 nucleotídeos da região 5' *LTR*. O teste de sustentação estatística (*bootstrap*) foi aplicado usando 1000 réplicas.....

114

Figura 16- Árvore filogenética, mostrando as relações filogenéticas entre as amostras de HHV-8 disponíveis no *GenBank* e aquela descrita no presente estudo (amostra 17608). A árvore foi construída usando o modelo de Agrupamento de Vizinhos (*Neighbor-Joining*) após o alinhamento de 217 nucleotídeos região variável 1 (VR1) do gene *K1*. O teste de sustentação estatística (*bootstrap*) foi aplicado usando 2000 réplicas.....

115

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1 - As 3 Subfamílias dos <i>Herpesvirus</i> : Subfamília, designação, disseminações e a doença.	45
Quadro 2 - Tipos de Células Infectadas <i>in vivo</i> com HHV-8.....	47
Quadro 3 - Antígenos e Ensaio Sorológico para Detectar Anticorpos anti HHV-8.....	61

RESUMO

Os HTLV-1/2 pertencem à família *Retroviridae*, a qual inclui o HIV. O HHV-8 pertence à família *Herpesviridae*. Os HTLV-1/2, o HHV-8 e o HIV apresentam as mesmas formas de transmissão, resultando em fatores comuns de risco e isso pode justificar a co-infecção HIV/HTLV e HIV/HHV-8. O presente estudo teve como objetivo descrever a epidemiologia molecular das infecções causadas pelos HTLV-1/2 e o HHV-8 em indivíduos portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS, da cidade de Belém, Pará. Das 520 amostras incluídas no estudo, 515 foram testadas para a presença de anticorpos anti-HTLV-1/2 e 499 para a presença de anticorpos anti-HHV-8, pelo método de ELISA. As amostras reativas para o HTLV e para o HHV-8 foram submetidas à métodos moleculares. A soroprevalência da co-infecção HIV/HTLV foi de 2,3%, enquanto que da co-infecção HIV/HHV-8 foi de 35,9%. Nove amostras do HTLV foram seqüenciadas e 1 classificada como HTLV-1 pertencente ao subtipo Cosmopolita, subgrupo Transcontinental e 3 como HTLV-2 do subtipo HTLV-2c, enquanto que a do HHV-8 agrupou-se ao subtipo B. Foi verificada a heterossexualização, menor escolaridade e pauperização entre os portadores do HIV-1 e não houve associação com fatores de risco. Não houve associação da co-infecção HIV/HTLV com fatores de risco e nem com a contagem de células CD4⁺ e CD8⁺ e Carga Viral do HIV-1. Houve associação da co-infecção HIV/HHV-8 com a Carga Viral do HIV-1. Ocorreu maior taxa da carga viral plasmática do HIV-1 no intervalo 1000l—100000 cópias/mL no grupo dos co-infectados HIV/HHV-8.

ABSTRACT

The HTLV-1/2 belongs to the family *Retroviridae*, which includes HIV. The HHV-8 belongs to the family *Herpesviridae*. The HTLV-1/2, HHV-8 and HIV have the same modes of transmission, resulting in common risk factors that can justify the co-infection HIV/HTLV and HIV/HHV-8. The present study had as objective to describe the molecular epidemiology of infections caused by HTLV-1/2 and HHV-8 in individuals with HIV-1 with or without AIDS in Belém, Pará. Of 520 samples included in the study, 515 were tested for the presence of anti-HTLV-1/2 and 499 for the presence of anti-HHV-8 by ELISA. Samples reactive for HTLV, and HHV-8 were subjected to molecular methods. The seroprevalence of co-infection HIV/HTLV was 2.3%, while co-infection HIV/HHV-8 was 35.9%. Nine samples of the HTLV were sequenced and one classified as HTLV-1 belonging to the Cosmopolitan subtype, Transcontinental subgroup, and 3 as HTLV-2 of the subtype HTLV-2c, while the HHV-8 are clustered to subtype B. Was found to heterosexual, less educated and impoverishment among the carrier of the HIV-1 and had not association with risk factors. There was no association of the co-infection HIV/HTLV with the risk factors neither with the count of the CD4⁺ and CD8⁺ T cells and viral load of HIV-1 in relation the mono-infected. There is association of co-infection HIV/HHV-8 with viral load of HIV-1. There was a higher rate of plasma viral load of HIV-1 in the interval 1000|—100000 copies / mL in the group of coinfecting HIV/HHV-8.

1. INTRODUÇÃO

1.1 FAMÍLIA *RETROVIRIDAE*

A família *Retroviridae* compreende vírus que possuem o RNA como material genético, que se replica através de um intermediário de DNA nas células que parasitam. A transcrição da molécula de RNA em uma molécula de DNA de fita dupla ocorre graças à ação da enzima DNA polimerase dependente de RNA, denominada transcriptase reversa. Em decorrência da presença dessa enzima em alguns grupos de vírus, a família ficou denominada como *Retroviridae* (Temin & Mizutani, 1970).

Os retrovírus são classificados segundo a base da seqüência genômica, em sete gêneros: *Alpharetrovirus* (*Vírus do sarcoma e Vírus da leucemia de aves*), *Betaretrovirus* (*Vírus de tumor mamário de ratos*), *Gammaretrovirus* (*Vírus relacionado com a leucemia de rato*), *Deltaretrovirus* (*Vírus da leucemia de células T humanas e Vírus da leucemia de célula T bovino*), *Epsilonretrovirus* (*Wally dermal sarcoma Virus*), *Lentivirus* (*Vírus da imunodeficiência humana*) e *Espumavirus* (*Espumavírus humano*) (Murphy *et al.*, 1995).

A organização genômica dos retrovírus consta de duas moléculas de RNA de cadeia simples e polaridade positiva. As moléculas de RNA estão fisicamente unidas por pontes de hidrogênio em suas extremidades 5'. A organização genômica é sempre a mesma 5'-*Gag-pol-env*-3', também dependendo do tipo de retrovírus, há genes adicionais que se sobrepõem com os genes principais (Coffin, 1996).

1.1.1 *Vírus da imunodeficiência humana 1 (HIV-1)*

1.1.1.1 Biologia do HIV-1

O *Vírus da imunodeficiência humana* (HIV) é o agente causador da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), sendo um vírus linfotrópico com afinidade preferencial para os linfócitos T CD4+ (Wei *et al.*, 1995). O HIV é um membro do gênero *Lentivirus* da família *Retroviridae*. O HIV está subdividido em duas espécies HIV-1 e HIV-2, sendo o HIV-1 o mais comum (CDC, 1981; Gottlieb *et al.*, 1981; Masur *et al.*, 1981). O conhecimento mais antigo do isolamento do HIV-1 é o de uma amostra de plasma de 1959, observado em um marinheiro em Manchester (Zhu *et al.*, 1998).

A estrutura genômica do HIV-1 é constituída por duas cópias de uma molécula simples de RNA (ssRNA) de aproximadamente 10 Kb de comprimento, que codifica 16 proteínas distintas. Essas proteínas, que derivam dos genes *gag* (*group-specific antigen*), *pol* (*polimerase*) e *env* (*envelope*), são componentes estruturais e enzimáticos requeridos por todas as retrovíroses. A *gag* origina a matriz (MA, p17), o capsídeo (CA, p24), o nucleocapsídeo (NC, p9 e p6, proteína que constitui o núcleo interior da partícula viral). Por outro lado, a poliproteína *env* produz a gp 120 (superfície, SU) e a gp 41 (transmembrana, TM). Por fim, a poliproteína *pol* origina as enzimas virais protease (PR), transcriptase reversa (RT) e a integrase (IN) (Luciw, 1996).

Além dessas proteínas, o HIV-1 codifica, também, duas proteínas reguladoras, o transativador transcripcional (Tat) através do gene *tat* e o regulador da transcrição do gene viral (Rev) mediante o gene *rev*. O vírus contém, ainda, quatro genes que codificam as proteínas denominadas de acessórias, sendo essas a Nef (“*negative effector*”), a Vif (“*viral infectivity factor*”) e as proteínas Vpr e Vpu (Luciw, 1996).

O isolamento do vírus e o seqüenciamento do genoma revelaram que enquanto a organização genética de HIV-2 era altamente semelhante aquela do HIV-1, as duas viroses exibiam distâncias nas seqüências similares ao nível do nucleotídeo (Guyader *et al.*, 1987). Uma diferença na organização genética dessas duas viroses é que o gene acessório *Vpu* é único para isolados de HIV-1 (Cohen *et al.*, 1988), considerando que *Vpx* foi somente descoberto em isolados de HIV-2 (Henderson *et al.*, 1988; Kappes *et al.*, 1988).

O HIV tem como uma de suas principais características a intensa variabilidade genética, causada principalmente pela transcrição reversa do seu genoma pela transcriptase reversa viral. A frequência de erro de incorporação de nucleotídeos, nesse processo, associado à enorme capacidade replicativa desse vírus, mesmo quando a infecção parece estar numa fase clínica latente, fazem essas populações comportarem-se como quasispécies. Grupos virais (subtipos) podem ser definidos por esse aspecto molecular, dada a divergência em diferentes taxas encontradas entre os vários isolados virais geograficamente distribuídos (Eigen, *et al.*, 1988; Schuster & Stadler, 1999).

A diversidade genética das populações do HIV-1 é um resultado direto da incorporação de erros durante a replicação viral (Menendez-Arias, 2002; Preston & Dougherty, 1996; Preston *et al.*, 1988; Svarovskaia *et al.*, 2003). As altas taxas de incorporação de erros inerentes à replicação dos vírus de RNA se devem à ausência de atividades revisoras das enzimas RNA polimerase e transcriptase reversa viral (Eigen *et al.*, 1988; Schuster & Stadler, 1999).

A variabilidade do genoma do vírus HIV-1 pode desdobrar-se, muitas vezes, em mutações que conferem resistência aos agentes terapêuticos anti-retrovirais, como os

inibidores de protease e da transcriptase reversa (Muller, 1964; Domingo *et al.*, 1978; Domingo *et al.*, 2001).

A presença de vários subtipos de HIV-1 em uma única região geográfica favorece a ocorrência de infecções mistas por mais de um subtipo em um único indivíduo, e essas infecções são, conseqüentemente, determinantes do surgimento de genomas de HIV-1 recombinantes intersubtipo. Os eventos de recombinação são bastante freqüentes durante a replicação dos retrovírus, e representam um importante fator de aumento de variabilidade para esses organismos (Liitsola *et al.*, 2000).

Análises detalhadas de clones virais obtidos de pacientes demonstraram que diversas variantes virais co-existem simultaneamente em pacientes infectados e que a freqüência de genótipos virais distintos flutuam durante o curso natural das infecções pelo HIV-1 e em resposta á introdução de novas pressões seletivas, como o uso de drogas anti-retrovirais (Godenow *et al.*, 1989; Meyerhans *et al.*, 1989; Shankarappa *et al.*, 1999; Liu *et al.*, 2002).

1.1.1.2 Epidemiologia do HIV-1

A diversidade global do HIV-1 é representada pelo fato dele estar classificado em três grupos genéticos: M (*major*) (Gurtler *et al.*, 1994), N (*non-M e non-N*) (Simon *et al.*, 1998) e O (*outlier*). Esta classificação adotada se baseia na análise do genoma completo de amostras de HIV-1, colhidas em diferentes regiões geográficas. O grupo M, que contém os principais vírus responsáveis pelo desenvolvimento e disseminação da epidemia no mundo, está subdividido em nove linhagens genéticas, também referidas como subtipos, são representados pelas letras do alfabeto inglês (A-D, F-H, J e K). As variantes dos subtipos

A, F e J são ainda segregadas como sub-subtipos (A1, A2, A3, A4, F1, F2, J1 e J2) respectivamente (Delgado *et al.*, 2002; Papa *et al.*, 2002; Meloni *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2005; Vidal *et al.*, 2006). Ainda tem 34 formas recombinantes circulantes (CRF) (Thomson *et al.*, 2002), sendo as mais comuns as CRF02_AG e CRF01_AE (Osmanov *et al.*, 2002).

No Brasil, o número total de casos de AIDS acumulados entre 1980 e junho de 2009 é de 544.846. Em 2009, nos seis primeiros meses, foram notificados 35.000 novos casos. Estima-se que aproximadamente 600 mil pessoas vivem com HIV e AIDS no Brasil. Número que permanece estável desde 2000 (Ministério da Saúde, 2009).

Os novos números da AIDS no Brasil apontam para uma queda acentuada (redução de 94,0%, entre 1997 e 2009) nos casos de transmissão vertical, quando o HIV é passado da mãe para o filho, durante a gestação, o parto ou a amamentação. Em 2009, de janeiro a junho, foram notificados 60 casos nessa categoria (Ministério da Saúde, 2009).

Nas pessoas com 50 anos ou mais, observa-se tendência de crescimento da epidemia. Entre 1997 e 2007, na faixa etária de 50-59 anos, a taxa de incidência entre os homens passou de 12 para 18 casos a cada 100 mil habitantes; entre as mulheres, cresceu de 5,2 para 9,9. No mesmo período, houve um aumento da taxa de incidência entre indivíduos com mais de 60 anos. Nos homens, o índice passou de 5,9 para 9,6. Nas mulheres, cresceu de 1,8 para 5,0 (Ministério da Saúde, 2009).

Na população masculina, houve uma queda acentuada na taxa de incidência, que era de 22,7 em 1996 e foi para 8,7 em 2009. Nas mulheres, a taxa de incidência caiu de 9,3 em 1996 para 5,6 em 2008. Nos adolescentes (13 a 19 anos) a taxa de incidência foi de 2,0 para 2,2 e nos adultos jovens (20 a 24 anos) passou de 19,5 para 15,2, no período de 1996 e 2008. Há quedas discretas no número de casos em crianças menores de 5 anos e nas adultas

de 20 a 29 anos. Nas adolescentes e nas mulheres com mais de 30 anos, há aumentos em todas as faixas etárias, confirmando o crescimento do número de casos de AIDS na população feminina, observado a partir da década de 1990 (Ministério da Saúde, 2009). Nas regiões, entre 1996 e 2008, observou-se uma queda na taxa de incidência no Sudeste – que passou de 25,5 para 19,2. Nas demais regiões, o índice cresceu: no Norte, de 4,1 para 18,6; no Nordeste, de 4,8 para 11,3; no Sul, de 16,9 para 29,3; e no Centro Oeste, de 12,4 para 15,9 (Ministério da Saúde, 2009).

De 1980 até o ano de 2009, o número acumulado de mortes em decorrência da AIDS foi de 217.091. Em 2005, houve 11.100 óbitos, confirmando a média anual de óbitos, observada desde 2000. Em 1996, foram 15.017 mortes. Após a introdução da política de acesso universal ao tratamento anti-retroviral que combina drogas com diferentes formas de ação, observou-se uma importante queda na mortalidade (Ministério da Saúde, 2009).

Nos homens, observou-se uma diminuição nos casos entre homossexuais e os bissexuais e aumento entre e heterossexuais. Nesse último grupo, em 1996, o percentual em relação ao número total de casos foi de 15,8%. Em 2009, passou para 47,6%. Nas mulheres, a epidemia segue com a característica de ser quase que totalmente de transmissão heterossexual, responsável por 97,0% dos casos registrados em 2009 (Ministério da Saúde, 2009).

Entre os usuários de drogas injetáveis (UDI), o número de casos de AIDS prossegue em queda constante. Em 1996, foram notificados 27.652 e 5.463 casos considerando homens e mulheres, respectivamente. Em 2009, foram registrados 235 e 48 casos em UDI – o que representou uma grande redução (Ministério da Saúde, 2009).

1.1.2 Vírus Linfotrópico de Células T Humanas (HTLV)

1.1.2.1 Biologia do HTLV

Os HTLV-1/2 são agentes virais de tamanho médio (100- 120 nm), que contêm duas moléculas de RNA de cadeia simples (ssRNA), iguais, com polaridade positiva. Eles pertencem à família *Retroviridae* e ao gênero *Deltaretrovirus* (Coffin, 1996). O HTLV-1 e o HTLV-2 têm propriedades biológicas similares e tropismo para linfócitos T (Hall *et al.*, 1994; Hall, 1994; Hollsberg & Hafler,1993), porém o HTLV-1 infecta preferencialmente linfócitos T CD4+, enquanto o HTLV-2 tem tropismo para linfócitos T CD8+ (Murphy, 1996).

O HTLV-1 foi descoberto em 1980, a partir de uma linhagem de células linfoblastóides, obtida de um paciente com linfoma cutâneo de células T nos EUA e vem a ser o primeiro retrovírus humano identificado (Poiesz *et al.*,1980; Hinuma *et al.*, 1981). O HTLV-2 foi isolado em 1982 a partir de células T derivadas do baço de um paciente com leucemia de células pilosas (Kalyanaraman *et al.*, 1982). O HTLV-3 (Calattini *et al.*, 2005) e o HTLV-4 (Wolfe *et al.*, 2005) foram identificados em populações de áreas rurais de camarões na África em 2005.

Inicialmente foram reconhecidas duas condições associadas ao HTLV-1: Paraparesia Espástica Tropical (PET) (Gessain *et al.*, 1985) e Leucemia/Linfoma de células T do Adulto (LLcTA) (Yoshida *et al.*, 1982). O HTLV-1 é o único retrovírus conhecido por ser o agente etiológico de câncer humano, enquanto o HTLV-2, o outro oncovírus conhecido, não está associado aparentemente com câncer humano (Gallo, 1986; Kalyanaraman *et al.*, 1982). O HTLV-2 tem sido raramente associado à doença neurológica semelhante à PET/mielopatia associada ao HTLV (MAH); também parece predispor os

portadores a infecções bacterianas, por comprometimento imunológico (Kalyanaraman, *et al.*, 1982).

A partícula viral do HTLV mede um diâmetro de 80 a 110 nm, contém duas moléculas de ácido ribonucléico (RNA) monocatenárias, idênticas e associadas às várias proteínas do nucleocapsídeo (NC), à transcriptase reversa, à integrase e à protease. Esse conjunto é rodeado pelo capsídeo (CA). A matriz (MA) protege o conjunto. Essa estrutura é recoberta pelo envelope constituído de uma bicamada lipídica de origem celular que contém as glicoproteínas virais (gp 46 e gp 21) resultante da clivagem de um precursor comum (Figura 1) (Gessain, 2004).

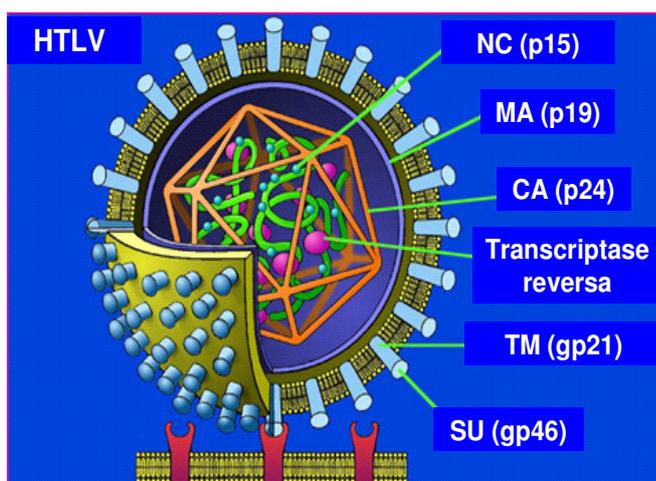


Figura 1 - Esquema da estrutura da partícula viral do HTLV (Fonte: Adaptado de researchnews.osu.edu/.../HTLV1%20cartoon.jpg).

A estrutura genômica proviral contém os genes estruturais *gag*, *pol* e *env* (próprios dos retrovírus), os genes reguladores *tax* e *rex* e os *Long Terminal Repeat (LTR)* (Manns *et al.*, 1999). O gene *gag* é inicialmente transcrito, originando uma poliproteína precursora de 53 KDa (pr53). Esta é clivada em três proteínas: A proteína do CA- p24, a proteína da MA-

p19 e a proteína do NC- p15. A protease do vírus é codificada por uma seqüência de leitura aberta (*ORF-Open Reading Frames*) (*pro*) situada sobreposta aos genes *gag* e *pol*. O gene *pol* codifica a transcriptase reversa, e a integrase, e o gene *env* codifica duas proteínas: gp21 (transmembrana) e gp 46 (superfície) (Figura 2) (Rosenberg *et al.*, 1997).

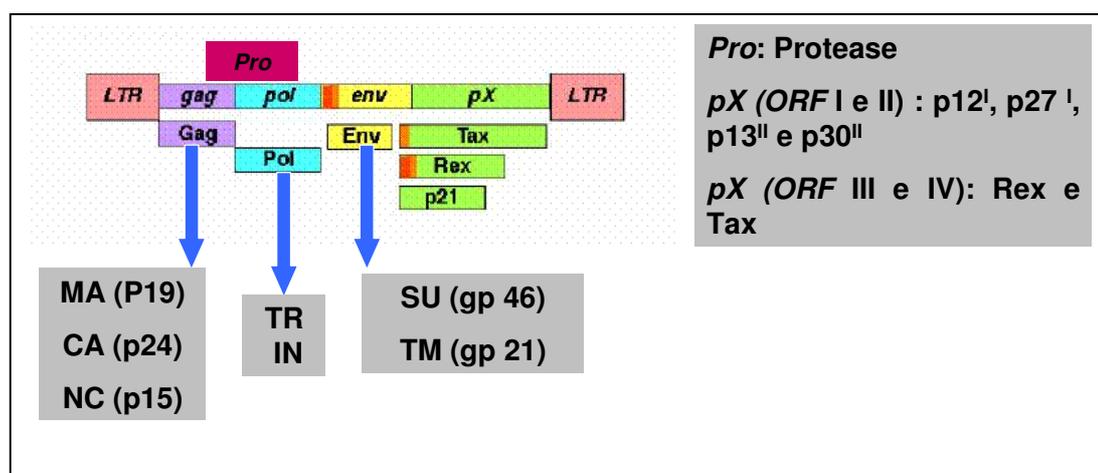


Figura 2 - Representação esquemática da estrutura genômica do HTLV (Fonte: Adaptado de evunix.uevora.pt/.../HTLV_files/image006.gif)

Usando o processamento (*splicing*) alternativo e códon de iniciação alternados, esses complexos retrovírus produzem várias proteínas acessórias e reguladoras codificadas pelas quatro *ORF* da região *pX* (*pX ORF* I a IV) entre o gene *env* e a 3'*LTR* (Franchini, 1995; Michael *et al.*, 2004).

As *ORF* III e IV da região *pX* codificam as proteínas Rex e Tax bem caracterizadas, respectivamente. Rex é uma fosforoproteína de localização nucléolar, com função pós-transcricional, regulando positivamente a expressão e a estabilidade do mRNA genômico (*gag-pro-pol*), o *splicing* dos demais mRNA e ainda está envolvida no transporte do RNA

viral sem processamento (*unspliced*) ou com único *splicing* do núcleo para o citoplasma celular (revisado em Younis & Green, 2005).

Tax é a fosforoproteína de localização nuclear que interage com fatores de transcrição celular, ativa a transcrição dos promotores virais e resalta elementos de vários genes celulares associados com proliferação celular do hospedeiro (revisado em Pise-Masison *et al.*, 2005; Marriott & Semmes, 2005; Grassmann *et al.*, 2005).

A proteína Tax regula a transcrição viral, ativando fatores que induzem a transcrição de genes celulares para interleucinas (IL-1, IL-2, entre outras) e para receptores de células T (CD 25) (Hollberg *et al.*, 1999). Adicionalmente, Tax regula negativamente o gene da β -polimerase (enzima reparadora de DNA) e pode inativar a função do gene *p53* (gene supressor de tumores) (Pise-Masison *et al.*, 2000), fatores que influenciam na patogênese da LLcTA. A Tax ativa a expressão do promotor de *LTR*, e assim é essencial para a expressão de todo o mRNA viral (revisado por Yoshida, 1996).

As *ORF* I e II da região pX também produzem formas alternativas de *spliced* de mRNA que codificam 4 proteínas acessórias, p12^I, p 27^I, p13^{II} e p30^{II} (Berneman *et al.*, 1992; Ciminale *et al.*, 1992; Koralnik *et al.*, 1992).

Ainda que o HTLV-1 tenha um alto grau de conservação de seqüência de nucleotídeos, se tem demonstrado a existência de vários subtipos moleculares (genótipos), aparentemente em relação com a origem geográfica das populações afetadas e não com o tipo de enfermidades associadas (Gessain *et al.*, 2000).

O HTLV-1 e o HTLV-2 compartilham aproximadamente 85% das seqüências de seus nucleotídeos na região *gag*, mas somente 65% do gene *env*. A *LTR* é geralmente usada para genotipagem dos subtipos moleculares do HTLV (Ishak *et al.*, 2003).

Os setes subtipos genéticos do HTLV-1 são: HTLV-1a (subtipo Cosmopolita) (Miura *et al.*, 1994), HTLV-1b (subtipo África Central) (Hahn *et al.*, 1984; Vadamme *et al.*, 1994), HTLV-1c (subtipo de Australo-Melanésio) (Bastian *et al.*, 1993), HTLV-1d (Novo subtipo África Central) (Chen *et al.*, 1995; Mahieux *et al.*, 1997), HTLV-1e (encontrado em um pigmeu vivendo no Congo) e HTLV-1f (gabão) (Salemi *et al.*, 1998) e HTLV-1g (Camarões) (Wolfe *et al.*, 2005). Esta subtipagem genética é baseada na origem geográfica do vírus, na comparação das seqüências e nas análises filogenéticas da região *env* e da região *LTR*.

O HTLV-1a apresenta quatro subgrupos, baseados na eqüência *LTR* de cepas obtidas de vários lugares do mundo: Transcontinental (A), Japones (B), Oeste africano (C) e Norte da Africa (D) (Gasmi *et al.*, 1994).

O HTLV-2 tem quatro subtipos moleculares: 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).

A replicação viral inicia-se com a adesão, onde a partícula viral se liga à superfície celular. Essa interação ocorre entre as glicoproteínas do envelope viral (gp46 e gp21) e receptores específicos da 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 fibroblastos (Koyanagi *et al.*, 1993; Yasunaga *et al.*, 2001; Manel *et al.*, 2003). Em seguida, o vírus torna-se capaz de penetrar na célula hospedeira, através da fusão do envelope viral com a membrana celular (Poiesz *et al.*, 2003), podendo também ocorrer por endocitose (Voyles, 1993). No citoplasma da célula hospedeira, a fita simples de RNA viral é transcrita à DNA de fita dupla pela transcriptase reversa. A dupla fita de DNA linear é

transportado para o núcleo e integra-se no genoma celular pela ação de uma integrase viral (Seiki *et al.*,1984).

Uma vez integrado, o provírus utiliza a maquinaria celular para a transcrição primária do RNA genômico. Parte do RNA viral sintetizado é processada para gerar o mRNA que será traduzido nas proteínas virais apropriadas no citoplasma. Como último passo, o *core* viral é montado e o vírus é liberado (brotamento) a partir da superfície celular por um processo mais ou menos simultâneo (Figura 3) (Cann *et al.*, 1996).

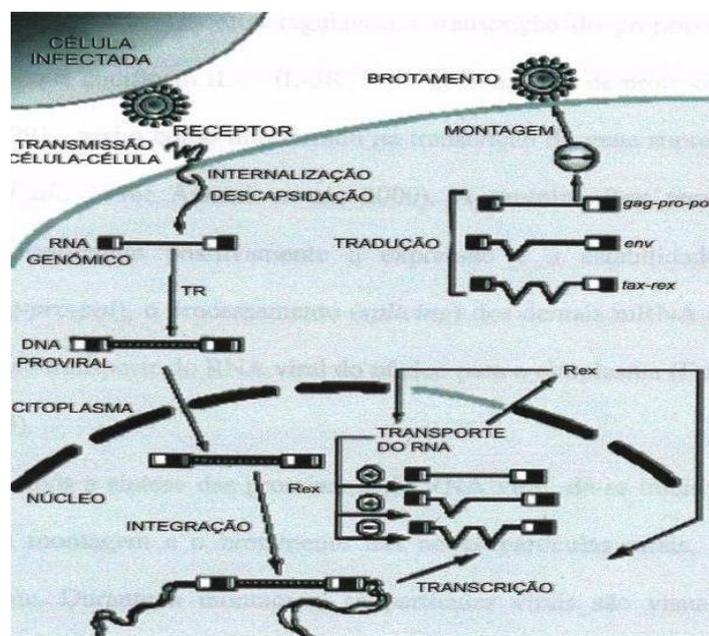


Figura 3 - Representação esquemática da replicação do HTLV (Fonte: Adaptado de Gessain, 2004).

1.1.2.2 Doenças Associadas ao HTLV

O linfoma/leucemia de células T do adulto (LLcTA) é uma neoplasia de linfócitos T maduros, associada à infecção pelo HTLV-1. A relação entre o HTLV-1 e LLcTA foi identificada ao isolar-se o vírus integrado em células neoplásicas (Poiesz *et al.*,1980; Hinuma *et al.*, 1981; Yoshida *et al.*, 1982). A LLcTA é classicamente uma forma de

leucemia de curso agudo com pobre resposta a quimioterapia (Uchiyama *et al.*, 1977) que afeta principalmente idoso entre os 50 e 60 anos (Tajima *et al.*, 1990). Tem-se descrito também formas menos agressivas cujo comportamento clínico assemelha-se ao de um linfoma, de curso mais crônico e com comprometimento dérmico extenso (Yamaguchi *et al.*, 1983).

Os principais sinais e sintomas da LLcTA são: astenia, dor abdominal, tosse, artropatia, ascite, diarreia e episódios de infecções repetidas, que podem ser observados durante o acompanhamento de indivíduos infectados com HTLV-1. Além de lesões de pele persistentes, aparecimento de hepatoesplenomegalia, linfocitose persistente, presença de linfócitos com morfologia atípica, incluindo “*Flower cells*”, células linfocitárias com núcleos polilobulados (Ministério da Saúde, 2004).

Em áreas hiperendêmicas do Japão, o risco estimado de desenvolver LLcTA é entre 2 e 4% (Tajima *et al.*, 1990), enquanto que na Jamaica o risco é de 4% para aqueles que tivessem adquirido a infecção antes dos 20 anos (Murphy *et al.*, 1996). Postula-se que essas diferenças possam estar relacionadas com a via de transmissão (Barmak *et al.*, 2003).

O termo Paraparesia Espástica Tropical (PET) foi proposto em 1969 para descrever o quadro neurológico de etiologia então desconhecida, observado inicialmente em áreas tropicais e caracterizado por paraparesia crônica progressiva (Mani *et al.*, 1969). Em 1985 se reconheceu à associação entre dita entidade clínica e a infecção por HTLV-1 (Gessain *et al.*, 1985), propondo-se posteriormente nova denominação, mielopatia associada ao HTLV-1 (MAH) (Organização Mundial de Saúde, 1989).

Em pacientes com HTLV-1 o risco estimado para o desenvolvimento de PET/MAH flutua entre 1 e 4% (Murphy *et al.*, 1997; Osame *et al.*, 1997). Aparentemente, o risco é

mais alto na América Latina que no Japão (Araújo *et al.*, 1993; Nakagawa *et al.*, 1995), o qual tem sido relacionado com a presença de distintos alelos do grupo de antígenos leucocitários humanos (HLA) em ambas as regiões (Araújo *et al.*, 1993).

Uma das hipóteses mais aceita estabelece que a patogênese de PET/MAH se baseia em mecanismos inflamatórios. Tem sido proposto que múltiplas citocinas são liberadas em resposta a presença de proteínas virais na superfície de linfócitos infectados, o qual gera inflamação crônica e dano tissular (Osame *et al.*, 1997). Esse processo afetaria, seletivamente, a porção média dorsal da medula espinhal, dando lugar ao aparecimento gradual e progressivo do quadro de paraparesia simétrica com sinais de compromisso piramidal (Roman & Roman, 1988; Araújo *et al.*, 1993).

Em uma minoria dos casos, os sintomas neurológicos progridem rapidamente por fatores não totalmente conhecidos, entre os quais tem se postulado a maior idade para o início dos sintomas, os títulos maiores de anticorpos contra HTLV-1 e a carga proviral elevada (Kuroda *et al.*, 1991; Kida *et al.*, 1997).

Os pacientes com PET/MAH apresentam, freqüentemente, alterações do sistema genitourinário (Imamura, 1994). Temporariamente, aparecem dificuldades para iniciar a micção e nos casos mais severos pode observar-se retenção urinária e infecções urinárias repetidas, sendo estas últimas um evento freqüente na história clínica de pacientes com PET/MAH (Gotuzzo *et al.*, 1996; Gotuzzo *et al.*, 2004).

1.1.2.3 Epidemiologia do HTLV

A infecção por HTLV-1 tem sido descrita em muitas regiões do mundo, como: Japão (Kohakura *et al.*, 1986), África (Saxinger *et al.*, 1984) Oceania (Nerurkar *et al.*,

1993), Caribe (Caribbean *et al.*, 1990) e América do Sul (Gotuzzo, 2000). Uma área é considerada endêmica para HTLV-1 se 2 a 10 % da população adulta saudável esta infectada. A América do Sul, Brasil, Colômbia e Peru cumprem com esta definição (Zaninovic *et al.*, 1994; Zurita *et al.*, 1997).

Alguns autores têm considerado que o HTLV-1, assim como HTLV-2, esteve presente na América Latina em tempos pré-colombianos. O achado de DNA proviral de HTLV-1 em uma amostra de medula óssea de uma múmia de 1500 anos da antiguidade e a presença de focos endêmicos para HTLV-1 em povos nativos dos Andes seriam argumentos a favor desta hipótese (Li HC *et al.*, 1999; Fujiyoshi *et al.*, 1999). Sem dúvida, análises filogenéticas de múltiplas amostras contradizem aquela hipótese e constituem evidências convincentes da introdução pós-colombiana de HTLV-1 na América-Latina (Van Dooren *et al.*, 1998; Balcazar *et al.*, 2003).

As áreas Shikoku, Kyushu e Okinawa no Japão, são as que apresentam maiores índices de prevalência. É do Japão o maior número de dados sobre aspectos epidemiológicos e clínicos relacionados ao HTLV-1 (Goto *et al.*, 1997). Estudos realizados na Coréia e na China não revelaram áreas endêmicas e os casos encontrados tinham japoneses como ancestrais (Pancake *et al.*, 1996).

A prevalência do HTLV-1 na Austrália, entre doadores de sangue, foi de 1/100.000 (Whyte, 1997). Em Papua Nova Guiné foi encontrada prevalência de 14% em um grupo recentemente contactado, os Hagahai (Yanagihara *et al.*, 1990).

Conforme pesquisas realizadas em alguns países africanos, parece haver uma tendência para aumento da prevalência no sentido Norte Sul. Esses resultados devem ser interpretados com cautela, visto que há limitações de recursos diagnósticos do continente

africano e a presença de outras infecções, como por exemplo, a malária, pode interferir nos resultados (Delaporte *et al.*, 1988).

A infecção pelo HTLV parece ser rara e restrita a grupos específicos, como imigrantes de áreas endêmicas ou pessoas com comportamento de risco para retrovírus na Europa (Taylor, 1996). Entre índios Mayas, no México, foi encontrada a prevalência de 0,23% para o HTLV-2 (Góngora-Biachi *et al.*, 1997). Pesquisas realizadas nos EUA ainda não apontam soroprevalência para a população geral (Fang *et al.*, 1990).

A região do Caribe é reconhecida como endêmica para o HTLV-1 desde 1982 (Blattner *et al.*, 1982). A prevalência média na região é estimada em torno de 5%. Estudos conduzidos na Jamaica confirmam essa taxa em homossexuais masculinos (4,8%), pacientes com clínica de doenças sexualmente transmissíveis (5,7%) e pessoas que trabalhavam em atividades relacionadas com alimentos (6,1%) (Murphy *et al.*, 1991). Já em ameríndios da Costa Rica, a prevalência encontrada foi de 8,0% (Visoná *et al.*, 1997).

A infecção pelo HTLV-1 tem sido relatada em todos os países sul-americanos, com diferentes taxas de prevalência. Estudos apontam taxa de 0,73% na população chilena de doadores de sangue (Sanchez & Vázquez, 1991). Na Bolívia, alguns estudos enfocando a população descendente de japoneses provenientes de áreas de alta endemicidade, encontraram prevalências de 11 a 21% (Tsugane *et al.*, 1988). Estudando doadores de sangue e militares, Hurtado encontrou soroprevalências de 2,3% e 0,7% (1/150) nesses grupos, respectivamente (Hurtado *et al.*, 1997).

Pesquisas de prevalência entre doadores de sangue da Argentina apontam taxas de 0,04 a 0,1% (13/13418) (Biglione *et al.*, 1999), se considerados em geral, mas em doadores

de sangue da região de Jujuy, ao norte do país, os dados apontam para prevalências de 0,8% (39/4805) (Biglione *et al.*, 1997).

No Brasil os estudos se iniciaram em 1986. Estudos realizados entre doadores de sangue mostram taxas diferentes, sendo a prevalência mais elevada observada na Bahia (Galvão-Castro *et al.*, 1997). Variação nas taxas em regiões diferentes pode ser devida a desigualdades no tamanho das amostras e/ou metodologia empregada, bem como ser conseqüente à diferença de etnias nas populações estudadas.

O Pará é uma região considerada como endêmica para o HTLV, pois esse agente já foi detectado em varias comunidades indígenas (Ishak *et al.*, 1995; Vallinoto *et al.*, 2006) 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.*, 2005; Vicente *et al.*, 2005). O subtipo HTLV-1a também é frequente no referido estado. Isso ficou evidente em estudos moleculares realizados 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)

A transmissão do HTLV-1 ocorre através de três vias: de mãe para filho, por transfusão de sangue e sexual (Gotuzzo *et al.*, 2000). A transmissão de mãe para filho e por via sexual explica o risco intrafamiliar de infecção por HTLV-1 (Hu *et al.*, 1998).

A transmissão do HTLV-1 de mãe para filho ocorre principalmente através da lactação materna (Ando *et al.*, 1987) visto que a infecção intra-uterina (via transplacentária) e a perinatal tem sido reconhecidas como eventos infrequentes (Ando *et al.*, 2003). As taxas reportadas desta transmissão flutuam entre 5,7 e 37,5%, dependendo de fatores como a

idade materna, a duração de lactação e a carga proviral materna (Arango *et al.*, 1998; Fujino & Nagata, 2000; Hisada *et al.*, 2002).

Em um estudo no Japão observou-se que a prevalência geral do HTLV-1 em filhos de mães positivas foi de 16% (28/175). A prevalência entre crianças amamentadas ao seio foi significativamente mais alta nos que mamaram mais de 3 meses (27%) quando comparadas com o grupo das que mamaram menos de 3 meses (5%). De 78 crianças amamentadas com mamadeiras, cerca de 13% (10/78) estavam infectadas, sugerindo ser esta a taxa de infecção transplacentária (Hirata *et al.*, 1992). A PCR tem detectado DNA proviral em sangue periférico e leite de todas as mães portadoras (Fujino *et al.*, 1992).

Em regiões hiperendêmicas do Japão, a suspensão da lactação materna tem diminuído significativamente a taxa de infecção em filhos de mães portadoras de HTLV-1, demonstrando ser efetiva esta medida na prevenção da transmissão intrafamiliar do vírus (Katamine, 1999).

Em um estudo piloto que avaliou o desenvolvimento neurológico dos filhos de mães soropositivas para HTLV-1, não se encontrou diferenças significativas entre 10 filhos soropositivos para HTLV-1 e 38 filhos soronegativos com uma idade média em 45 meses (Montano *et al.*, 2004).

O risco de transmissão de HTLV-1 através de sangue total contaminado se tem estimado entre 50 e 60% (Larson & Taswell, 1988). O risco diminui quando o sangue se mantém armazenado mais de uma semana (Larson & Taswell, 1988). Não se tem descrito a transmissão do vírus através da transfusão de componentes acelulares. A transmissão através de agulhas contaminadas é pouco efetiva no caso de HTLV-1 (Okochi *et al.*, 1984).

A infecção por HTLV-1 pode ser considerada como uma enfermidade de transmissão sexual (ETS) (Gotuzzo, 2000). O vírus tem sido isolado no sêmen e em secreções cervicais de pessoas infectadas (Zunt *et al.*, 2002) e a infecção é mais freqüente em grupos de riscos para ETS (Cortes *et al.*, 1989; Wignall *et al.*, 1992; Gotuzzo *et al.*, 1994). Estudos conduzidos no Japão indicam que a probabilidade de transmissão do homem para a mulher é de 60,8%, contra 0,4% de transmissão da mulher para o homem (após 10 anos de relacionamento sexual) (Kajiyama *et al.*, 1986).

Em um estudo realizado na Jamaica observou-se que homens que tiveram mais de 20 parceiras sexuais em dez anos apresentaram prevalência de 4,1%, duas vezes maior, se comparados com homens que tiveram menos de 5 parceiras; contudo, não se observou um aumento de soropositividade estatisticamente significativa. Para as mulheres foi significativo ter tido mais de 10 parceiros sexuais com “*odds ratio*” de 3,5 (IC 95% : 1,3-9,7), quando comparados com menos de cinco parceiros (Murphy *et al.*, 1989).

1.1.2.4 Diagnóstico Laboratorial do HTLV

O diagnóstico do HTLV é feito por meio de técnicas sorológicas para a detecção de anticorpos anti-HTLV-1/2 e de biologia molecular para a detecção do genoma viral e subsequente diferenciação de espécies e genótipos do vírus (Catalan-Soares *et al.*, 2001).

Os métodos sorológicos baseiam-se na detecção de anticorpos específicos para componentes antigênicos das diferentes porções do vírus (*core* e envelope), que podem ser classificados em duas categorias:

a) As reações de triagem (usualmente não diferenciam o HTLV-1 do HTLV-2): A reação de aglutinação e o ensaio imunoenzimático (EIA), como por exemplo, o teste de

ELISA (Catalan-Soares *et al.*, 2001). Os testes imunoenzimáticos devem utilizar amostras de soro em duplicata. Essa técnica possui a vantagem de ser simples, apresentar alta sensibilidade e ainda poder ser automatizada para testagem simultânea de grande número de soros (Cossen *et al.*, 1992; Hjelle *et al.*, 1993). O ELISA utiliza como antígeno o lisado viral e proteínas virais obtidas por tecnologia recombinante ou por síntese de peptídeos.

b) As reações de confirmação: IFI (imunofluorescência indireta), RIPA/PAGE (radioimunoprecipitação em gel de poliacrilamida) e WB (*Western blot* ou *imunoblot*) (Catalan-Soares *et al.*, 2001). Os testes de *Western blot* utilizam como antígeno o lisado viral total, acrescido de epítomos imunodominantes recombinantes, correspondentes à porção N-terminal da proteína transmembrana (gp21) do HTLV-1/2 (peptídeos r21-e e GD21-I). Esses testes apresentam alta especificidade para detectar anticorpos contra o epítomo recombinante (Varma *et al.*, 1995).

Dessa forma, os indivíduos negativos são aqueles cujos soros não reagem com antígenos de HTLV. Os soropositivos são aqueles em que se detectam anticorpos contra antígenos do *core* (anti-p24), juntamente com anticorpos contra glicoproteínas do envelope (r21-e, gp46 ou gp61/68) nos testes confirmatórios. Os indeterminados são os que apresentam anticorpos séricos que reagem com antígenos de HTLV-1/2, porém com padrão de reatividade diferente dos soropositivos (Santos & Lima, 2005).

Dentre as causas de sorologia indeterminada para o HTLV são citadas: cepas divergentes do vírus linfotrópico, outros HTLV/STLV, outras retrovirose, malária e outras condições biológicas (Goubau, 1998).

O diagnóstico molecular de infecção por HTLV-1 ou HTLV-2 é indicado para o esclarecimento de casos inconclusivos aos testes sorológicos, quer seja por apresentarem

resultados indeterminados ao teste de *Western blot*, ou mesmo quando a reação de *Western blot*, embora positiva, seja incapaz de distinguir a infecção causada por HTLV-1 da causada por HTLV-2. Além disso, esse diagnóstico pode facilitar a identificação de lactentes infectados por transmissão vertical, a partir de mães soropositivas, uma vez que as provas sorológicas nessa situação não permitem descartar a presença de anticorpos maternos, transferidos passivamente por via transplacentária ao sangue das crianças (Nyambi *et al.*, 1996; Ando *et al.*, 2003).

Os testes moleculares baseiam-se em pesquisa de seqüências genômicas provirais em células mononucleares periféricas lisadas enzimaticamente pela proteinase K (Andrade-Serpa *et al.*, 1995; Vallejo *et al.*, 1995; Hashimoto *et al.*, 1998). Empregam-se técnicas de amplificação de segmentos genômicos, por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR). A PCR apresenta maior sensibilidade e especificidade que os métodos anteriores (Pancake *et al.*, 1996).

Os subtipos podem ser estimados pela construção de árvores filogenéticas utilizando seqüências *LTR* e *env*, amplificadas através da técnica da PCR (Alcantara *et al.*, 2003), ou através da análise de RFLP (*restrict fragment length polymorphism*) (Komurian-Pradel *et al.*, 1992, Segurado *et al.*, 2002).

1.1.2.5 Tratamento, Prevenção e Controle do HTLV

Não existe consenso quanto ao melhor tratamento (Nakagawa *et al.*, 1996). Recentemente tem sido empregada, com relativo êxito, a combinação de drogas antiretrovirais como lamivudina e zidovudina (Sheremata *et al.*, 1993). A combinação da administração de corticosteróides, drogas antiretrovirais e reabilitação poderiam melhorar

consideravelmente a qualidade de vida dos pacientes com PET/MAH, particularmente nos casos de progressão rápida (Araújo *et al.*, 1995). Intervenções com corticosteróides (Kira *et al.*, 1991b), a plasmaferese (Matsuo *et al.*, 1988), e o Interferon- α (Izumo *et al.*, 1996; Yamasaki *et al.*, 1997) tem sido tentado, mas os resultados são limitados. Sugere-se que a combinação do Interferon- α e zidovudina podem produzir alguns benefícios neurológicos (Yamano *et al.*, 1999).

A Prevenção da infecção pelo HTLV-1 é descrita da seguinte maneira:

A) A interrupção da lactação de crianças nascidas de mães HTLV-1 soropositivas. Essa medida é muito eficaz na prevenção em longo prazo da LLcTA e é aplicada no Japão e em certas ilhas do Caribe. Essa medida é mais difícil ou quase impossível de ser aplicada em outras zonas de forte endemia bem como em certas regiões da África e da América Central e do Sul (Gessain, 2001).

B) A abstinência sexual ou a utilização de preservativos, visto que o uso regular desses diminui significativamente a taxa de transmissão sexual de HTLV-1 (Gotuzzo, 2000).

C) A testagem sistemática dos doadores de sangue. Essa medida é posta em prática em muitos países. Nos departamentos franceses do Ultramar (Martinica, Guadalupe, Guiana) a soroprevalência do HTLV-1 é da ordem de 0,5 a 1,5% entre os doadores de sangue, contra cerca de 0,001 à 0,003% na França metropolitana. Na França, a identificação das infecções por HTLV-1/2 é obrigatório nos bancos de leites e em doadores de órgãos (Gessain, 2001).

D) O desenvolvimento de uma vacina contra HTLV-1, facilitado pela baixa variabilidade genética e pela existência de modelos animais, em particular entre os

primatas, poderia permitir diminuir a transmissão desta oncoretrovirose, e a prevenção de doenças mortais ou debilitantes como a LLcTA e o PET/MAH. Certos ensaios de vacinação são encontrados atualmente em modelos simiens (Kazanji & de Thé, 1999).

E) Não compartilhamento de agulhas e seringas.

1.1.2.6 O Impacto da Co-Infecção HIV-1/HTLV

O HIV e o HTLV compartilham vias comuns de transmissão, isto pode justificar a ocorrência da co-infecção. Nessa co-infecção HIV-HTLV, verifica-se que os indivíduos tendem a apresentar elevado número de células CD4+, sem que isso necessariamente signifique imunocompetência ou resposta favorável à terapêutica anti-HIV. Além disso, relata-se entre os co-infectados maior mortalidade, maior incidência de mielopatia, assim como a associação com formas graves de escabiose, notadamente suas formas crostosas (“sarna norueguesa”), e maior risco de infestação por *S. stercoralis*. Observa-se alta prevalência desta co-infecção em algumas regiões brasileiras, atingindo 15-20% entre usuários de drogas intravenosas na Bahia (Ministério da Saúde, 2004).

Alguns estudos têm focado a interação entre o HIV-1 e o HTLV-1 quando presentes no mesmo paciente. Teoricamente, o fato de ambos serem vírus linfotrópicos, infectarem o mesmo tipo de célula (predominantemente CD4+), afetar o sistema nervoso central (SNC), possuírem um longo período de latência e genes regulatórios torna essa interação bastante provável (Silva *et al.*, 2008).

Estudos *in vitro* têm mostrado que fatores secretados pelas células infectadas pelo HTLV-1 podem aumentar a replicação do HIV-1 em células monoinfectadas por este último vírus. Esses fatores são as proteínas *tax*, as quimiocinas CC e RANTES, que agem

como promotores do HIV com tropismo para linfócitos T (HIV T-trópico), bem como para macrófagos (HIV M-trópicos), e as proteínas inflamatórias derivadas de macrófagos 1α e 1β (MIP- 1α e MIP- 1β), que agem como supressores das variantes de HIV M-trópicas. Tal efeito levaria uma maior expressão do HIV-1 e consequentemente aumentando as chances de maior destruição de células CD4+, o que poderia resultar em aceleração da progressão do quadro de imunodeficiência (Mouriuchi *et al.*,1998).

Foi evidenciado que células previamente transformadas pelo HTLV-1, após serem infectadas pelo HIV-1, produzem réplicas deste último vírus com envelopes contendo proteínas provenientes do HTLV-1. Isso poderia explicar por que cepas do HIV têm um tropismo expandido para células com fenótipo diferente das habituais, atingindo até mesmo células B (Lawson, 2000). Beilke *et al.* (1998), conseguiram evidenciar que o HIV também pode levar a um aumento da expressão de proteínas do HTLV-1/2.

Alguns trabalhos, porém, mostraram uma modulação negativa na co-infecção HIV/HTLV. O HTLV-2 pode interferir na replicação do HIV-1 através do aumento de MIP- 1α , uma das citocinas comumente encontrada em alto título em sangue de pacientes HIV positivos sobrevivente de longo prazo e não progressores à AIDS (Casoli *et al.*,2000).

Investigações dos fatores naturais, induzidos pelo HTLV-2, que interferem na replicação do HIV-1 mostram que o CCL3L1 (isoforma do CCL3) é preferencialmente induzido em indivíduo HIV soronegativo exposto ao HTLV-2 e em pessoas co-infectadas HIV-1/HTLV, impedindo a progressão para a AIDS (Menten *et al.*, 2002). Em complemento, o HTLV-2 induz a produção de outras quimiocinas e citocinas (GM-CSF, INF- γ) para induzir a resposta Th1 contra a invasão de patógenos (O'Garra, 1998).

Alguns dados mostram que pacientes co-infectados HIV/HTLV-1 teriam uma média de contagem de células CD4+ maior que os monoinfectados pelo HIV-1 sem que isso traduza melhora no estado imunológico (Schechter *et al.*, 1997). Corroborando com essa idéia, Harrison *et al.* (1997) observaram que pacientes co-infectados não tem uma carga viral diferente dos monoinfectados, demonstrando que o aumento de células CD4+ não constitui um fator protetor para os pacientes co-infectados se tomarmos a carga viral para HIV como marcador de progressão da AIDS.

Do ponto de vista clínico, foi evidenciada alta prevalência de estrogiloidíase em pacientes co-infectados HIV/HTLV comparado com pacientes monoinfectados pelo HIV (Brites *et al.*, 2004). Um estudo retrospectivo brasileiro evidenciou que pacientes co-infectados HIV/HTLV tiveram menor tempo de sobrevida comparado com os monoinfectados pelo HIV (Brites *et al.*, 2001). Sobesky (2000), mostrou uma forte correlação entre co-infecção HIV/HTLV-1 e o aumento da mortalidade e Chavance *et al.* (1995) concluíram que a presença do HTLV-1 em um paciente com AIDS pode ser considerado um fator de risco para a aquisição de doenças oportunistas.

Porém, Hershov (1996), não evidenciou diferenças nas taxas de mortalidade ou de desenvolvimento da AIDS entre grupos de pacientes monoinfectados para o HIV ou co-infectados HIV/HTLV-2. Zhang (1998) observou um discreto aumento de células CD4+ no grupo dos co-infectados HIV/HTLV-2 em relação aos monoinfectados, mostrando que o HTLV-2 parece não influenciar na evolução da AIDS, e Beilke *et al* (1998) demonstrou que co-infectados HIV/HTLV-2 apresentavam maior sobrevida que os monoinfectados pelo HIV.

1.2 A FAMÍLIA *HERPESVIRIDAE*

A família *Herpesviridae* caracteriza-se pela capacidade dos vírus de infectar ativamente as células alvo ou então ficar em latência. Os herpesvírus possuem o genoma formado por uma molécula de DNA linear em dupla hélice e a sua replicação é nuclear. (Madigan *et al.*, 2000; Wagner & Hewlett, 1999). Apresentam envelope bilipídico, tegumento de estrutura fibrilar e capsídio icosaédrico (Jawetz *et al.*, 1973; Wagner & Hewlett, 1999; Ferreira & Sousa, 2002).

Os herpesvírus, por serem numerosos, foram divididos em 3 subfamílias, que se distinguem pelas suas características virais e estruturais, bem como pelo seu poder patogênico. As subfamílias de herpesvírus são: *Alphaherpesvirinae* (*Herpesvírus humano 1/HSV-1*, *Herpesvírus humano 2/HSV-2* e o *Herpesvírus humano 3/HHV-3*); *Betaherpesvirinae* (*Herpesvírus humano 5/HHV-5*, o *Herpesvírus humano 6/HHV-6* e o *Herpesvírus humano 7/HHV-7*); e *Gammaherpesvirinae* (*Herpesvírus humano 4/HHV-4* e o *Herpesvírus humano 8/HHV-8*), como descrito no quadro 1 (Wagner & Hewlett, 1999; Madigan *et al.*, 2000).

Quadro 1 - As 3 subfamílias dos Herpesvírus: Subfamília, designação, disseminações e a doença.

SUBFAMÍLIA	DESIGNAÇÃO	DISSEMINAÇÃO	DOENÇA
<i>Alphaherpesvirinae</i>	<i>Herpesvírus humano 1</i>	Contato direto	Herpes oral
	<i>Herpesvírus humano 2</i>	Contato direto	Herpes genital
	<i>Herpesvírus humano 3</i>	Contato direto e respiratório	Varicela e herpes-Zoster
<i>Betaherpesvirinae</i>	<i>Herpesvírus humano 5(CMV)</i>	Contato direto e transfusão	Mononucleose infecciosa
	<i>Herpesvírus humano 6</i>	Contato direto e respiratório	Exantema súbito (roséola)
	<i>Herpesvírus humano 7</i>	Contato direto	Exantema súbito (roséola)
<i>Gammaherpesvirinae</i>	<i>Herpesvírus humano 4 (EBV)</i>	Contato direto (Saliva)	Mononucleose infecciosa
	<i>Herpesvírus humano 8</i>	Contato direto (Saliva)	Sarcoma de Kaposi

Fonte: Adaptado de <http://www.fop.unicamp.br/biosseguranca/tops/top2.htm>

1.2.1 *Herpesvírus humano 8 (HHV-8)*

1.2.1.1 Biologia do HHV-8

O HHV-8 pertence à família *Herpesviridae*, subfamília *Gammaherpesvirinae* e é o primeiro membro descrito do gênero *Rhadinovírus* conhecido por infectar os humanos (Neipel *et al.*, 1998; Schulz, 1999).

Em 1994, Chang *et al.* identificaram um novo herpesvírus em tecidos de Sarcoma de Kaposi de um doente com AIDS, homólogo as seqüências do *Herpesvírus humano 4* e do *Herpesvírus saimiri* (HVS), chamado Herpesvírus associado ao Sarcoma de Kaposi (KSHV) ou *Herpesvírus humano 8 (HHV-8)*.

A identificação foi realizada utilizando a técnica de RDA (*Representational Difference Analysis*), na qual se compararam duas seqüências de DNA, usando como princípio básico a PCR. Desde então as seqüências de DNA do HHV-8 têm sido detectadas em quase todas as lesões SK analisadas, quer endêmico, clássico, iatrogenico ou epidêmico (Fouchard *et al.*, 2000).

O *Herpesvírus humano 8* tem sido implicado na patogênese de todas as formas epidemiológicas de SK, e em duas doenças linfoproliferativa, isto é, linfoma de efusão primário (PEL) e doenças multicêntricas de Castleman (MCD) (Cesarman *et al.*, 1995; Soulier *et al.*, 1995; Dupin *et al.*, 2000; Du MO *et al.*, 2001; Ho HH *et al.*, 2001; Ablashi *et al.*, 2002; Cioc *et al.*, 2004; Montaner *et al.*, 2004; Epstein *et al.*, 2005; Frezzini *et al.*, 2005). As principais células alvos da infecção pelo HHV-8 são os linfócitos B e células do endotélio vascular (Neipel *et al.*, 1998) (Quadro 2).

Quadro 2: Tipos de células infectadas em vivo com HHV-8

Tipo Celular	Infecção latente	Infecção lítica
Linfócitos B	Sim	Sim
Linfócitos B de PEL	Sim	Sim
Monócitos	Sim	Sim
Endotelial/spindle em SK	Sim	Sim
Epitélio oral	Sim	Sim

Fonte: De Paoli, 2004.

O HHV-8 possui um capsídeo icosaédrico com cerca de 120-150 nm de diâmetro, constituída por 162 capsômeros hexagonais (Wu *et al.*, 2000) envolvido por um envelope (formado pela bicamada lipídica de natureza celular e glicoproteínas de origem viral) e possui um tegumento protéico entre o cápsideo e o envelope (Ablashi *et al.*, 2002) (Figura 4).

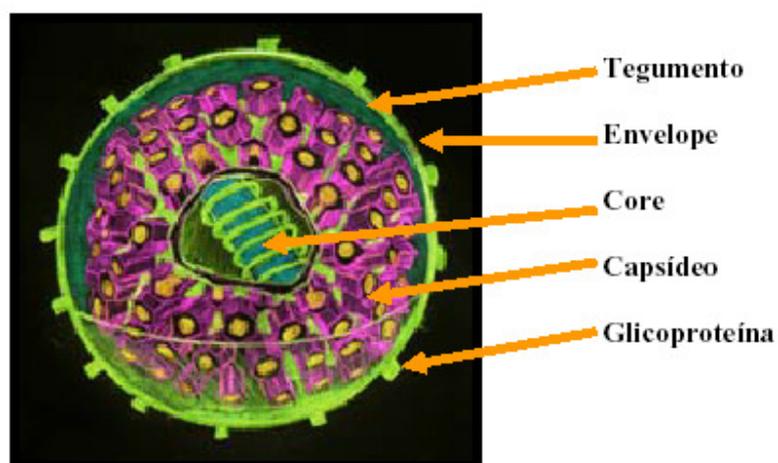


Figura 4 - Representação Esquemática do HHV-8

(Fonte: http://www.brown.edu/Courses/Bio_160/Projects2000/Herpes/Titlepages/Table-of-Contents.html).

O capsídeo é composto de quatro proteínas estruturais; três delas (codificadas pela *ORF* 25, 26, e 62) têm seqüências homólogas significantes para as proteínas do capsídeo da alfa e beta herpesvirose, enquanto que para *ORF* 65 faltam significantes similaridades (Neipel *et al.*, 1998; Schulz, 1999).

A estrutura genômica do HHV-8 consiste de uma molécula de DNA linear, de cadeia dupla, com cerca de 170 Kb que codifica 70-100 proteínas distintas (Renne *et al.*, 1996b). Em 1996 foi publicada a seqüência completa de 165 Kb do genoma do HHV-8, a qual identificou 15 *ORF* (*Open Reading Frames*) únicas do HHV-8 que foram designadas com o prefixo K. Foi realizada, também, a identificação da *ORF* 75, homóloga ao *HVS*, que foram numeradas de 1 a 75 (Russo *et al.*, 1996).

Esse genoma apresenta uma região longa única codificante (*LUR - Long Unique Region*) flanqueada por duas seqüências *LTR*. A *LUR* é composta por baixas concentrações de G+C (53,5%), possui 140,5 Kb e nela encontram-se as seqüências de leitura abertas (*ORF*). Enquanto a *LTR* possui 801 pares de bases (pb) contendo 84,5% de G+C. (Russo *et al.*, 1996). Durante a fase de infecção latente, o genoma do HHV-8 apresenta-se de forma circular, episossomal e poucas proteínas são produzidas. Durante a fase lítica encontra-se na forma linear (Renne *et al.*, 1996b) (Figura 5).

8 tem uma alta variabilidade (mais de 20%) no gene *ORF K1*, e que esta variabilidade faz do gene *K1* um ótimo marcador para genotipagem do HHV-8 e forte diferenciação (Schulz *et al.*, 2002).

Quatro subtipos moleculares do HHV-8 foram descritos com base no gene *ORF K1* (subtipos A, B, C e D) baseados em amostras de regiões geográficas distintas. Dentre esses quatro subtipos foram identificados 13 diferentes subgrupos (A1-5, C1-5, C3 e D1-2). (Zong *et al.*, 1999).

O subtipo B é mais prevalente na África e seria o precursor dos demais, enquanto os subtipos A e C foram encontrados principalmente na Europa e também nos Estados Unidos, neste último sendo mais freqüente o subtipo C. O subtipo D, raro, foi detectado apenas na Austrália, Nova Zelândia e Taiwan em pacientes com sarcoma de Kaposi clássico (Zong *et al.*, 1999).

Em população indígena da Amazônia Brasileira o subtipo de HHV-8 circulante mostrou ser diferente dos demais subtipos até então identificados e foi denominado subtipo E (Biggar *et al.*, 2000). Esse subtipo é encontrado em outras populações indígenas da América do Sul como observado em alguns estudos (Whitby *et al.* 2004; Karanji *et al.* 2005). Teoricamente o subtipo E é exclusivo de população indígena.

Ishak *et al.* (2005) ao estudar população indígena da Amazônia brasileira pertencente às tribos Karao, Arara Laranjal, Tiryo e Zo`e observaram a presença de anticorpos anti-HHV-8 em 66 amostras de 221 analisadas. A prevalência variou de acordo com o grupo étnico: 6 (25%) Karao, 18 (19.6%) Arara Laranjal, 24 (42.9%) Tiryo e 18 (36.7) Zo`e. A ORF 26 foi amplificada em 4 amostras, demonstrando existência dos subtipos

C (Zo'e) e E (Tiryó). Até o momento esse é o único relato da presença do subtipo C em indígenas.

Cunha *et al.* (2005), também investigaram a presença da infecção por HHV-8 em ameríndios da Amazônia brasileira e confirmaram a alta prevalência (56.8%) nesta população. Foi possível detectar o material genético do vírus em 13 indivíduos, e a análise do gene K1 demonstrou a existência dos subtipos A e E, sendo esse o único relato da presença do subtipo A em ameríndios.

Um novo subtipo de HHV-8, F, foi descrito em um indivíduo membro da tribo Bantu Ganda, proveniente de Uganda (Kajumbula *et al.*, 2006). Desse modo, até o momento foram descritos 6 diferentes subtipos de HHV-8.

A principal via de penetração dos herpesvírus é a fusão direta do envelope viral com a lamela externa da membrana celular, mas também podem penetrar na célula por endocitose seguida de fusão de membrana (Drew, 1992; Lupi & Avelleira, 2000). Após o desnudamento o DNA é transportado para o núcleo e assume uma forma circular (Jawetz, 1998).

A transcrição e a síntese protéica prosseguem de forma coordenada, regulada nas três fases: precoce imediata (α), precoce (β) e tardia (γ). Os produtos genéticos precoces imediatos são proteínas que estimulam a síntese do DNA e promovem a transcrição dos genes virais precoces. As proteínas precoces consistem principalmente de enzimas, como proteínas catalíticas. Essas enzimas fornecem substrato para a replicação e também inibem a produção e iniciam a degradação de RNA mensageiro (mRNA) e do DNA celular.

Os genes tardios são transcritos em proteínas do capsídeo que são transportadas ao núcleo, onde se juntam com o DNA genômico para formar o nucleocapsídeo viral (Drew,

1992). As partículas virais com envoltório são liberadas da célula através de estruturas tubulares contínuas com o exterior da célula ou a partir de vacúolos que liberam o seu conteúdo na superfície celular. O DNA viral é transcrito durante todo o ciclo de replicação pela RNA-polimerase II celular, porém com a participação de fatores virais (Jawetz, 1998).

1.2.1.2 Doenças Associadas ao HHV-8

O Sarcoma de Kaposi (SK) foi primeiro descrito em 1872 por Moriz Kaposi (Kaposi M., 1872). Existem três itens significantes de evidência que incluem HHV-8 na patogênese de SK. Primeiro, seqüências de DNA do HHV-8 foram encontradas universalmente em lesões SK de todos os tipos epidemiológicos (Chang *et al.*, 1994; Buonaguro *et al.*, 1996; Huang *et al.*, 1996; Lager *et al.*, 2003; Schwartz, 2004).

Segundo, estudos sorológicos demonstram anticorpos anti-HHV-8 em grupos de indivíduos que possuem risco elevado para desenvolverem SK, isto é, populações homossexuais, indivíduos HIV-Soropositivo, indivíduos imunocomprometidos, indivíduos com muitos parceiros sexuais, e aqueles com histórias de outras infecções sexualmente transmissíveis (Gao *et al.*, 1996; Kedes *et al.*, 1996; Davis *et al.*, 1997; Martin *et al.*, 1998; Means *et al.*, 2002; Taylor *et al.*, 2004).

Terceiro, o desenvolvimento de SK é precedido por soroconversão de HHV-8 e esta associado com a detecção de seqüências de DNA de HHV-8 no soro de indivíduos com SK (Parravicini *et al.*, 1997; Martin *et al.*, 1998; Chatlynne & Ablashi, 1999; Means *et al.*, 2002).

Clinicamente, o sarcoma de Kaposi pode ser classificado em quatro formas clínico-epidemiológicas distintas:

O Sarcoma de Kaposi Clássico é uma doença de pele, que acomete principalmente homens com mais de 60 anos, que residem em áreas do mediterrâneo, do Leste Europeu e de descendência judaica. O SK aparece com múltiplas formas: placas vermelhas-arroxeadas e nódulos nos membros inferiores. Tem um curso crônico e raramente ocorre envolvimento visceral, porém podem ocorrer complicações devido à linfodemas ou hiperqueratose (Peterman *et al.*, 1991).

O Sarcoma de Kaposi Endêmico Africano é a forma de sarcoma que possui quatro padrões clinicamente distintos: (I) Doença cutânea nodular benigna, semelhante ao Sarcoma de Kaposi clássico, que ocorre, predominantemente, em adultos jovens (idade média de 35 anos) com proporção entre homem /mulher de 13-17/1 (Taylor *et al.*, 1992); (II) Doença cutânea agressiva localizada, invadindo tecidos moles e ósseos, a qual é normalmente fatal dentro de 5 a 7 anos (Kestens *et al.*, 1985; Taylor *et al.*, 1992); (III) Doença mucocutânea e visceral e (IV) Doença linfadenopática fulminante, a qual rapidamente dissemina para os linfonodos e órgãos vísceras geralmente sem apresentação de lesões cutâneas, ocorrendo principalmente em crianças (idade média de 3 anos) na proporção de 3 homens para 1 mulher (Kestens *et al.*, 1985).

O Sarcoma de Kaposi Associado à SIDA/AIDS se manifesta tanto sob a forma de lesões cutâneas quanto viscerais, sendo a forma mais agressiva do SK. As lesões podem surgir rapidamente em poucos dias, iniciando como máculas, frequentemente evoluindo para pápulas e tumores. Antes da terapia anti-retroviral combinada ou “*Highly active antiretroviral therapy*” (HAART), a doença era um marcador da AIDS. Acomete indivíduos adulto-jovens, sendo mais frequentes em homens com comportamento de risco homossexual (Anon, 1981; Beral *et al.*, 1990; Antman & Chang, 2000).

O Sarcoma de Kaposi Relacionado a Transplante ou a Imunossupressão Iatrogênica tem sido descrito em pacientes recebendo terapia imunossupressiva crônica e em receptores de transplante de órgãos. É mais comum em regiões endêmicas de HHV-8 e em indivíduos do sexo masculino (Parravicini *et al.*, 1997; Regamey *et al.*, 1998b; Kondo *et al.*, 2000; Seckin *et al.*, 2000).

O PEL é uma doença rara, um linfoma não-Hodgkin, e caracteriza-se pela existência de efusões linfomatosas nas cavidades pleural, peritoneal e/ou pericárdica (Nador *et al.*, 1996). Os doentes a quem é diagnosticada esta doença têm uma esperança média de vida de cerca de 5 meses (Foreman, 2001).

O mecanismo de patogenicidade desta doença ainda é controverso, embora se considere que esta infecção implique na co-infecção com o EBV (Vírus Epstein-Barr) e que provoca alterações no sistema imune, principalmente em nível dos linfócitos B e na expressão da imunoglobulina (Ablashi *et al.*, 2002). As células linfomatosas apresentam tamanho heterogêneo, núcleo pleomórfico e irregular, citoplasma abundante e nucléolo proeminente (Gaidano *et al.*, 1996).

Em 1995, foi feita, pela primeira vez, a detecção do HHV-8 em alguns casos de Doença Multicêntrica de Castleman (DMC). A DMC é uma desregulação linfoproliferativa atípica, cuja sintomatologia vai desde fenômenos auto-imunes a irritações cutâneas, caracterizada por linfadenopatia sistêmica, hipergamaglobulinemia, devido em parte, à elevada concentração sérica de interleucina 6, além de febre e fraqueza (Oksenhendler *et al.*, 1996). Frequentemente os pacientes desenvolvem outras enfermidades como o SK e linfomas (Soulier *et al.*, 1995).

O HHV-8 está presente em quase todos os casos de DMC. Em doentes HIV positivos o DMC está frequentemente associado ao SK e é geralmente observado em homens infectados com HIV por via sexual (Oksenhendler *et al.*, 2000).

Histologicamente a DMC é classificada em dois tipos: um caracterizado por uma extensa proliferação de células plasmáticas e persistência da arquitetura nodular (variante celular plasmática) e o outro caracterizado por centros germinais anormais e abundantes vasos hialinizados (variante vascular hialina). Variantes combinando características de ambos os tipos podem ocorrer. Em pacientes com SIDA/AIDS, a DMC é frequentemente associada com SK e normalmente pertence a variante celular plasmática (Dupin *et al.*, 2000).

1.2.1.3 Epidemiologia do HHV-8

HHV-8 não é encontrado uniformemente em toda parte como é o caso da maioria das outras herpesvíroses humanas (Chatlynne & Ablash, 1999). A disseminação do vírus entre a população humana varia bastante dependendo da região geográfica.

Baixas taxas de soroprevalência do HHV-8 (0-5%) foram estabelecidas no Norte Europeu, Ásia e América do Norte, taxas de soroprevalência intermediárias do HHV-8 (5-20%) foram encontrados no mediterrâneo, na Europa Oriental, e países Caribenhos; e elevada taxa de seroprevalência de HHV-8 foram detectadas na África Central e do Sul (Moore, 2000).

As taxas de soroprevalência da infecção pelo HHV-8 são relativamente baixas na Ásia (Índia 3,7%; Tailândia, Malásia e Sri Lanka menos que 4,4%) (Ablashi *et al.*, 1999), nos Estados Unidos, na Europa excluindo Itália (2%-6,5%), (Chatlynne *et al.*, 1998; Gambus *et al.*, 2001; Iscovich *et al.*, 2000; Juhasz *et al.*, 2001; Preiser *et al.*, 2001), e é

elevada no sul da Itália (24%) (Whitby *et al.*, 1998), e na África Sub-Saariana (>36%) (Olsen *et al.*, 1998; Ablashi *et al.*, 1999; Engels *et al.*, 2000; Whitby *et al.*, 2004).

Em países do Leste africano a prevalência de anticorpos no soro para o HHV-8 é invariavelmente alta (Tanzânia, 33%-84%; Uganda, 53%-77% e Zâmbia, 37,5%) (Lennette *et al.*, 1996; Olsen *et al.*, 1998; Ablashi *et al.*, 1999; de-The G *et al.*, 1999; Grossman *et al.*, 2002), e conseqüentemente países africanos tem a mais elevada prevalência do mundo (Ziegler *et al.*, 1997; Wabinga *et al.*, 2000; Grossman *et al.*, 2002).

A soroprevalência do HHV-8 é mais elevada entre indivíduos homossexuais HIV-soronegativo, comparado com a população heterossexual HIV-soropositivos. Variando de 20% para 38% (Martin *et al.*, 1998; O'Brien *et al.*, 1999; Atkinson *et al.*, 2003), e é elevadamente freqüente em populações homossexuais de HIV-Soropositivos, variando de 30% para 48% (Gao *et al.*, 1996; Ablashi *et al.*, 1999; Martin *et al.*, 1998; Regamey *et al.*, 1998a).

Indivíduos HIV-soropositivos com SK têm no mínimo 95% de soropositividade para o HHV-8 comparado com 30% em indivíduos HIV-Soropositivo sem SK. Em homens homossexuais que são soropositivo para ambos HHV-8 e HIV, a presença de DNA do vírus HHV-8 em células mononucleares sangüíneas periféricas (PBMC) precede e prognostica o desenvolvimento de SK (Moore & Chang, 1995; Whitby *et al.*, 1995; Moore *et al.*, 1996), e entre 30% e 50% de indivíduos neste grupo desenvolverá SK dentro de 10 anos de adquirir a infecção dual (Martin *et al.*, 1998; O'Brien *et al.*, 1999; Rezza *et al.*, 1999; Jacobson *et al.*, 2000; Cannon *et al.*, 2003).

O HHV-8 é quase que prevalente na Ásia assim como na Europa e nos Estados Unidos, a associação HIV-SK é incomum na Ásia (Tsang & Samaranayare, 1999): Lesões

orais HIV-SK são ausentes de relatos nas lesões orais em indivíduos HIV-Soropositivo da China (Tsang & Samaranayare, 1999), da Índia (Anil & Challacombe, 1997), da Tailândia (Nittayanata *et al.*, 1997; Reichart *et al.*, 2003), e do Camboja (Reichart *et al.*, 2003).

O SK é extremamente raro entre imigrantes etiopianos Judaicos de Israel. Em um estudo de prevalência de SK e soropositividade para o HHV-8 em um grupo dessas pessoas, Grossman *et al.* (2002) informaram que 39,1% dos indivíduos HIV-soronegativos e 57% de indivíduos HIV-soropositivos foram infectados com o HHV-8, porém nove dos Etiopianos HIV-soronegativos tiveram SK, e somente 0,85% (1 de 118) de indivíduos HIV-soropositivos, que já tinham AIDS tiveram HIV-SK (Grossman *et al.*, 2002).

A imigração de Judeus Etiopianos a Israel é provavelmente representativa da população Etiopiana em geral, e assim sabe-se que a prevalência de SK na Etiópia é geralmente baixa (Grossman *et al.*, 2002; Lindtjorn, 1987; Getachew *et al.*, 1997; Figueroa *et al.*, 1998; Kassa *et al.*, 1999). É possível que fatores genéticos possam proteger populações específicas e fazê-las resistente ao desenvolvimento do SK até mesmo na presença da co-infecção HIV e HHV-8 (Grossman *et al.*, 2002).

No Brasil anticorpos anti-HHV-8 foram detectados em 3-7% dos doadores de sangue (Caterino-de Araujo *et al.*, 1999; Zago *et al.*, 2000; Ferreira *et al.*, 2003; Perez *et al.*, 2004), em 74-99% dos pacientes HIV positivos com SK e em 4-39% dos pacientes HIV positivos sem SK (Zago *et al.*, 2000; Keller *et al.*, 2001; Souza *et al.*, 2004).

Em São Paulo, vários estudos foram realizados e mostraram taxas de infecção pelo HHV-8 variando de 0 a 30% em população sadia de banco de sangue. Em profissionais da área da saúde e populações de regiões urbanas foram detectadas taxas de até 8%, enquanto nos homossexuais masculinos, HIV-soropositivos mais de 30% (Caterino-de-Araujo *et al.*,

1997; Caterino-de-Araujo, 1998; Caterino-de-Araujo, 1999; Caterino-de-Araujo *et al.*, 1999; Pierrotti, 2000; Caterino-de-Araujo *et al.*, 2000; Carbone, 2002; Caterino-de-Araujo *et al.*, 2003; Caterino-de-Araujo & Cibella, 2003; Gomes, 2003; Moreira, 2003).

Já na população urbana da cidade de Belém, PA, foi detectada taxa de 16,3% de infecção por HHV-8. Esse mesmo estudo apresentou soroprevalência de 33% em adultos saudáveis com 40 anos ou mais de idade (Freitas *et al.*, 2002).

Em estudo conduzido com a população indígena da Amazônia brasileira, a prevalência de infecção por HHV-8 foi de 53% (Biggar *et al.*, 2000). Os achados iniciais de Biggar foram confirmados por outros estudos publicados nos anos seguintes (Whitby *et al.*, 2004; Kazanji *et al.*, 2005; Ishak *et al.*, 2005; Cunha *et al.*, 2005; Souza *et al.*, 2007), comprovando que a infecção pelo HHV-8 é endêmica nessas populações.

Apesar de um grande número de estudos em epidemiologia e virologia, o modo de transmissão exato do HHV-8 ainda está por ser completamente elucidado (Cannon *et al.*, 2003; Dukers & Rezza, 2003). Vários dados sugerem que as modalidades da transmissão do HHV-8 podem diferir entre os países onde o vírus é endêmico e onde a infecção é esporádica (Dukers & Rezza, 2003).

Devido à prevalência baixa do HHV-8 em crianças com menos de dois anos (depois do desaparecimento de anticorpos maternos transferidos passivamente) sugere-se que o HHV-8 é principalmente transmitido entre membros familiares com contato interpessoal muito próximo, enquanto a transmissão durante gravidez, parto e através da amamentação tem um papel mínimo na propagação do vírus (Corey *et al.*, 2002; Pauk *et al.*, 2000). Dados apóiam o contato direto com a saliva como a forma de transmissão mais comum para a infecção viral (Koelle *et al.*, 1997; Pauk *et al.*, 2000; Corey *et al.*, 2002).

Tem sido demonstrado que o DNA do HHV-8 em indivíduos com HIV-SK esta presente mais frequentemente e em concentração mais elevada em fluidos orais, que em outras secreções corpóreas ou em alguns tecidos. Isto pode explicar a alta prevalência de HIV-SK na boca (Pauk *et al.*, 2000; Cannon *et al.*, 2003; Taylor *et al.*, 2004).

Muitos investigadores concordam que entre homens homossexuais HIV positivo, existe a transmissão sexual do vírus. A infecção pode depender de práticas sexuais, as quais incluem também transmissão de fluidos orais (Martin *et al.*, 1998; Pauk *et al.*, 2000; Dukers *et al.*, 2003).

Apesar da incidência do HHV-8 ser menos freqüente em hemofílicos ou usuários de drogas intravenosas, o vírus pode se transmitido através do sangue e do compartilhamento de agulhas (Schulz, 1999; Cannon *et al.*, 2003; Dukers *et al.*, 2003). Alguns estudos demosntraram a transmissão do HHV-8 pelo transplante renal de doadores com sorologia positiva para receptores com sorologia negativa (Regamey *et al.*, 1998b).

A presença de vários parceiros sexuais, história prévia de infecções sexualmente transmissíveis (DST), sexo oral e parceiros com SK são fatores de risco para a infecção pelo HHV-8 em homossexuais (Martin *et al.*, 1998).

1.2.1.4 Diagnóstico Laboratorial do HHV-8

Os diagnósticos laboratoriais de infecção por HHV-8 são baseados na sorologia e ensaio de biologia molecular para detectar ácidos nucleicos virais. Esses testes são essenciais para estudar a epidemiologia desse vírus, para a administração clínica de indivíduos infectados por HIV e para transplante de órgãos, não somente para proteger doadores de órgão, mas também avaliar o risco de SK posterior ao transplante (Schulz, 1999; Schulz 2000; Tedeshi *et al.*, 2002 ; Dukers & Rezza, 2003).

Ensaio por Imunofluorescência, usando linhagens de células do PEL infectadas, foi empregado inicialmente para detectar anticorpos anti-HHV-8 nessas linhagens celulares. (Chandran *et al.*, 1998; Corchero *et al.*, 2001; Tedeshi *et al.*, 2002). Em geral, ensaios baseados em antígenos latentes são menos sensíveis que ensaios baseados em antígenos líticos (80-90% vs. >95%, respectivamente) (Schulz, 2000) e o aparecimento de anticorpos líticos precedem aqueles anticorpos latentes (Corchero *et al.*, 2001; Tedeshi *et al.*, 2002).

A detecção de anticorpos contra o HHV-8 pode ser feita por imunofluorescência indireta (IFI), ensaio imunoenzimático do tipo ELISA ou *Western blot* (WB). (Schulz, 1999; Schulz 2000; Tedeshi *et al.*, 2002; Dukers *et al.*, 2003) (Quadro 3).

Quadro 3 - Antígenos e ensaio sorológico para detectar anticorpos anti HHV-8

Gene	Nome da proteína	Fase de Replicação	Tipo de antígeno	Ensaio
<i>ORF 73</i>	LANA	Latente	RP	WB
<i>ORF 73</i>	LANA	Latente	RP	ELISA
<i>ORF 65</i>	Antígeno pequeno do Capsideo viral	Lítico	RP	WB
<i>ORF 65</i>	Antígeno pequeno do Capsideo viral	Lítico	RP	ELISA
<i>ORF 65</i>	Antígeno pequeno do Capsideo viral	Lítico	PEP	ELISA
<i>ORF 59</i>	Fator de Processamento	Lítico	RP	ELISA
<i>ORF 25</i>	Maior proteína capsidica	Lítico	RP	ELISA
<i>ORF 26</i>	Menor proteína capsidica	Lítico	RP	ELISA
<i>ORF K 12</i>	Kaposin	Lítico	RP	WB
<i>ORF K 12</i>	Kaposin	Lítico	RP	ELISA
<i>ORF K8.1</i>	Glicoproteína	Lítico	RP	ELISA
<i>ORF K8.1</i>	Glicoproteína	Lítico	PEP	ELISA

Fonte: adaptado de De paoli, 2004.

Ensaio de ácidos nucleicos são ferramentas essenciais no diagnóstico de pesquisa de doenças virais em particular quando a cultura viral e a identificação são difíceis para estabelecer. Tem sido mostrado por esses ensaios que HHV-8 está presente em lesões SK, isto é uma importante ferramenta de diagnóstico para os patologistas (Moore & Chang, 1995; Ensoli *et al.*, 2001).

Foram padronizadas técnica de PCR capazes de identificar diferentes segmentos do genoma do HHV-8 em vários espécimes sorológicos. Chang *et al.*, em 1994, padronizaram a PCR para a *ORF 26*. Posteriormente vários estudos foram realizados, utilizando diversos fluidos biológicos e fragmentos de biópsias da lesão de SK nas suas diversas formas clínicas (Dupin *et al.*, 2000; Ensoli *et al.*, 2001; Cannon *et al.*, 2003).

O método histopatológico mais sensível e conveniente de detecção do HHV-8 é a imunohistoquímica de pesquisa de anticorpos contra a proteína ORF73 (Schulz, 1999; Katano *et al.*, 2000b). O HHV-8 é frequentemente detectado em espécimes de mucosas orais, em plasma e nas células sanguíneas mononucleares periféricas, enquanto está raramente encontrado no trato genitourinário (Koelle *et al.*, 1997; Martin *et al.*, 1998; Pauk *et al.*, 2000).

1.2.1.5 Tratamento, Prevenção e Controle do HHV-8

Entre as terapêuticas eficazes a HAART é a de primeira escolha. Desde a introdução da HAART em 1996, a frequência de SK tem diminuído acentuadamente nas pessoas infectadas pelo HIV e a melhoria do curso clínico da doença tem colaborado para o bom prognóstico, mesmo naqueles com SK e com envolvimento visceral (Krown *et al.*, 1997; Bower *et al.*, 2005; Leidner & Aboulafia, 2005).

Podem ser utilizadas criocirurgias, alcalóides da vinca, bleomicina ou interferom, radioterapia, radiação do cobalto (fracionada), retinóides (ácido 9-cis-retinóico) e camuflagem cosmética, dependendo do tamanho do tumor e da sua localização (Ramirez-Amador *et al.*, 2002).

Pacientes com SK sistêmico podem utilizar a terapêutica sistêmica com quimioterápicos. A utilização do Interferom alfa (INF- α), paclitaxel ou antaciclina lipossômicas está reservada para as situações de progressão de doença pós HAART ou quando existe comprometimento visceral (Sgadari *et al.*, 2002).

Atualmente há diferentes terapias antivirais que actuam especificamente na replicação do vírus, sendo os mais comuns, o aciclovir, o valaciclovir, o ganciclovir e o foscarnet. Todas essas drogas têm por base a inibição da polimerase viral por introdução no interior da célula de um composto fosforilado análogo a um nucleósido, que se liga a DNA viral em replicação, impedindo a continuação desta. Assim, nenhuma dessas medicações representa uma cura para a infecção do vírus uma vez que apenas atuam na fase ativa do vírus, não tendo qualquer ação na fase latente (Gill *et al.*, 1991).

Recentemente vem sendo utilizado o regime combinado de drogas em doses menores de adriamicina, bleomicina, vincristina (ABV) que mostrou bom resultados e menos toxicidade (Gill *et al.*, 1991).

1.2.1.6 O Impacto da Co-Infecção HIV-1/HHV-8

A deficiência da resposta imune causada pelo HIV-1 é um fator de risco para o desenvolvimento de HIV-SK como é o caso de SK na imunossupressão iatrogênica (Heggen *et al.*, 2002). A transativação do HIV pela proteína (Tat) por intermédio do interferon (IFN-

γ) tem a capacidade de induzir a proliferação celular endotelial e facilitar invasão da matrix extracelular (Fiorelli *et al.*, 1999; Fauci & Lane, 2005).

Em 1995, o HHV-8 foi detectado pela primeira vez em linfomas de efusão primária de indivíduos infectados pelo HIV. As células retiradas desses linfomas continham um elevado número de cópias de DNA do HHV-8 (40-100 cópias/célula) (Cesarman *et al.*, 1995).

A infecção ativa por HIV pode aumentar a severidade da DMC pelo aumento da carga viral do HHV-8. Sugere-se que a proteína Tat do HIV-1 possa estar envolvida nesse processo, talvez pela indução da expressão de IL-6 e IL-10 humanas em células linfóides (Oksenhendler *et al.*, 2000).

A proteína Tat do HIV pode, também, alto-regular a expressão de genes líticos do HHV-8, incluindo vGPCR. Esse tem o potencial para transformar células endoteliais (Sodhi *et al.*, 2004; Yen-Moore *et al.*, 2000), e pode estimular angiogênese pela via do receptor vEGF (Hengge *et al.*, 2002; Albini *et al.*, 1996), através de interações diretas com $\alpha v\beta 3$ -integrina ou *spindle cells* (neurônios fusiformes) de SK (Barillari *et al.*, 1999; Hengge *et al.*, 2002), e por indução de bFGF (Barillari *et al.*, 1999; Hengge *et al.*, 2002). Além disso, bFGF estimula a produção de fatores de crescimento- β e matriz metaloproteínas-2, os quais estão associadas em câncer com invasão de tumor (Hase *et al.*, 2006).

Durante a infecção com o HIV a expressão de citocinas imuno-regulatórias, incluindo TNF- α , IL-1 β , IL-8, e IL-6, está aumentada. Algumas dessas citocinas inflamatórias são indutoras da expressão do gene do HHV-8, e de angiogênese (Heggen *et al.*, 2002; Fauci *et al.*, 2005). Pode se especular que a expressão aumentada de vGPCR disregularizado em células endoteliais infectadas com HHV-8 latente, causada pela proteína

Tat do HIV e pelas citocinas inflamatórias, podem conferir uma frequência aumentada de SK em indivíduos imunocomprometidos. Isto pode também conferir a um curso natural agressivo de HIV-SK quando comparado com o comportamento mais benigno de SK clássico (Sodhi *et al.*, 2004).

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo Geral

Descrever a epidemiologia molecular das infecções causadas pelos Vírus linfotrópico de células T humanas 1 e 2 (HTLV-1 e HTLV-2) e o *Herpesvírus humano 8* (HHV-8) em indivíduos portadores do *Vírus da imunodeficiência humana 1* (HIV-1) com ou sem SIDA/AIDS, da cidade de Belém, Pará.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Descrever a prevalência da co-infecção dos Vírus linfotrópico de células T humanas 1 e 2 (HTLV-1 e HTLV-2) e do *Herpesvírus humano 8* (HHV-8) em portadores do HIV-1;
- Descrever os subtipos de HTLV-1/2 e de HHV-8 circulantes entre portadores do HIV-1;
- Avaliar o impacto das co-infecções pelos HTLV-1, HTLV-2 e HHV-8 em marcadores imunológicos (níveis de linfócitos T CD4⁺) e virológicos (carga viral plasmática) entre portadores do HIV-1;
- Descrever possíveis associações entre a soropositividade obtida para o HTLV-1, o HTLV-2 e o HHV-8 e informações sócio-demográficas entre portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS;
- Estabelecer relações filogenéticas entre os vírus encontrados (HTLV-1/2 e HHV-8) co-infectando os portadores do HIV-1.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 POPULAÇÕES EXAMINADAS E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

2.1.1 Grupo Populacional a ser Estudado

Foi programado um estudo seccional para estimar a prevalência dos agentes virais listados na presente proposta. A colheita de amostras, de acordo com o recorte de sexo e idade, obedeceu ao perfil existente no registro epidemiológico do Estado do Pará, em que existe um número de 9.486 pessoas infectadas pelo HIV-1, sendo a maioria de maiores de 25 anos e composição de 64,0% de homens e 35,0% de mulheres.

As amostras foram coletadas obedecendo aos cálculos de amostragem usando o programa BioEstat 5.0, usando-se o cálculo para o tamanho amostral para proporções (uma amostra), com poder de teste 0,90 e nível alfa de 0,01. Os índices de prevalência esperados para as co-infecções listadas no presente trabalho foram estimados a partir de resultados preliminares existentes entre o grupo e a população da cidade de Belém como referência, onde no grupo examinado a prevalência sempre foi maior do que na população em geral (teste unilateral). Foram considerados os números a seguir: HTLV (1% vs. 0,1%; n=499) e HHV-8 (20% vs 5%; n=47). Como resultado, a estimativa amostral para os resultados sorológicos foi de aproximadamente 500 indivíduos para que se pudesse satisfazer estatisticamente aos dois agentes.

A coleta de informações também ocorreu por meio de um questionário simplificado com um mínimo de informações cadastrais, sócio-econômicas e comportamentais.

Foi analisada uma amostra de sangue periférico de cada indivíduo portador da infecção pelo HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS, dos pacientes (homens e mulheres) atendidos na Unidade de Referência de Doenças Infecciosas e Parasitárias Especiais (URE

DIPE) e no hospital de referência para AIDS no Estado do Pará, o Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB).

As informações dos marcadores imunológicos (níveis de linfócitos T CD4⁺) e virológicos (carga viral plasmática) desses indivíduos foram obtidas de outra pesquisa também realizada no laboratório de virologia da UFPA.

2.1.2 Colheita das Amostras

As amostras de sangue foram coletadas de 515 indivíduos infectados com o HIV-1, desses 310 eram usuários da URE DIPE, enquanto 205 eram pacientes do HUIBB.

Foi coletado cerca de 5 mL de sangue periférico de cada um dos indivíduos pela equipe de técnicos de enfermagem da URE DIPE e do HUIBB, no período de 22 de janeiro de 2008 a 22 de dezembro de 2008. Essas amostras de sangue foram obtidas em um sistema de colheita a vácuo em tubos contendo EDTA como anticoagulante, e encaminhadas ao Laboratório de Virologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, para a obtenção de plasma e de células mononucleadas do sangue periférico (PBMC), que foram estocados a -20⁰C até o momento de uso.

2.1.3 Aspectos Éticos

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do HUIBB e obedeceu a Resolução 196/1996 e a Resolução 347/2005, ambas do Conselho Nacional de Saúde, conforme cópia de protocolo em anexo. Todas as amostras foram obtidas mediante a assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido, conforme modelo em anexo.

2.2 MÉTODOS LABORATORIAIS DE SOROLOGIA

Os indivíduos envolvidos no presente estudo fazem parte da rede pública de atendimento ao portador do HIV e já estavam com o diagnóstico laboratorial firmado, seguindo portaria ministerial específica para o diagnóstico laboratorial do vírus.

2.2.1 Ensaio Imunoenzimático para a Detecção de Anticorpos anti-HTLV-1/2

Os plasmas das amostras obtidas foram testados para a presença de anticorpos anti-HTLV-1/2, usando ensaio imunoenzimático do tipo ELISA (*Ortho Diagnostic Systems Inc., USA*). O teste utiliza uma combinação de quatro antígenos recombinantes: um antígeno do envelope do HTLV-1, um antígeno do envelope do HTLV-2, e dois antígenos do capsídeo do HTLV-1 e do HTLV-2 e os soros reativos foram confirmados por biologia molecular pela amplificação da região *pX* do genoma integrado do vírus.

2.2.2 Ensaio Imuno Enzimático para a Detecção de Anticorpos anti-HHV-8

Os plasmas das amostras obtidas foram testados para a presença de anticorpos anti-HHV-8, usando ensaio imunoenzimático do tipo ELISA (HHV-8 IgG ELISA , *ABI-Advanced Biotechnologies Incorporated*). O teste utiliza uma combinação de antígenos recombinantes do HHV-8.

2.3 MÉTODOS LABORATORIAIS DE BIOLOGIA MOLECULAR

Foi utilizado o método de extração de DNA total a partir de sangue total das amostras soropositivas para HTLV-1, HTLV-2 e HHV-8, de acordo com o protocolo do kit de isolamento de ácido nucléico da *Puregene, Gentra Systems, Inc., USA*. O procedimento

ocorreu seguindo as etapas de lise celular, de precipitação de proteínas, de precipitação do DNA e de hidratação do DNA.

2.3.1 Reação em Cadeia Mediada pela Polimerase (PCR)

No presente trabalho a PCR para o HTLV foi realizada em duas etapas (*Nested PCR*), para a amplificação de três regiões genômicas (*pX*, *env* e *5'LTR*) do DNA proviral do HTLV, a partir do DNA dos indivíduos soropositivos (Tabela-1). A amplificação dos seguimentos citados anteriormente, foi realizada no termo-ciclador da *Perkin-Elmer Cetus Corp., USA*. Após a PCR, os produtos amplificados das regiões *pX* (159 pb), *env* (630 pb) e *5'LTR* (788 pb) foram digeridos por endonucleases de restrição (Tabela 2) e o segmento *5'LTR* do HTLV-1 (788 pb) e do HTLV-2 (800 pb) foram submetidos à análise de seqüenciamento das bases nucleotídicas. As condições de tempo e temperatura para cada região amplificada estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1- Iniciadores utilizados na PCR e respectivas regiões do HTLV amplificadas

Região	1.1.1	Iniciadores	1.1.2	Nucleotídeos	1.1.3	Programa
<i>pX</i> (159 pb) (Guroff <i>et al.</i> , 1982)		TR101		7219-7238		94°C 5` 94°C 40``
		TR102		7483-7464		51°C 30`` 72°C 40``
		TR103L		7248-7268		72°C 10`
		TR104		7406-7386		
<i>env</i> (630 pb) (Hall <i>et al.</i> , 1992)		E406		6641-6661		94°C 5` 94°C 1`
		E5		5623-5603		53°C 1` 72°C 1`
		E1		6031-6051		72°C 5`
		E2		6661-6641		
<i>5'LTR-I</i> (800 pb) (Seiki <i>et al.</i> , 1983)		LTR-I.01		1-22		94°C 5` 95°C 1`
		LTR-I.02		823-842		60°C 1` 72°C 2`
		LTR-I.03		30-49		72°C 5`
		LTR-I.04		781-800		
<i>5'LTR-II</i> (788 pb) (Guroff <i>et al.</i> , 1982)		F-IILTR		1-26		94°C 5` 94°C 40``
		Long Gag		855-831		58,6°C 30`` 72°C 1'30``
		Mo16		16-33		72°C 10`
		MSW-Gag		831-807		

Tabela 2 – Perfil de RFLP das regiões genômicas do HTLV amplificadas.

Região	Subtipo	Fragmento	Endonuclease
<i>pX</i>	HTLV-I	159 pb	<i>TaqI</i>
	HTLV-II	53 e 85 pb	
<i>env</i>	HTLV-IIb	630 pb	<i>XhoI</i>
	HTLV-IIa/IIc	178 e 452 pb	

A busca de fragmentos de DNA do HHV-8 também foi efetuada pelo método de amplificação de ácido nucléico (PCR) para a detecção da região *ORF26* do HHV-8, a partir de sangue total. As amplificações foram realizadas utilizando-se o termo-ciclador da *Perkin-Elmer Cetus Corp, USA*. As amostras positivas para esse fragmento foram submetidas a uma nova PCR para amplificação da região variável 1 (VR1) do gene *K1*.

2.3.1.1 Amplificação da Região do Gene *pX* do HTLV

A amplificação de uma região constituída de 159 pb referente ao gene *pX* foi realizada tendo como objetivo investigar a presença de um sítio de restrição (T/CGA) para a enzima *TaqI*, a qual encontra-se presente apenas no HTLV-2 servindo como critério discriminatório da infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2, além de confirmar o resultado sorológico.

Para a reação de amplificação foi usado um volume final de 50 μ L, contendo 500 ng de DNA total extraído, 1,25 mM de cada dNTP, 20 pmol/ μ L de cada iniciador, MgCl₂ 50 mM, tampão 10x (KCl 50 mM, Tris HCl pH 8,3 10 mM) e 0,5 U de *Taq* DNA polimerase. O par de iniciadores empregado nessa reação foi: (TR101) 5'-TTCCCAGGATTTGGACAGAG-3' e (TR102) 5'GGGTAAGGACCTTGAGGGTC-3',

que correspondem aos nucleotídeos 7219-7238 e 7483-7464 da cepa HTLV-2_{mot}, respectivamente (Guroff *et al.*, 1982).

No segundo passo da amplificação (*Nested PCR*) foram utilizados 2,0 µL do produto da reação anterior, nas mesmas condições citadas acima, utilizando-se as seguintes seqüências de iniciadores: (TR103L) 5'-CGGATACCCAGTCTACGTGTT-3' e (TR104) 5'-GAGCCGATAACGCGTCCATCG-3' correspondentes aos nucleotídeos 7248-7268 e 7406-7386 da cepa HTLV-2_{Mot}, respectivamente (Guroff *et al.*, 1982).

A análise de RFLP do produto do gene *pX* (159 pb) foi realizada misturando-se 20,0 µL do produto amplificado, 14,6 µL de H₂O, 4,0 µL de tampão E (*Promega, Madison WI, USA*), 0,4 µL de BSA e 1,0 µL da enzima de restrição *TaqI* (10 U/ µL, *Promega, Madison WI, USA*), com posterior incubação a 65°C por 5 horas. A presença de sítio de restrição (T/CGA) gera três fragmentos (85 pb, 53 pb e 21 pb), esse sítio encontra-se presente no HTLV-2, porém ausente no HTLV-1.

Os produtos da digestão enzimática foram visualizados após eletroforese em gel de agarose a 3% (100V/45 minutos), em tampão TAE 1x (TAE 40x estoque –TrisBase 1,6 M, Acetato de Na 0,8 M e EDTA-Na₂ 40 mM/1000 mL de água deionizada), mediante a utilização de transiluminador com fonte de luz ultra-violeta.

2.3.1.2 Amplificação do Gene *env* do HTLV

Com o objetivo de identificar e diferenciar os subtipos HTLV-2a e HTLV-2b, foi realizada a amplificação de uma região de 630 pb do gene *env*.

A reação foi realizada em volume total de 50 µL, contendo 500 ng de DNA extraído, 1,25 mM de cada dNTP, 20 pmol/µL de cada iniciador, MgCl₂ 50 mM, tampão 10x (KCl 50 mM, Tris HCl pH 8,3 10 mM) e 0,5 U de *Taq* DNA polimerase. O par de

iniciadores envolvidos nessa reação foi: (E406) 5'-CTTCAGGGTTATGTGGATTT-3' e (E5) 5'-AGCCAAGTGTCCCTTCGACTA-3', correspondendo aos nucleotídeos 6641-6661 e 5623-5603 da cepa HTLV-2_{Mot}, respectivamente (Hall *et al.*, 1992). No segundo passo da amplificação (*Nested PCR*) foram utilizados 2,0 µL do produto da amplificação anterior e a utilização de um par de iniciadores internos à região previamente amplificada, cujas seqüências são: (E1) 5'-CTGCAACAACCTCCATTATCCT-3' e (E2) 5'-CTGCAGAAGCTAGCAGGTCTA-3', que correspondem aos nucleotídeos 6031-6051 e 6661-6641 da cepa HTLV-2_{Mot}, respectivamente (Hall *et al.*, 1992)

Logo após, o produto dessa análise foi submetido à digestão enzimática. Essa reação foi efetuada misturando-se 5,0 µL do material amplificado, 7,3 µL de H₂O, 2,0 µL de tampão D (*Promega, Madison WI, USA*), 0,2 µL de BSA e 0,5 µL da enzima de restrição *XhoI* (10 U/ µL, *Promega, Madison WI, USA*), com posterior incubação a 37°C por 4 horas. O produto amplificado do HTLV-2b não apresenta o sítio de clivagem (C/TCGAG), sendo dessa forma evidenciado um único fragmento de 630 pb, em contra partida, o HTLV-2a possui o sítio de restrição gerando dois fragmentos, um de 452 pb e outro de 178 pb.

Os produtos da amplificação e da digestão enzimática foram visualizados após eletroforese em gel de agarose a 2,5% (100V/45 minutos), em tampão TAE 1x (TAE 40x estoque –TrisBase 1,6 M, Acetato de Na 0,8 M e EDTA-Na₂ 40 mM/1000 mL de água), mediante a utilização de transiluminador com fonte de luz ultra-violeta.

2.3.1.3 Amplificação da Região 5' *LTR* do HTLV-1

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

Para amplificação da região 5' *LTR* as reações foram executadas em um volume total de 50 µL, contendo 500 ng de DNA extraído, 1,25 mM de cada dNTP, 20 pmol/µL de cada iniciador, MgCl₂ 50 mM, tampão 10x (KCl 50 mM, Tris HCl pH 8,3 10 mM) e 0,5 U de *Taq* DNA polimerase. O par de iniciadores usado na reação de amplificação para HTLV-1 foi: (LTR-I.01) 5'-TGACAATGACAATGAGCCCCAA -3' e (LTR-I.02) 5'-CGCGGAATAGGGCTAGCGCT -3', correspondendo aos nucleotídeos 1-22 e 823-842, respectivamente, da cepa HTLV-1_{ATK} (Seiki *et al.*, 1983). No segundo passo da amplificação (*Nested* PCR) foram utilizados 2,0 µL do produto da amplificação anterior e um par de iniciadores internos à região previamente amplificada, que possuem as seguintes seqüências: (LTR-I.03) 5'-GGCTTAGAGCCTCCCAGTGA -3' e (LTR-I.04) 5'-GCCTAGGGAATAAAGGGGCG -3', correspondentes aos nucleotídeos 30-49 e 781-800 da cepa HTLV-1_{ATK}, respectivamente (Seiki *et al.*, 1983).

Os produtos da amplificação foram visualizados após eletroforese em gel de agarose a 1,5% (100V/45 minutos), em tampão TAE 1x (TAE 40x estoque –TrisBase 1,6 M, Acetato de Na 0,8 M e EDTA-Na₂ 40 mM/1000 mL de água deionizada), mediante a utilização de transiluminador com fonte de luz ultra-violeta.

2.3.1.4 Amplificação da Região 5' *LTR* do HTLV-2

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

Para a amplificação da região 5' *LTR* as reações foram executadas em volume total de 50 µL, contendo 500 ng de DNA extraído, 1,25 mM de cada dNTP, 20 pmol/µL de cada iniciador, MgCl₂ 50 mM, tampão 10x (KCl 50 mM, Tris HCl pH 8,3 10 mM) e 0,5 U de *Taq* DNA polimerase. O par de iniciadores usados na reação de amplificação foi: (F-IILTR)

5'-TCGCGATGACAATGGCGACTAGCCTC-3' e (Long Gag) 5'-GGGGGCTTTGGGTATTGGAGTTGGG-3', correspondentes aos nucleotídeos 1-26 e 855-831 da cepa HTLV-2_{Mot}, respectivamente (Guroff *et al.*, 1982). No segundo passo da amplificação (*Nested* PCR) foram utilizados 2,0 µL do produto anteriormente amplificado e um par de iniciadores internos à região amplificada e que possuem as seguintes seqüências: (Mo16) 5'-GCCTCCCAAGCCAGCCAC-3' e (MSW-Gag) 5'-GGGAAAGCCCGTGGATTTGCCCAT-3', correspondentes aos nucleotídeos 16-33 e 831-807 da cepa HTLV-2_{Mot}, respectivamente (Guroff *et al.*, 1982).

Os produtos da amplificação foram visualizados após eletroforese em gel de agarose a 1,5% (100V/45 minutos), em tampão TAE 1x (TAE 40x estoque –TrisBase 1,6 M, acetato de Na 0,8 M e EDTA-Na₂ 40 mM/1000 mL de água deionizada), mediante a utilização de transiluminador com fonte de luz ultra-violeta.

2.3.1.5 Amplificação da Região *ORF26* do HHV-8

A PCR foi realizada em duas etapas (*nested* PCR) para a amplificação da região *ORF26* do HHV-8. Essa amplificação teve como objetivo confirmar a positividade obtida por meio do teste sorológico.

Para a amplificação, as reações foram realizadas em um volume final de 50 µL, contendo 0,1 µg de DNA da amostra, 100 µM de cada deoxinucleotídeo (dNTP), 25 pmol de cada iniciador, KCl 50 mM, MgCl₂ 2,0 mM, Tris-HCl pH 9,0 10 mM e 1 U de *Taq* polimerase. O par de iniciadores externos utilizados na primeira etapa da reação foi: (KSA) 5'-CCTCTGACAACCTTCAGATA-3' e (KSB) 5'-GTACATGGACAGATCGTCAA-3', os quais amplificam um segmento de 365 pb (Chang *et al.*, 1994).

Na segunda etapa da amplificação foram utilizados 5µL do produto da amplificação anterior e o par de iniciadores internos: (KS1) 5'-AGCCGAAAGGATTCCACCAT-3' e (KS2) 5'-TCCGTGTTGTCTACGTCCAG-3' que amplificarão uma região de 233 pb (Chang *et al.*, 1994).

A reação de amplificação da primeira etapa foi realizada nas seguintes condições: desnaturação inicial a 95°C por 3 minutos, 35 ciclos de 1 minuto à 95°C (desnaturação), 1 minuto à 57°C (hibridização) e 1 minuto à 72°C (extensão). Os 35 ciclos foram seguidos por uma extensão final de 5 minutos à 72°C. A reação de amplificação da segunda etapa diferenciou-se da primeira apenas com relação à temperatura de hibridização que foi de 60°C.

O produto da amplificação foi submetido à eletroforese (100 V/45 minutos) em gel de agarose a 2,5%, em tampão TAE 1x (TAE 40x estoque – TrisBase 1,6 M, Acetato de Na 0,8 M e EDTA-Na₂ 40 mM/1000 mL água deionizada), contendo 5 µL de brometo de etídio (10 mg/mL). A visualização do produto foi feita utilizando um transiluminador com fonte de luz ultra-violeta.

2.3.1.6 Amplificação da Região Variável 1 (VR1) do Gene *K1* do HHV-8

A *nested* PCR foi realizada e o produto da amplificação do segmento de 435 pb da região variável 1, do gene *K1* do HHV-8 foi utilizado para o seqüenciamento de nucleotídeos e para a construção da árvore filogenética.

As reações foram executadas em um volume final de 50 µL, contendo 0,1 µg de DNA amostral, 100 µM de cada dNTP, 20 pmol de cada iniciador, KCl 50 mM, MgCl₂ 3,0 mM, Tris-HCl pH 9,0 1,5 mM e 1 U de *Taq* polimerase. O par de iniciadores utilizado na

primeira etapa foi: (PMC20) 5'-GTCTTTCAGACCTTGTTGG-3' e (K1/481/2) 5'-CCCGTTAGAACAAGTATA-3'. O segmento amplificado por esses iniciadores foi de 498 pb (Cook *et al.*, 1999).

Na segunda etapa foram utilizados 5 µL do produto da etapa anterior e o par de iniciadores: (PMC20A) 5'-GACCTTGTTGGACATCCTG -3' e (K1/427/2) 5'-GTATTTAGTTTGTGACACGG -3', os quais amplificam um segmento de 435 pb (Cook *et al.*, 1999).

Em cada reação de amplificação ocorreu a desnaturação inicial à 94°C por 2 minutos, seguida de 35 ciclos de 1 minuto à 94°C (desnaturação), 1 minuto à 48°C (hibridização) e 1 minuto à 72°C (extensão). Os 35 ciclos foram seguidos por uma extensão final de 3 minutos à 72°C. Na segunda etapa a temperatura de hibridização utilizada foi de 50°C.

O produto da amplificação foi submetido à eletroforese (100 V/45 minutos) em gel de agarose a 2,0%, em tampão TAE 1x (TAE 40x estoque – TrisBase 1,6 M, Acetato de Na 0,8 M e EDTA-Na₂ 40 mM/1000 mL água deionizada), contendo 5 µL de brometo de etídio (10 mg/mL). A visualização das bandas obtidas foi feita mediante a utilização de transiluminador com fonte de luz ultra-violeta.

2.4 PURIFICAÇÃO DO PRODUTO DA PCR

A reação de purificação dos produtos amplificados da região 5' *LTR* e VR1 a partir da PCR visam à melhoria do processo de seqüenciamento de bases nucleotídicas. O processo de purificação seguiu o protocolo da *QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN, Inc., USA)*.

2.5 SEQÜENCIAMENTO

Após a purificação do produto da PCR (região 5' *LTR* e VR1), o DNA foi submetido ao seqüenciamento automático. A metodologia a ser empregada baseia-se na síntese bioquímica da cadeia de DNA através do método de Sanger *et al.*, (1977) utilizando kit da *ABI PRISM™ Dye Terminator Cycle Sequencing (Applied Biosystems)*. As fitas de DNA foram seqüenciadas em ambas as direções, usando-se o equipamento de seqüenciamento automático *ABI 310 DNA Sequencer (Applied Biosystems)*. As seqüências produzidas foram editadas em um computador *Apple Macintosh* acoplado ao *ABI 310 DNA Sequencer* e exportadas para um computador PC-IBM, para análises posteriores no programa *Chromas* versão 1.4. A técnica foi realizada conforme o protocolo abaixo:

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

▪ <i>Terminator Ready Reaction Mix</i>	2,0 µL
▪ DNA 10-30 ng (produto da PCR purificado)	1,0 µL
▪ Iniciadores (3,2 pmol/ µL)	1,0 µL
▪ H ₂ O deionizada	<u>16,0 µL</u>
	20,0 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 pH 9,0, MgCl₂, Pirofosfato Termo-estável e *AmpliTaq® DNA Polimerase*, Fs.

2. Colocar os tubos contendo a mistura no termociclador (*GeneAmp PCR System 2400*) e realizar 25 ciclos de 10 segundos a 96°C, 5 segundos a 50°C e 4 minutos a 60°C. Ao final do processo, a mistura foi resfriada para 4 °C.

A precipitação do DNA seqüenciado foi realizada conforme os seguintes passos:

1. Adicionar 40 μ L de isopropanol a 65% aos 10 μ L da solução anteriormente seqüenciada;
2. Homogeneizar em agitado mecânico (vórtex);
3. Deixar a temperatura ambiente, não expondo à luz, por 15 minutos;
4. Centrifugar por 25 minutos a 14000 rpm;
5. Desprezar o sobrenadante;
6. Adicionar 300 μ 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.

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

2.6 ANÁLISE DAS SEQÜÊNCIAS NUCLEOTÍDICAS

2.6.1 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* versão 5.0.9 (Hall, 1999), utilizando-se a plataforma Windows 98 em um computador IBM-PC.

2.6.2 Análise Nucleotídica

As análises referentes à freqüência das bases nucleotídicas, à determinação das taxas de transversão/transição e o grau de divergência genética, entre as seqüências

nucleotídicas e o perfil filogenético das cepas foram realizadas com o auxílio do programa MEGA-4 – *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* versão 4.0 (Tamura *et al.*, 2007).

2.6.3 Análise Filogenética

As seqüências nucleotídicas foram alinhadas automaticamente com o programa *Clustal X* (Thompson *et al.*, 1997), utilizando-se a plataforma Windows 98 em um computador PC-IBM. Também foi realizado o alinhamento manual, empregando-se o editor de seqüências *BioEdit* versão 5.0.9 (Hall, 1999), utilizando o sistema operacional Windows. Durante o processo de alinhamento, inserções ou deleções poderão ser introduzidas com o objetivo de maximizar a similaridade entre as seqüências. Nas análises filogenéticas foi utilizado o método de agrupamento de vizinhos (*Neighbor-Joining*), além de estimativa de distância genética representada na forma de matriz de divergência entre as seqüências, utilizando o programa *PAUP** (*Phylogenetic Analysis Using Parsimony and Other Methods*) – v4.0b10 (Swofford, 2002), de acordo com o modelo evolutivo e os parâmetros designados pelo programa *MODELTEST* v3.7 (Posada & Crandall, 1998).

As seqüências nucleotídica da região 5' LTR (para o HTLV) e da VR1 do gene *K1* (para o HHV-8) foram utilizadas para estabelecer as relações filogenéticas entre os vírus encontrados, assim como, com outras seqüências previamente descritas na literatura e que estão disponíveis no *Genbank*. Essas seqüências foram avaliadas para efeito de comparação e discussão, com o auxílio do método de Agrupamento de Vizinhos (*Neighbor-Joining*) para reconstrução das relações filogenéticas.

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os cálculos de prevalência e de persistência foram efetuados usando o conceito clássico do número de pessoas que possuem a característica pesquisada em um determinado ponto no tempo. A associação entre a soropositividade do HTLV-1/2 e do HHV-8 com as características sócio-demográficas e as dos fatores de risco nas amostras dos portadores do HIV-1 e/ou com SIDA/AIDS, foi determinada pelo Teste G. A Análise da associação entre carga viral, e contagem de Linfócitos T CD4+ e CD8+ e as co-infecções HIV-HTLV/ HIV-HHV-8, foi avaliada com o teste Mann-Whitney e o teste do Qui-Quadrado (X^2). Em ambos os casos os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. Os cálculos foram efetuados usando o programa BioEstat 5.0 (Ayres, *et al.*, 2005).

3. RESULTADOS

3.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

3.1.1 Caracterização de acordo com o perfil sócio-demográfico da população de portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.

Avaliação dos questionários epidemiológicos dos 515 participantes revelou que a faixa etária variou de 07 a 82 anos de idade, com a maioria (34,2%) entre 26-35 anos e a média de idade dos participantes de 38,6 anos (Tabela 3).

De acordo com o estado civil, 270 (54,1%) participantes afirmaram ser solteiros e 160 (32,1%) casados ou manter união estável. Majoritariamente os entrevistados pertenciam ao sexo masculino (60,0%). Quanto ao grau de escolaridade dos portadores, observou-se que, a maioria (44,0%) possuía até o primeiro grau e que, 50 (9,8%) possuíam o ensino superior. A renda familiar da maioria (66,3%) mostrou ser de um a três salários por mês, embora 75 (15,8%) tinham renda inferior a 1 salário mínimo e somente 5 (1,0%) afirmaram ter renda superior a 10 salários (Tabela 3).

De acordo com as informações obtidas a respeito do município de residência, 53,1% dos participantes responderam residir em Belém e 46,9% em outros municípios do Estado do Pará. A respeito da naturalidade, 90,3% responderam ter nascido no Estado do Pará e 9,7% residem no Estado do Pará, mas são naturais de outros Estados (Tabela 3).

Tabela 3 - Características sócio-demográficas da população de portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.

Características sócio-demográficas		Número	Percentual (%)
Faixa etária	< 15	3	0,6
	16-25	39	7,6
	26-35	176	34,2
	36-45	169	32,8
	46-55	95	18,5
	56-65	28	5,4
	>65	4	0,8
	Não Informado*	1	-
Estado civil	Solteiro	270	54,1
	Casado	160	32,1
	Separado/Divorciado/Desquitado	37	7,4
	Viúvo	32	6,4
	Não Informado*	16	-
Sexo	Masculino	309	60,0
	Feminino	206	40,0
Escolaridade	Não Alfabetizado	9	1,8
	Alfabetizado	8	1,6
	Até o 1º grau	224	44,0
	Até o 2º grau	219	43,0
	Até o 3º grau	50	9,8
	Não Informado*	5	-
Renda Familiar	< 1 salário	75	15,8
	1-3	315	66,3
	4-6	58	12,2
	7-10	22	4,6
	>10	5	1,0
	Não Informado*	40	-
Municípios de residência	Belém	271	53,1
	Outros municípios do Pará	239	46,9
	Não Informado*	5	-
Naturalidade	Estado do Pará	438	90,3
	Outros estados **	47	9,7
	Não Informado*	30	-

* Não considerado para cálculo estatístico, ** Residentes no Estado do Pará.

3.1.2 Caracterização de acordo com fatores de risco da população de portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.

Os fatores de risco avaliados incluíram a não utilização de preservativo, prática de sexo anal, história de infecções sexualmente transmissíveis (IST), uso de drogas ilícitas endovenosas (UDE) e drogas ilícitas não endovenosas (UDNE), número de parceiros por mês, parceiros de outros Estados e/ou países, comportamento sexual e a realização de transfusão de sangue e/ou hemoderivados (Tabela 4).

Dentre os indivíduos avaliados, 214 (45,1%) referiram sempre usar preservativo em suas relações sexuais e 119 (25,1%) responderam que nunca o usam. Em relação ao sexo anal, 236 (50,7%) responderam que nunca fizeram e 70 (15,1%) afirmaram que sempre o praticam. A história de IST foi relatada, 308 (59,8 %) pessoas nunca experimentaram um episódio de IST, enquanto 207 (40,2%) informaram já ter tido uma ou mais infecções (Tabela 4). Dentre as ISTs mais referidas foram incluídas a gonorréia (96/197; 48,7%) e a sífilis (42/197; 21,3%).

O uso de drogas endovenosas foi referido por 13 (2,5%) pessoas, enquanto a maioria (97,5%) respondeu não ter usado nenhum tipo de droga endovenosa (Tabela 4). Entretanto, 220 (42,7%) pessoas responderam já ter usado algum tipo de droga não endovenosa, principalmente álcool, cigarro e maconha.

De acordo com a avaliação do inquérito, 253 (71,3%) dos entrevistados possuíam 1 parceiro, 56 (15,8%) possuíam de 2 a 19 parceiros mensalmente e 2 (0,6%) mantinham relações com 20 ou mais parceiros por mês. Em relação à naturalidade e nacionalidade dos parceiros, 149 (32,7%) dos entrevistados reportaram ter mantido relações sexuais com parceiros de outros Estados e 41 (9,2%) com parceiros de outros países (Tabela 4).

De acordo com o comportamento sexual da população estudada, constatou-se que a maioria, 81,7%, mantém relações sexuais com parceiros heterossexuais, mas 13,2% dos participantes afirmam manter relações com parceiros bissexuais e 12,4% declararam manter relações com homossexuais. Foi também relatado que 64 (12,4%) entrevistados mantêm relações sexuais com parceiros sabidamente UDE e 91 (17,7%) com parceiros UDNE (Tabela 4).

Foi observado que 69 (13,4%) participantes mantêm múltiplos parceiros, somente 4 (0,8%) já tiveram parceiros transfundidos e 16 (3,1%) mantêm práticas sexuais com parceiros promíscuos. Além disso, 187 (36,3%) afirmaram já ter mantido relações sexuais com parceiros portadores do HIV-1 e 72 (14,0%) informaram já ter se relacionado com parceiros com AIDS. Transfusão de sangue e/ou hemoderivados foi referida por 75 (14,6%) pessoas (Tabela 4).

Tabela 4 - Distribuição dos possíveis fatores de risco na população de portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.

Fatores de risco		Número	Percentual (%)
Uso de preservativo	Sempre	214	45,1
	Nunca	119	25,1
	Às vezes	141	29,7
	Não Informado*	41	-
Sexo anal	Sempre	70	15,1
	Nunca	236	50,7
	Às vezes	130	28,0
	Não quis comentar	28	6,0
	Não Informado*	51	-
Histórico de IST	Sim	207	40,2
	Não	308	59,8
UDE	Sim	13	2,5
	Não	502	97,5
UDNE	Sim	220	42,7
	Não	295	57,3
Número de parceiros por mês	1 parceiro	253	71,3
	2-19 parceiros	56	15,8
	20 ou mais	2	0,6
	Nenhum	41	11,5
	Eventual	3	0,8
	Não Informado*	160	-
Parceiros de outros Estados	Sim	149	32,7
	Não	302	66,2
	Não Sabe	5	1,1
	Não Informado*	59	-

* Não considerado para cálculo estatístico

Tabela 4 - Distribuição dos possíveis fatores de risco na população de portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA (continuação).

Fatores de risco		Número	Percentual (%)
Parceiros de outros países	Sim	41	9,2
	Não	402	90,5
	Não Sabe	1	0,2
	Não Informado*	71	-
Comportamento sexual	Parceiro Heterossexual	421	81,7
	Parceiro Bissexual	68	13,2
	Parceiro Homossexual	64	12,4
	Parceiro UDE	64	12,4
	Parceiro UDNE	91	17,7
	Múltiplos parceiros	69	13,4
	Parceiros transfundidos	4	0,8
	Parceiro promíscuo	16	3,1
	Parceiro com HIV	187	36,3
	Parceiro com AIDS	72	14,0
Transusão de sangue	Sim	75	14,6
	Não	440	85,4

* Não considerado para cálculo estatístico

3.2 SOROLOGIA

3.2.1 Análise sorológica para a infecção pelo HTLV-1/2 e pelo HHV-8 em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.

Foi realizada a pesquisa de anti-HTLV-1/2 dos 515 participantes e 12 (2,3%) apresentaram sorologia positiva (Tabela 5). Para o HHV-8 foram testadas 499 amostras de plasma, devido o término do kit de ELISA, assim das 499 amostras de plasma testadas para anti-HHV-8 IgG, 179 (35,9%) foram sororreativas.

Tabela 5 - Distribuição dos resultados dos testes sorológicos para a presença de anticorpos anti-HTLV-1/2 e anti-HHV-8 IgG na população de portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.

	HTLV	HHV-8
Presença de anticorpos	12 (2,3%)	179 (35,9%)
Ausência de anticorpos	503 (97,7%)	320 (64,1%)
TOTAL	515 (100%)	499 (100%)

3.2.2 Relação entre os fatores sócio-demográficos e a infecção pelo HTLV em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.

A faixa etária dos 12 participantes com sorologia positiva variou dos 26 aos 65 anos de idade, com a maioria (41,6%) entre 46 e 55 anos (Tabela 6). De acordo com o estado civil, 5 (45,5%) portadores da co-infecção HIV-1/HTLV eram solteiros e 3 (27,3%) eram casados. Verificou-se que o HTLV circula de forma equivalente nos sexo masculino (50,0%) e feminino (50%). Quanto ao grau de escolaridade, verificou-se que 4 (33,3%) possuíam até o primeiro grau e, 8 (66,6%) possuíam até o segundo grau. A renda familiar da maioria (66,7%) mostrou ser de um a três salários por mês.

Dos 12 indivíduos com sorologia positiva, 8 (72,7%) responderam residir em Belém e 3 (27,3%) em outros municípios do Estado do Pará. A respeito da naturalidade, 11 (91,7%) responderam ter nascido no Estado do Pará e 1 (8,4%) residem no Estado do Pará, mas são naturais de outros Estados (Tabela 6).

Tabela 6 – Distribuição da infecção pelo HTLV de acordo com as características sócio-demográficas em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS.

Características sócio-demográficas	Reagentes	(%)	Não Reagentes	(%)	<i>p</i>	
Faixa etária	< 15	0	0	3	0,6	0.706
	16-25	0	0	39	7,8	0.166
	26-35	3	25,0	174	34,7	0.475
	36-45	3	25,0	165	32,9	0.557
	46-55	5	41,6	90	18,0	0.059
	56-65	1	8,3	27	5,4	0.678
	>65	0	0	4	0,8	0.663
	Não Informado*	0	-	1	-	-
TOTAL	12	100	503	100		
Estado civil	Solteiro	5	45,5	265	54,3	0.561
	Casado	3	27,3	157	32,2	0.727
	Separado/Divorciado /Desquitado	1	9,1	36	7,4	0.764
	Viúvo	2	18,2	30	6,2	0.179
	Não Informado*	1	-	15	-	-
	TOTAL	12	100	503	100	
Sexo	Masculino	6	50,0	303	60,24	0.475
	Feminino	6	50,0	200	39,76	
	TOTAL	12	100	503	100	
Escolaridade	Não Alfabetizado	0	0	10	2,0	0.489
	Alfabetizado	0	0	7	1,4	0.563
	Até o 1º grau	4	33,3	220	44,0	0.456
	Até o 2º grau	8	66,6	211	42,2	0.092
	Até o 3º grau	0	0	52	10,4	0.107
	Não Informado*	0	-	3	-	-
	TOTAL	12	100	503	100	

Tabela 6 – Distribuição da infecção pelo HTLV de acordo com as características sócio-demográficas em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS (continuação).

Características sócio-demográficas		Reagentes	(%)	Não Reagentes	(%)	<i>p</i>
Renda Familiar	< 1 salário	0	0	75	16,2	0.041
	1-3	8	66,7	307	66,5	0.988
	4-6	2	16,7	56	12,1	0.650
	7-10	2	16,7	18	3,9	0.086
	>10	0	0	6	1,3	0.578
	Não Informado*	0	-	41	-	-
TOTAL		12	100	503	100	
Municípios de residência	Belém	8	72,7	262	52,5	0.174
	Outros municípios do Estado do Pará	3	27,3	237	47,5	
	Não Informado*	1	-	4	-	-
	TOTAL	12	100	503	100	
Naturalidade	Estado do Pará	11	91,7	424	89,6	0.815
	Outros estados **	1	8,4	49	10,4	
	Não Informado*	0	-	30	-	-
	TOTAL	12	100	503	100	

*Valor não utilizado para cálculos estatísticos. ** Residentes no Estado do Pará.

3.2.3 Relação entre os fatores de risco e a infecção pelo HTLV em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.

Dentre as 12 pessoas com sorologia positiva, 7 (70,0%) referiram sempre usar preservativo em suas relações sexuais e 1 (10,0%) respondeu que nunca usou. Em relação ao sexo anal, 5 (41,7%) responderam que nunca fizeram e 2 (16,6%) afirmaram que sempre praticam. A história de IST foi relatada por 5 (41,7%) participantes, que informaram já ter tido uma ou mais infecções, enquanto 7 (58,4%) pessoas afirmaram nunca ter experimentado um episódio de infecção (Tabela 7).

Nenhum dos entrevistados referiu o uso de droga endovenosa, porém, 9 (75%) pessoas responderam já ter usado algum tipo de DNE (Teste-G =5.2161, $p =0.025$), principalmente álcool, cigarro e maconha (Tabela 7). Adicionalmente, 6 (85,7%) participantes com sorologia positiva, informaram possuir 1 parceiro e 1 (14,3%) possuíam 2 a 19 parceiros mensalmente. Em relação á naturalidade e nacionalidade dos parceiros, 6 (60%) pessoas reportaram ter mantido relações sexuais com parceiros de outros Estados e 1 (10,0%) com parceiros de outros países (Tabela 7).

As informações relacionadas ao comportamento sexual, mostraram que a maioria (9/12, 75,0%), mantém relações sexuais com parceiros heterossexuais, 2 (16,7%) afirmaram manter relações com parceiros bissexuais e 2 (16,7%) com homossexuais. Foi também relatado que 4 (33,3%) dos entrevistados, mantêm relações sexuais com parceiros sabidamente UDE e 6 (50%) com parceiros UDNE, resultado que apresentou associação estatística relevante (Teste-G =6.7055, $p =0.010$; tabela 7).

Foi observado que 1 (8,3%) dos participantes co-infectados com HIV-1/HTLV mantém múltiplos parceiros, nenhum teve parceiros transfundidos e 1 (8,3%) mantém

práticas sexuais com parceiros promíscuos. Além disso, 3 (25,0%) afirmaram ter mantido relações sexuais com parceiros portadores do HIV-1 e 2 (16,7%) informaram já ter se relacionado com parceiros com AIDS. Transfusão de sangue e/ou hemoderivados foi referida por 2 (16,6%) pessoas co-infectadas HIV-1/HTLV (Tabela 7).

Tabela 7 – Distribuição da infecção pelo HTLV de acordo com os fatores de risco em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS.

Fatores de risco		Reagentes	(%)	Não Reagentes	(%)	<i>p</i>
Uso de preservativo	Sempre	7	70,0	232	50,4	0.214
	Nunca	1	10,0	104	22,6	0.302
	Às vezes	2	20,0	124	27,0	0.613
	Não Informado*	2	-	43	-	-
	TOTAL	12	100	503	100	
Sexo anal	Sempre	2	16,6	67	15,1	0.879
	Nunca	5	41,7	231	51,9	0.483
	Às vezes	2	16,6	129	29,0	0.327
	Não quis comentar	3	25,0	18	4,0	0.013
	Não Informado*	0	-	58	-	-
TOTAL	12	100	503	100		
Histórico de IST	Sim	5	41,7	204	40,6	0.938
	Não	7	58,4	299	59,4	
	TOTAL	12	100	503	100	
UDE	Sim	0	0	13	2,6	0.431
	Não	12	100	490	97,4	
	TOTAL	12	100	503	100	

*Valor não utilizado para cálculos estatísticos

Tabela 7 – Distribuição da infecção pelo HTLV de acordo com os fatores de risco em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS (continuação).

Fatores de risco		Reagentes	(%)	Não Reagentes	(%)	<i>p</i>
UDNE	Sim	9	75,0	212	42,2	0.025
	Não	3	25,0	291	57,9	
	TOTAL	12	100	503	100	
Número de parceiros por mês	1 parceiro	6	85,7	248	71,5	0.376
	2-19 parceiros	1	14,3	54	15,6	0.926
	20 ou mais	0	0	2	0,6	0.777
	Nenhum	0	0	40	11,5	0.193
	Eventual	0	0	3	0,9	0.729
	Não Informado*	5	-	156	-	-
	TOTAL	12	100	503	100	
Parceiros de outros estados	Sim	6	60,0	142	31,9	0.072
	Não	4	40,0	298	67,0	0.085
	Não Sabe	0	0	5	1,1	0.620
	Não Informado*	2	-	58	-	-
	TOTAL	12	100	503	100	
Parceiros de outros países	Sim	1	10,0	39	9,0	0.915
	Não	9	90,0	393	90,8	0.935
	Não Sabe	0	0	1	0,2	0.830
	Não Informado*	2	-	70	-	-
	TOTAL	12	100	503	100	

*Valor não utilizado para cálculos estatísticos

Tabela 7 – Distribuição da infecção pelo HTLV de acordo com os fatores de risco em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS (continuação).

Fatores de risco			Reagentes	(%)	Não Reagentes	(%)	<i>p</i>
	Parceiro Heterossexual	Sim	9	75,0	413	83,3	0.474
		Não	3	25,0	83	16,7	
		Não Informado*	0	-	7	-	-
		TOTAL	12	100	503	100	
	Parceiro Bissexual	Sim	2	16,7	66	13,3	0.743
		Não	10	83,3	430	86,7	
		Não Informado*	0	-	7	-	-
		TOTAL	12	100	503	100	
C O M P O R T A M E N T O	Parceiro Homossexual	Sim	2	16,7	61	12,3	0.664
		Não	10	83,3	435	87,7	
		Não Informado*	0	-	7	-	-
		TOTAL	12	100	503	100	
	Parceiro UDE	Sim	4	33,3	60	11,9	0.056
		Não	8	66,7	443	88,0	
		TOTAL	12	100	503	100	
			Parceiro UDNE	Sim	6	50,0	85
Não	6			50,0	418	83,1	
TOTAL	12			100	503	100	
S E X U A L	Múltiplos parceiros			Sim	1	8,3	68
		Não	11	91,6	435	86,5	
		TOTAL	12	100	503	100	
			Parceiros transfundidos	Sim	0	0	4
Não	12			100	499	99,2	
TOTAL	12			100	503	100	
	Parceiro promíscuo			Sim	1	8,3	16
		Não	11	91,6	487	96,8	
		TOTAL	12	100	503	100	
			Parceiro com HIV	Sim	3	25,0	185
Não	9			75,0	318	63,2	
TOTAL	12			100	503	100	
	Parceiro com AIDS			Sim	2	16,7	69
		Não	10	83,3	434	86,3	
		TOTAL	12	100	503	100	

Tabela 7 – Distribuição da infecção pelo HTLV de acordo com os fatores de risco em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS (continuação).

Fatores de risco		Reagentes	(%)	Não Reagentes	(%)	<i>p</i>
Transfusão de sangue	Sim	2	16,6	73	14,5	0.837
	Não	10	83,3	430	85,5	
	TOTAL	12	100	503	100	

*Valor não utilizado para cálculos estatísticos

3.2.4 Relação entre os fatores sócio-demográficos e a infecção pelo HHV-8 em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.

A faixa etária predominante dos participantes com sorologia positiva foi entre 26 e 35 anos (34%), enquanto 14 (7,8%) pertenciam à faixa etária de 16-25 anos, cujo dado mostrou diferença estatisticamente significativa (Teste G=33.2442, $p < 0.0001$; tabela 8). De acordo com o estado civil, 96 (55,2%) eram solteiros e 58 (33,3%) eram casados. Observou-se que o HHV-8 circula predominantemente no sexo masculino (61,5%). Verificou-se que 85 (47,5%) dos participantes possuíam até o primeiro grau e que, 76 (42,5%) possuíam até o segundo grau. A renda familiar da maioria (64,1%) mostrou ser de um a três salários por mês e somente 2 (1,2%) relataram renda maior que 10 salários, (Tabela 8).

Além disso, 99 (56%) responderam residir em Belém e 78 (44%) em outros municípios do Estado do Pará. A respeito da naturalidade, 144 (85,7%) responderam ter nascido no Estado do Pará e 24 (14,3%) residem no Estado do Pará, mas são naturais de outros estados (Tabela 8).

Tabela 8 – Distribuição da infecção pelo HHV-8 de acordo com as características sócio-demográficas em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS.

Características sócio-demográficas	Reagentes	(%)	Não Reagentes	(%)	p	
Faixa etária	< 15	0	0	3	0,9	0.101
	16-25	14	7,8	22	6,8	0.0001
	26-35	61	34,0	107	33,5	0.903
	36-45	53	29,6	114	35,7	0.162
	46-55	41	22,9	51	16,0	0.059
	56-65	9	5,0	19	6,0	0.664
	>65	1	0,6	3	1,0	0.638
	Não Informado*	0	-	1	-	-
TOTAL	179	100	320	100		
Estado civil	Solteiro	96	55,2	162	52,1	0.514
	Casado	58	33,3	102	32,8	0.904
	Separado/Divorciado /Desquitado	12	6,9	24	7,7	0.739
	Viúvo	8	4,6	23	7,4	0.249
	Não Informado*	5	-	9	-	-
	TOTAL	179	100	320	100	
Sexo	Masculino	110	61,5	190	59,4	0.649
	Feminino	69	38,5	130	40,6	
	TOTAL	179	100	320	100	
Escolaridade	Não Alfabetizado	1	0,6	9	2,9	0.055
	Alfabetizado	1	0,6	6	1,9	0.191
	Até o 1º grau	85	47,5	137	43,5	0.191
	Até o 2º grau	76	42,5	132	31,9	0.905
	Até o 3º grau	16	9,0	31	9,9	0.741
	Não Informado*	0	-	5	-	-
TOTAL	179	100	320	100		
Renda Familiar	< 1 salário	28	16,8	43	14,7	0.563
	1-3	107	64,1	202	69,2	0.263
	4-6	24	14,4	30	10,3	0.195
	7-10	6	3,6	14	4,8	0.538
	>10	2	1,2	3	1,0	0.866
	Não Informado*	12	-	28	-	-
TOTAL	179	100	320	100		

*Valor não utilizado para cálculos estatísticos

Tabela 8 – Distribuição da infecção pelo HHV-8 de acordo com as características sócio-demográficas em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS (continuação).

Características sócio-demográficas		Reagentes	(%)	Não Reagentes	(%)	<i>p</i>
Municípios de residência	Belém	99	56,0	158	50,0	0.193
	Outros municípios do Estado do Pará	78	44,0	159	50,0	
	Não Informado*	2	-	3	-	
	TOTAL	179	100	320	100	
Naturalidade	Estado do Pará	144	85,7	238	79,3	0.083
	Outros estados **	24	14,3	62	20,7	
	Não Informado*	11	-	20	-	
	TOTAL	179	100	320	100	

*Valor não utilizado para cálculos estatísticos. ** Residentes no Estado do Pará.

3.2.5 Relação entre os fatores de risco e a infecção pelo HHV-8 em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.

Dentre as 179 pessoas com sorologia positiva, 96 (60,8%) referiram sempre usar preservativo em suas relações sexuais, resultado que mostrou diferença estatística relevante (Teste-G =7.0298, $p =0.008$), 27 (17,1%) responderam que nunca usaram (Teste-G =7.6634, $p =0.006$) e 35 (22,1%) responderam que usam às vezes (Teste-G =4.9325, $p =0.026$). Em relação ao sexo anal, 85 (53,8%) responderam que nunca fizeram, 30 (19,0%) afirmaram que sempre praticam e 39 (24,7%) disseram que praticam às vezes, esse resultado apresentou associação estatística relevante (Teste-G =5.9587, $p =0.015$). A história de IST foi relatada por 71 (39,7%) participantes, enquanto 108 (60,3%) nunca tiveram nenhum episódio de IST (Tabela 9).

Em relação ao uso de drogas, 174 (97,2%) responderam não ser UDE. Entretanto 74 (41,3%) responderam já ter usado algum tipo de DNE, e 105 (58,7%) informaram não consumir nenhuma dessas drogas, tais como álcool, cigarro e maconha (Tabela 9).

Adicionalmente, 92 (69,2%) participantes possuíam 1 parceiro. Em relação à naturalidade e nacionalidade dos parceiros, 59 (36,4%) reportaram ter mantido relações sexuais com parceiros de outros estados e 14 (8,9%) com parceiros de outros países (Tabela 9).

A informação relacionada ao comportamento sexual mostrou que a maioria (144/179, 81,8%) mantém relações sexuais com parceiros heterossexuais. Foi também relatado que 23 (12,8%) dos entrevistados com sorologia positiva mantêm relações sexuais com parceiros sabidamente UDE e 31 (17,3%) com parceiros UDNE (Tabela 9).

Foram encontradas diferenças significantes estatisticamente (Teste-G =8.1201, $p =0.004$) entre os 14 (7,8%) participantes co-infectados HIV/HHV-8 que mantêm múltiplos parceiros, nenhum já teve parceiros transfundidos e somente 2 (1,1%) mantêm práticas sexuais com parceiros promíscuos, resultado que apresentou associação estatística relevante (Teste-G =4.6097, $p =0.032$). Além disso, 69 (38,5%) afirmaram já ter mantido relações sexuais com parceiros portadores do HIV e 31 (17,3%) informaram já ter se relacionado com parceiros com AIDS. Transfusão de sangue e/ou hemoderivados foi referida por 24 (13,4%) dos pacientes co-infectados HIV/HHV-8 (Tabela 9).

Tabela 9 – Distribuição da infecção pelo HHV-8 de acordo com os fatores de risco em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS.

Fatores de risco		Reagentes	(%)	Não Reagentes	(%)	<i>p</i>
Uso de preservativo	Sempre	96	60,8	129	43,6	0.008
	Nunca	27	17,1	76	25,7	0.006
	Às vezes	35	22,1	91	30,7	0.026
	Não Informado*	21	-	24	-	-
	TOTAL	179	100	320	100	
Sexo anal	Sempre	30	19,0	38	13,4	0.328
	Nunca	85	53,8	139	49,1	0.733
	Às vezes	39	24,7	91	32,1	0.015
	Não quis comentar	4	2,5	15	5,3	0.092
	Não Informado*	21	-	37	-	-
TOTAL	179	100	320	100		
Histórico de IST	Sim	71	39,7	133	41,6	0.679
	Não	108	60,3	187	58,4	
	TOTAL	179	100	320	100	
UDE	Sim	5	2,8	9	2,8	0.990
	Não	174	97,2	311	97,2	
	TOTAL	179	100	320	100	
UDNE	Sim	74	41,3	141	44,0	0.556
	Não	105	58,7	179	56,0	
	TOTAL	179	100	320	100	
Número de parceiros por mês	1 parceiro	92	69,2	147	72,8	0.738
	2-19 parceiros	25	18,8	26	12,9	0.084
	20 ou mais	0	0	2	1,0	0.157
	Nenhum	15	11,3	26	12,9	0.616
	Eventual	1	0,7	1	0,5	0.757
	Não Informado*	46	-	118	-	-
TOTAL	179	100	320	100		
Parceiros de outros estados	Sim	59	36,4	86	31,0	0.458
	Não	101	62,4	189	68,0	0.550
	Não Sabe	2	1,2	3	1,0	0.893
	Não Informado*	17	-	42	-	-
TOTAL	179	100	320	100		

*Valor não utilizado para cálculos estatísticos

Tabela 9 – Distribuição da infecção pelo HHV-8 de acordo com os fatores de risco em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS (continuação).

Fatores de risco		Reagentes	(%)	Não Reagentes	(%)	<i>p</i>
Parceiros de outros países	Sim	14	8,9	25	9,3	0.890
	Não	144	91,1	244	90,4	0.791
	Não Sabe	0	0	1	0,4	0.337
	Não Informado*	21	-	50	-	-
	TOTAL	179	100	320	100	
Parceiro Heterossexual	Sim	144	81,8	265	83,6	0.616
	Não	32	13,4	52	16,4	
	Não Informado*	3	-	3	-	-
	TOTAL	179	100	320	100	
Parceiro Bissexual	Sim	22	12,5	45	14,2	0.597
	Não	154	87,5	272	85,8	
	Não Informado*	3	-	3	-	-
	TOTAL	179	100	320	100	
Parceiro Homossexual	Sim	26	14,8	36	11,4	0.278
	Não	150	85,2	281	88,6	
	Não Informado*	3	-	3	-	-
	TOTAL	179	100	320	100	
Parceiro UDE	Sim	23	12,8	39	12,2	0.830
	Não	156	87,2	281	87,8	
	TOTAL	179	100	320	100	
Parceiro UDNE	Sim	31	17,3	56	17,5	0.959
	Não	148	82,7	264	82,5	
	TOTAL	179	100	320	100	
Múltiplos parceiros	Sim	14	7,8	53	16,6	0.004
	Não	165	92,2	267	83,4	
	TOTAL	179	100	320	100	
Parceiros transfundidos	Sim	0	0	4	1,3	0.059
	Não	179	100	316	98,7	
	TOTAL	179	100	320	100	
Parceiro promíscuo	Sim	2	1,1	14	4,4	0.032
	Não	177	98,9	306	95,6	
	TOTAL	179	100	320	100	
Parceiro com HIV	Sim	69	38,5	115	35,9	0.563
	Não	110	61,5	205	64,1	
	TOTAL	179	100	320	100	

Tabela 9 – Distribuição da infecção pelo HHV-8 de acordo com os fatores de risco em portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS (continuação).

Fatores de risco		Reagentes	(%)	Não Reagentes	(%)	<i>p</i>
Parceiro com AIDS	Sim	31	17,3	36	11,3	0.060
	Não	148	82,7	284	88,8	
	TOTAL	179	100	320	100	
Transfusão de sangue	Sim	24	13,4	50	16,6	0.501
	Não	155	86,6	270	84,3	
	TOTAL	179	100	320	100	

*Valor não utilizado para cálculos estatísticos

3.2.6 Relação entre a Contagem de Linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ e Carga viral entre os co-infectados HIV-1/HTLV e os HTLV negativos

A distribuição das contagens de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ e carga viral plasmática entre os indivíduos co-infectados HIV-1/HTLV e os HTLV negativos (Tabela 10), mostra que não houve diferença estatisticamente significante entre as variáveis.

Tabela 10-Distribuição das contagens de linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ e carga viral entre os indivíduos co-infectados HIV-1/HTLV e os HTLV negativos.

Variáveis	Número de co-infectados HIV-1/HTLV		Número de HTLV negativos		<i>p</i>
		n (%)		n (%)	
Linfócitos T CD4⁺ (Células/mm ³)	CD4 < 350	4 (40)		215 (45,4)	0.487
	350 <CD4 < 500	3 (30)		117 (24,7)	
	CD4 > 500	3 (30)		142 (30,0)	
	Não realizado*	2 (-)		29 (-)	
	TOTAL	12 (100)		503 (100)	
Linfócitos T CD8⁺ (Células/mm ³)	CD8 < 350	0 (-)		25 (5,3)	0.401
	350 <CD8 < 500	0 (-)		47 (9,9)	
	CD8 > 500	10 (100)		402 (84,8)	
	Não realizado*	2 (-)		29 (-)	
	TOTAL	12 (100)		503 (100)	
Carga viral (cópias/mL)	< 50	3 (33,3)		45 (9,9)	0.366
	50 —1000	3 (33,3)		184 (40,4)	
	1000 —100000	2 (22,2)		187 (41,0)	
	>100000	1 (11,1)		39 (8,6)	
	Não realizado*	3 (-)		48 (-)	
TOTAL	12 (100)		503 (100)		

*Valor não utilizado para cálculos estatísticos

3.2.7 Relação entre a Contagem de Linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ e Carga viral entre os pacientes co-infectados HIV-1/HHV-8 e os HHV-8 negativos

Na tabela 11 pode-se verificar a distribuição de linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ e carga viral plasmática do HIV-1 entre os pacientes co-infectados HIV-1/ HHV-8 e os HHV-8 negativos e do ponto de vista estatístico houve diferença estatisticamente significativa na variável carga viral (Teste Mann-Whitney: $U = 20478.5$, $Z(U) = 2.7998$, p -valor unilateral = 0.003), sendo que 25 dos participantes com co-infectados HIV-1/HHV-8 encontravam-se

com a carga viral menor que o limite mínimo (<50), 45 estavam com a carga viral entre 50|—1000 Cópias/ml ($X^2=12.829$, $GL=1$, $p=0,0005$), 77 entre 1000|—100000 Cópias/ml ($X^2=7928$, $GL=1$, $p=0,007$) e 12 estavam com a carga viral acima de 100000 Cópias/ml.

Tabela 11- Distribuição das contagens de linfócitos T CD4⁺ e carga viral entre os indivíduos co-infectados HIV-1/ HHV-8 e os HHV-8 negativos.

Variáveis	Número de co-infectados HHV-1/HHV-8		Número de HHV-8 negativos		<i>p</i>
	n	(%)	n	(%)	
Linfócitos T CD4⁺ (Células/mm ³)	CD4 < 350	79 (47,0)	136 (45,2)		0.168
	350 < CD4 < 500	43 (25,6)	75 (25,0)		
	CD4 > 500	46 (27,4)	90 (30,0)		
	Não realizado*	11 (-)	19 (-)		
	TOTAL	179 (100)	320 (100)		
Linfócitos T CD8⁺ (Células/mm ³)	CD8 < 350	9 (5,3)	17 (5,6)		0.314
	350 < CD8 < 500	21 (12,5)	23 (7,64)		
	CD8 > 500	138 (82,1)	261 (86,7)		
	Não realizado*	11 (-)	19 (-)		
	TOTAL	179 (100)	320 (100)		
Carga viral (cópias/mL)	< 50	25 (15,7)	35 (11,4)		0.003
	50 —1000	45 (28,3)	139 (45,4)		
	1000 —100000	77 (48,4)	107 (35,0)		
	>100000	12 (7,5)	25 (8,2)		
	TOTAL	179 (100)	320 (100)		

*Valor não utilizado para cálculos estatísticos

3.3 REAÇÃO EM CADEIA MEDIADA PELA POLIMERASE (PCR)

3.3.1 Amplificação do Fragmento de 160pb da região *pX*

Das 12 amostras analisadas, 9 amplificaram para a região de 160 pb do gene *pX* (Figura 6), sendo posteriormente submetidas à RFPL para a investigação da presença de um sítio de restrição (T/CGA) para a enzima *TaqI* (Figura 7), presente apenas no HTLV-2, e que serviu como critério de discriminação da infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2, confirmando assim, a infecção por esse retrovírus. Dessas, 5 amostras apresentaram o sítio de restrição (T/CGA) para a enzima *TaqI*, confirmando a infecção pelo HTLV-2 e, 4 amostras confirmaram a infecção pelo HTLV-1.

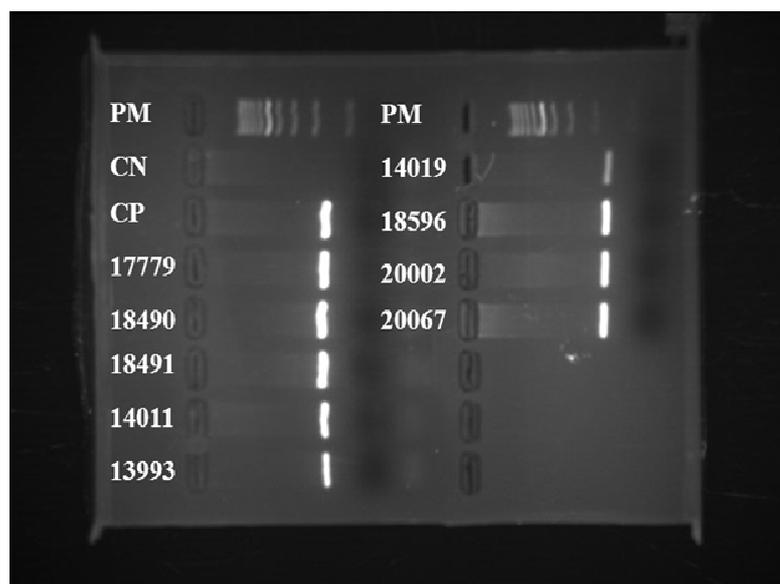


Figura 6 – Perfil eletroforético do fragmento de 160pb amplificado da região *pX* do genoma proviral do HTLV-1. PM (peso molecular de 100 pb); CN (controle negativo); CP (controle positivo); Amostras positivas (17779, 18490, 18491, 14011, 13993, 14019, 18596, 20002, 20067)

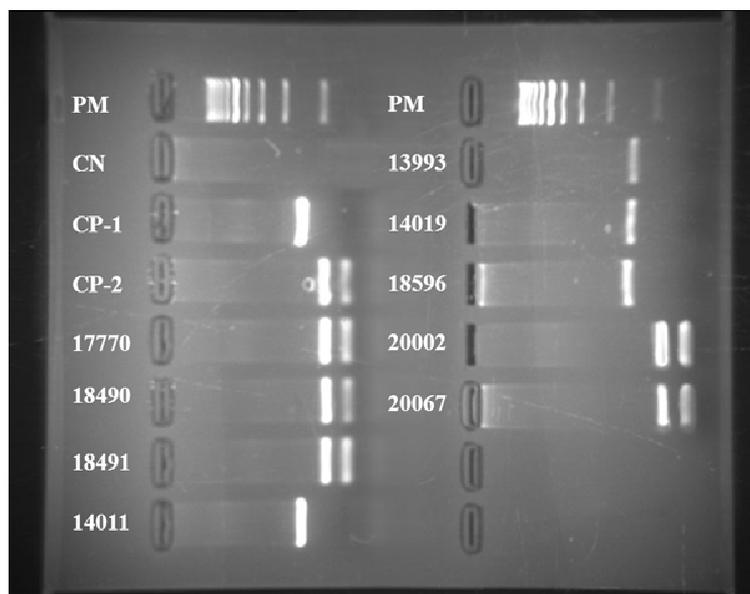


Figura 7 – Perfil de RFLP, com a enzima *TaqI*, a partir do fragmento de 160pb da região *pX*. 1-2 – PM (peso molecular de 100 pb); CN (controle negativo); Controles positivos para HTLV-1 e HTLV-2 (CP-1 e CP-2); Amostras positivas para HTLV-1 (14011, 13993, 14019, 18596) e amostras positivas para HTLV-2 (17779, 18490, 18491, 20002, 20067).

3.3.2 Amplificação do Fragmento de 630pb da região *env*

Dentre as 5 amostras de HTLV-2, todas amplificaram para a região de 630pb do gene *env* (Figura 8), as quais foram posteriormente submetidas à RFLP com a enzima *XhoI* (Figura 9), para a detecção do sítio de clivagem (C/TCGAG) que esteve presente em todas as amostras, sendo as mesmas identificadas como HTLV-2a/2c.

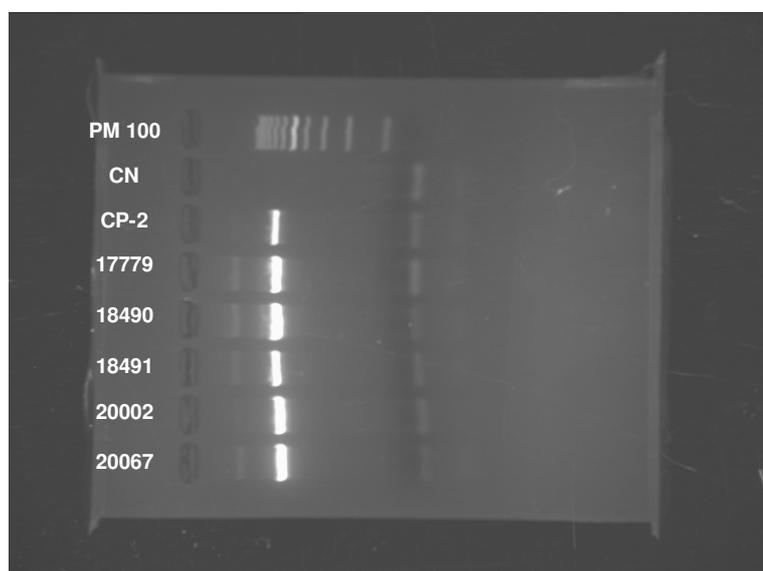


Figura 8 – Perfil eletroforético do fragmento de 630pb amplificado da região *env* do genoma proviral do HTLV-2. PM (peso molecular de 100 pb); CN (controle negativo); Controle positivo para HTLV-2 (CP-2); Amostras positivas para HTLV-2 (17779, 18490, 18491, 20002, 20067).



Figura 9 – Perfil da RFLP, com a enzima *XhoI*, a partir do fragmento de 630pb da região *env* do HTLV-2. PM (peso molecular de 100 pb); CN (controle negativo); Controle positivo para HTLV-2 (CP-2); Amostras positivas para HTLV2a/2c (17779, 18490, 18491, 20002, 20067).

3.3.3 Amplificação do Fragmento de 800pb da região 5'LTR do HTLV-1

Foi amplificada uma amostra para a região 5'LTR (Figura 10) do HTLV-1, confirmando assim, a infecção por esse vírus. A mesma pode ter esse segmento sequenciado e posteriormente foi submetida à análise filogenética.

Esta amostra é de um paraense, do sexo masculino, solteiro, 49 anos, ensino médio incompleto, renda familiar de 1-3 salários, UDNE, heterossexual, pratica sexo anal, já teve IST (gonorréia) e também apresentou sorologia positiva para o HHV-8.

O paciente 18596 possuía uma contagem de linfócitos T CD4⁺ de 678 células/mm³, linfócitos T CD8⁺ de 643 células/mm³ e carga viral do HIV-1 de 50 cópias/ml (igual ao valor limite).

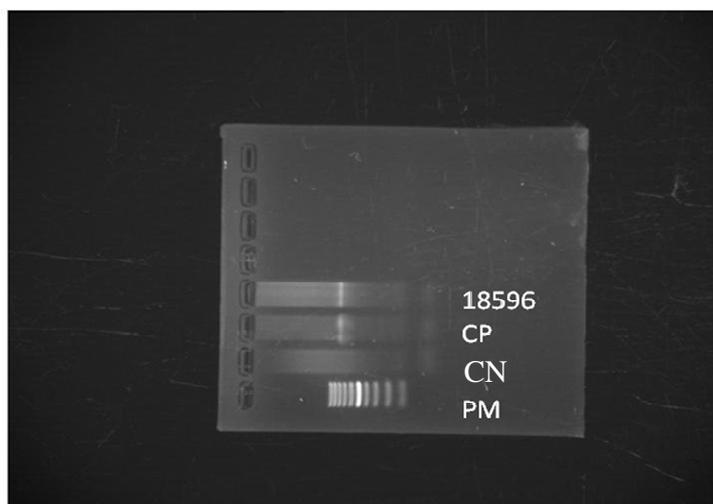


Figura 10 – Perfil eletroforético do fragmento de 800pb amplificado da região 5'LTR do genoma proviral do HTLV-1. PM (peso molecular de 100 pb); CN (controle negativo); Controle positivo para HTLV-1 (CP-1); Amostra positiva para HTLV-1 (18596).

3.3.4 Amplificação do Fragmento de 788pb da região 5'LTR do HTLV-2

Para a região 5'LTR do HTLV-2, amplificaram quatro amostras (Figura 11), confirmando portanto a infecção por esse vírus. Dessas, três amostras puderam ter esse segmento sequenciado e posteriormente submetido à análise filogenética.

Essas amostras são de três paraenses e um maranhense, sendo três do sexo masculino e uma do sexo feminino, três desses são solteiros, faixa etária de 33-47 anos, ensino médio incompleto, renda familiar de 1-3 salários, dois indivíduos são UDNE, heterossexual (1), bissexual (2) e homossexual (1) e dois já tiveram IST (gonorréia).

A contagem de linfócitos T CD4⁺ encontrou-se no intervalo de 350<CD4⁺<500 células/mm³, a contagem dos linfócitos T CD8⁺ no intervalo de CD8⁺>500 células/mm³ e carga viral do HIV-1 de 50-1000 cópias/ml.

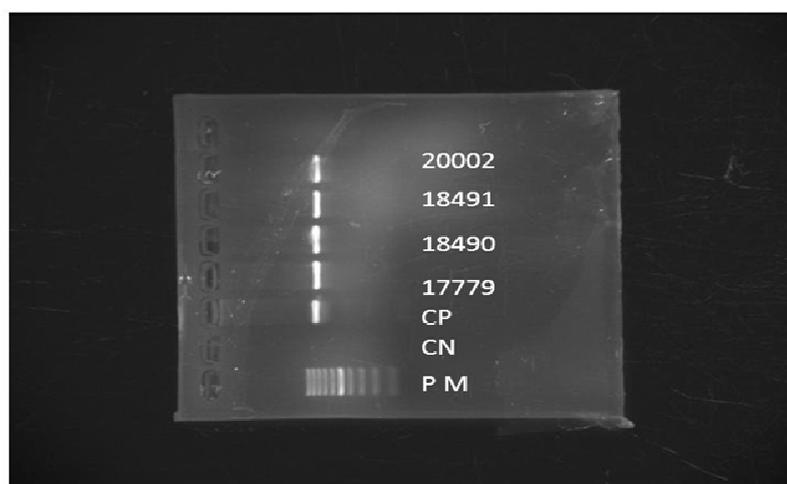


Figura 11 – Perfil eletroforético do fragmento de 788pb amplificado da região 5'LTR do genoma proviral do HTLV-2. PM (peso molecular de 100 pb); CN (controle negativo); Controle positivo para HTLV-2 (CP-2); Amostras positivas para HTLV-2 (17779, 18490, 18491, 20002).

3.3.5 Amplificação da Região ORF26 do HHV-8

Das 179 amostras soropositivas foi possível extrair DNA de 167 amostras de PBMC. Dessas 167 amostras de DNA testadas por *nested* PCR, 2 (1,2%) tiveram a região ORF26 amplificada, apresentando um segmento de 233 pb (Figura 12). Uma amostra de DNA de um paciente utilizado em um trabalho anterior com HHV-8, desenvolvido neste laboratório, foi usada como controle positivo.

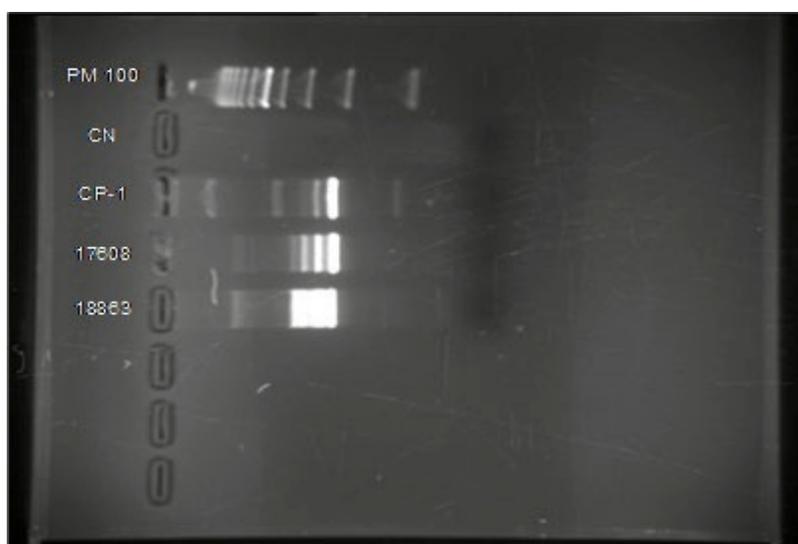


Figura 12 - Perfil eletroforético do fragmento de 233 pb amplificado da região ORF26 do genoma proviral do HHV-8. PM (peso molecular de 100 pb), CN (controle negativo); CP-1 (controle positivo); Amostras positivas para a ORF26 (17608 e 18863).

3.3.6 Amplificação da Região Variável 1 (VR1) do Gene *K1* do HHV-8

As duas amostras que foram amplificadas para a ORF26 do HHV-8 foram submetidas à outra *nested* PCR para amplificação da VR1 do gene *K1* do HHV-8. Dessas, uma (50%) foi positiva para VR1, amplificando um segmento de 435 pb (Figura 13).

Essa amostra é de um paraense, do sexo masculino, solteiro, 58 anos, ensino médio incompleto, renda familiar de 1-3 salários, UDNE, homossexual, pratica sexo anal, não usa preservativo em suas relações sexuais, recebeu transfusão de sangue e já teve IST (gonorréia). O mesmo possuía uma contagem de linfócitos T CD4⁺ de 670 células/mm³, linfócitos T CD8⁺ de 509 células/mm³ e carga viral do HIV-1 de 50 cópias/ml (igual ao valor limite).

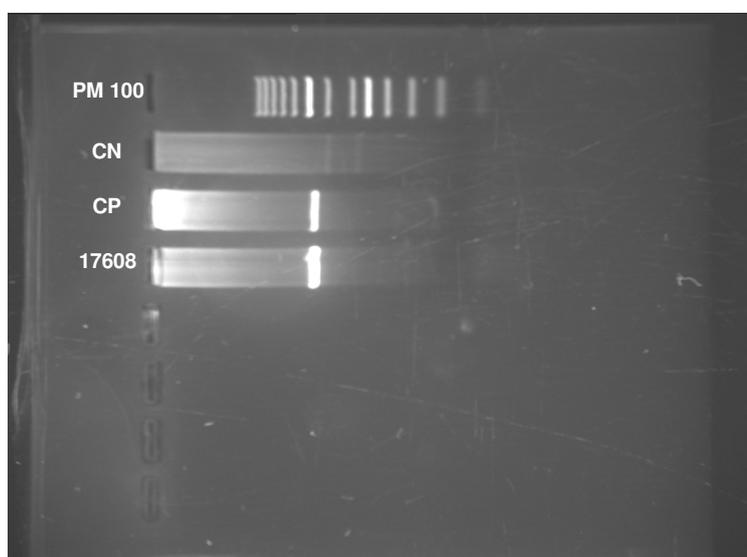


Figura 13 - Perfil eletroforético do fragmento de 435 pb amplificado da região VR1 do genoma proviral do HHV-8. PM (peso molecular de 100 pb); CN (controle negativo); CP (controle positivo); Amostra positiva (17608).

3.4 ANÁLISE DAS SEQÜÊNCIAS NUCLEOTÍDICAS

Através da reação de seqüenciamento das bases nucleotídicas das regiões 5' LTR do HTLV-1 e do HTLV-2 e da região VR1 do gene *K1* do HHV-8 no sentido *forward*, foi possível reconstruir um segmento de cerca de 730pb para o HTLV-1, outro segmento de cerca de 780 pb para o HTLV-2 e um segmento de cerca de 435pb para o HHV-8. A

amostra de HTLV-1 seqüenciadas para a região 5' *LTR* foi comparada com a cepa protótipo da HTLV-1, HTLV-1ATK (Seike *et al.*, 1983) e com outras seqüências disponíveis no *GenBank*, sendo o mesmo feito com as amostras de HTLV-2, cujas seqüências correspondentes à região 5' *LTR* foram comparadas com as cepas protótipo do HTLV-2a (HTLV-2MOT Shimotohno *et al.*, 1985) e HTLV-2b (HTLV-2NRA, Lee *et al.*, 1993), assim como com outras seqüências disponíveis no *GenBank*. A amostra de HHV-8 seqüenciadas para a região VR1 do gene *K1* foi comparada com outras 22 cepas descritas no *GenBank*.

3.4.1 Análise Filogenética

A comparação da seqüência nucleotídica da região 5' *LTR* da amostra de HTLV-1 analisada no presente estudo com outros 50 isolados disponíveis no *Genbank*, possibilitou a construção de uma árvore filogenética que mostra claramente que o exemplar aqui isolado (18596) agrupou-se no clado composto pelos isolados subtipo Cosmopolita, subgrupo transcontinental, com valor de *bootstrap* de 57% (Figura 14).

Em relação à análise filogenética das seqüências nucleotídicas da região 5' *LTR* das amostras de HTLV-2 (17779, 18490 e 18491) com outros 57 isolados disponíveis no *Genbank*, demonstrou que todos os isolados do presente estudo, agruparam-se com as outras cepas descritas como HTLV-2c, com um valor de *bootstrap* de 58% (Figura 15).

A árvore filogenética obtida a partir da comparação das seqüências nucleotídicas da VR1 do gene *K1* da amostra do HHV-8 (BEL 17608) com outras 22 cepas descritas no *GenBank*, demonstrou que a amostra analisada agrupa-se ao subtipo B, essa associação encontra-se sustentada por um *bootstrap* de 100% (Figura 16).

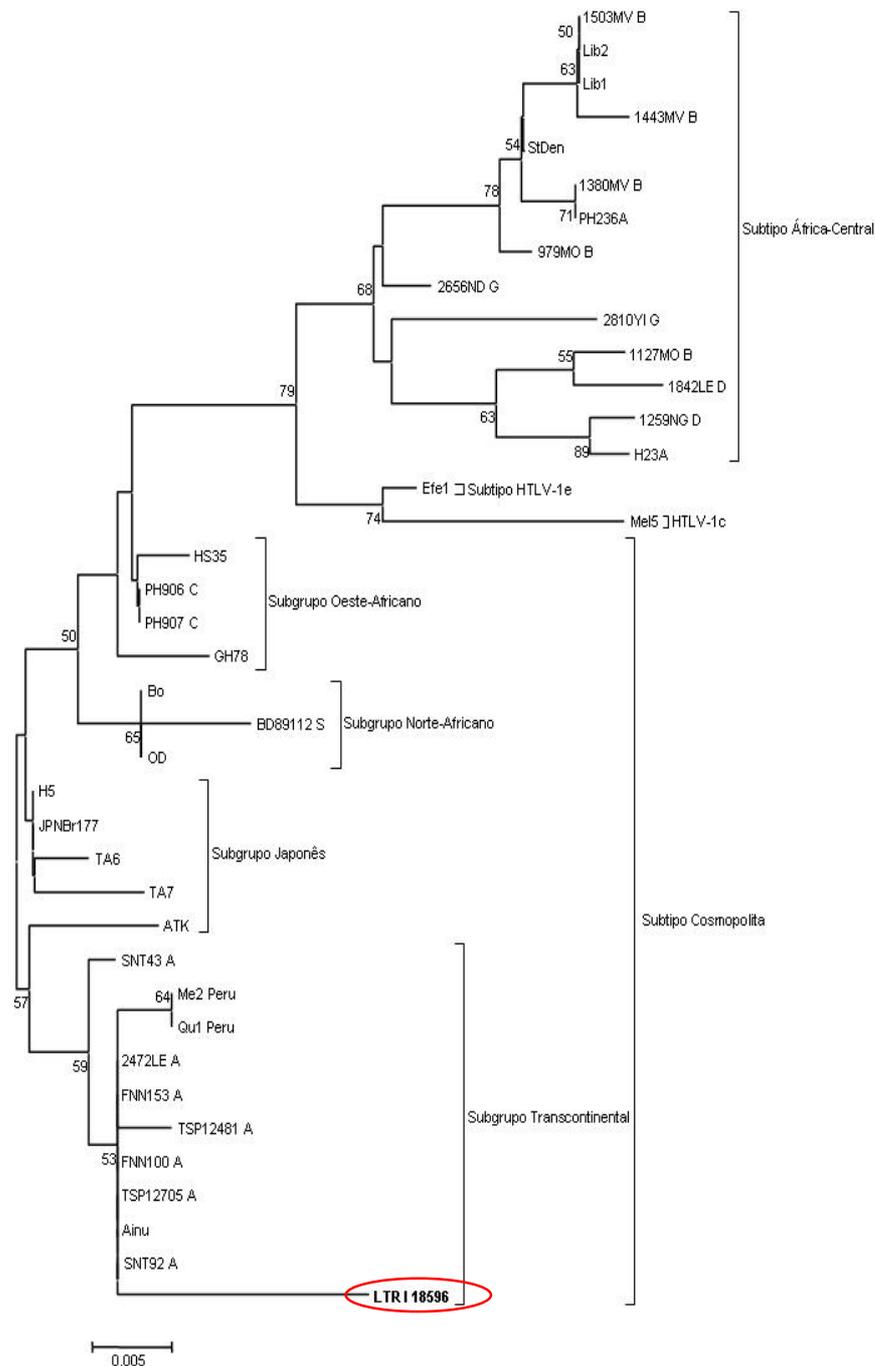


Figura 14- Árvore filogenética, mostrando as relações filogenéticas entre as amostras de HTLV-1 disponíveis no *GenBank* e aquela descrita no presente estudo (amostra 18596). A árvore foi construída usando o modelo de Agrupamento de Vizinhos (*Neighbor-Joining*) após o alinhamento de 370 nucleotídeos da região 5'LTR. O teste de sustentação estatística (*bootstrap*) foi aplicado usando 1000 réplicas.

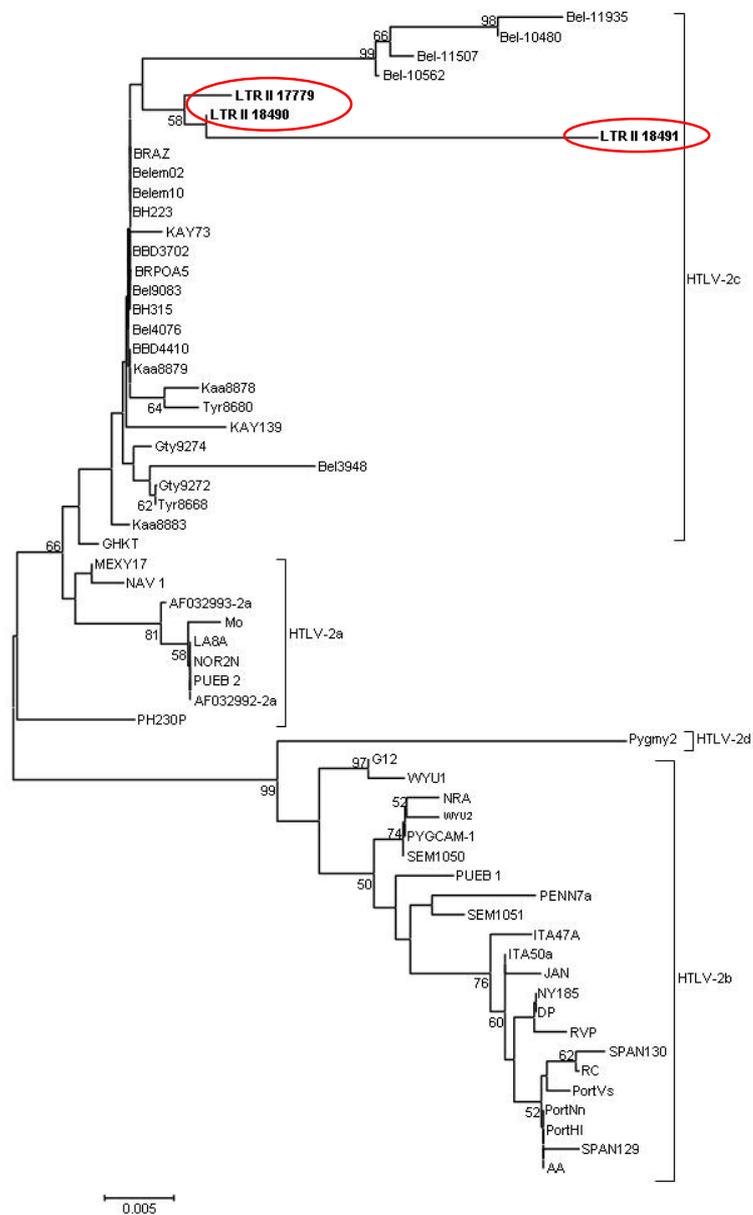


Figura 15 - Árvore filogenética, mostrando as relações filogenéticas entre as amostras de HTLV-2 disponíveis no *GenBank* e aquelas descritas no presente estudo (amostras 17779, 18490 e 18491). A árvore foi construída usando o modelo de Agrupamento de Vizinhos (*Neighbor-Joining*) após o alinhamento de 530 nucleotídeos da região 5'LTR. O teste de sustentação estatística (*bootstrap*) foi aplicado usando 1000 réplicas.

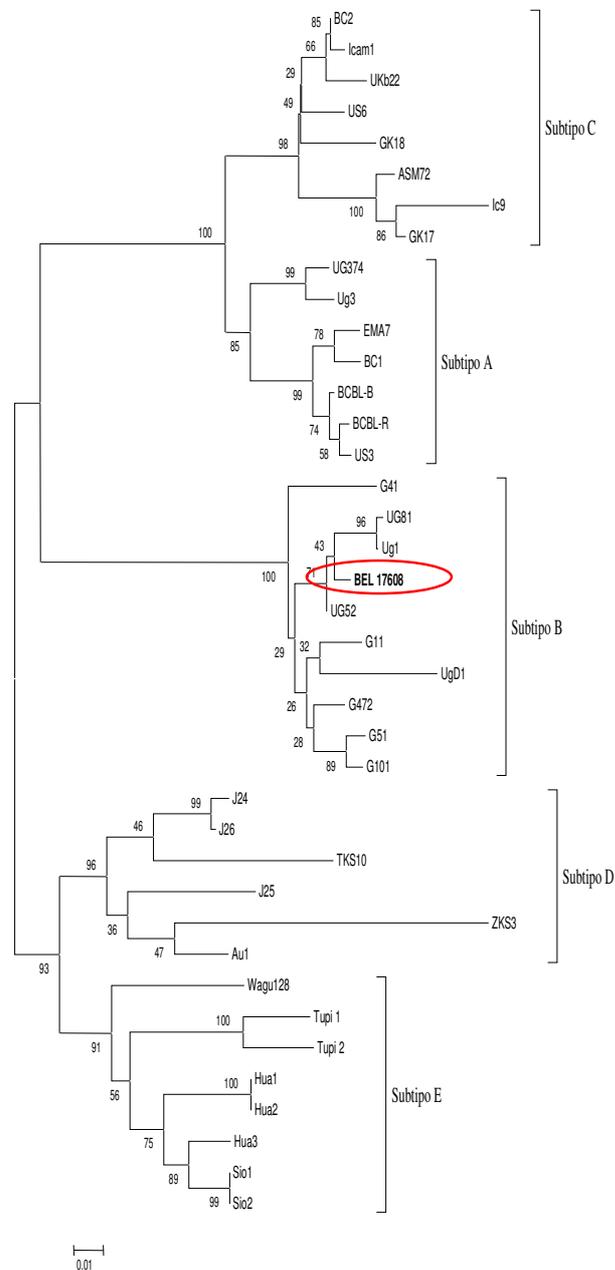


Figura 16- Árvore filogenética, mostrando as relações filogenéticas entre as amostras de HHV-8 disponíveis no *GenBank* e aquela descrita no presente estudo (amostra 17608). A árvore foi construída usando o modelo de Agrupamento de Vizinhos (*Neighbor-Joining*) após o alinhamento de 217 nucleotídeos região variável 1 (VR1) do gene *K1*. O teste de sustentação estatística (*bootstrap*) foi aplicado usando 2000 réplicas.

4. DISCUSSÃO

4.1 PERFIL SÓCIO-DEMOGRÁFICO DA POPULAÇÃO DE PORTADORES DO HIV-1 COM OU SEM SIDA/AIDS ATENDIDOS NA URE-DIPE EM BELÉM/PA.

No presente estudo, a faixa etária que mais buscou atendimento na URE DIPE foi a de 26 a 35 anos, seguida pela de 36 a 45 anos, corroborando os dados de outros estudos realizados no Brasil, onde pacientes infectados com HIV predominavam na faixa etária de 30 a 40 anos, de 20 a 40 anos e 30 a 39 anos de idade (Bassicheto *et al.*, 2004; Rodrigues & Abath, 2000; Neto *et al.*, 2010, respectivamente). Isso se deve provavelmente a uma maior proporção de pessoas sexualmente ativas entre os adulto-jovens.

Ressalta-se que a infecção pelo HIV não se restringe à faixa etária mais jovem, pois se verificou casos de portadores de HIV em idades mais avançadas. Uma possível justificativa para indivíduos mais velhos estarem sendo atingidos pode ser por terem se exposto a situações de risco durante mais tempo e por terem menos informação preventiva, além da dificuldade no uso do preservativo nos casos de disfunção erétil (Pechansky *et al.*, 2005).

Observou-se que a soropositividade foi diferente para homens e mulheres, atingindo principalmente os homens, semelhante ao relatado no Brasil (Rodrigues & Abath, 2000; Reiche *et al.*, 2005; Boletim Epidemiológico AIDS, 2009; Biscotto *et al.*, 2009), conseqüentemente as abordagens preventivas devem ser diferenciadas. Para os homens as relações de HSH, a fidelidade, a monogamia e a proteção devem ser mais abordadas e para as mulheres um aspecto importante é incentivar, principalmente, a negociação da prática de sexo seguro (Silva, 2002).

Em relação ao estado civil, a população que buscou a URE-DIPE em Belém-PA foi, na maioria, solteira, concordando com outros estudos (Ferreira *et al.*, 2001; Bassicheto *et al.*, 2004; Pechansky *et al.*, 2005; Neto *et al.*, 2010). É possível que esse dado se relacione com outros tipos de comportamento, como maior número de parceiros e outras práticas sexuais, tornando esses indivíduos mais vulneráveis (Silva & Barone, 2006).

Foi verificada uma associação entre a infecção pelo HIV-1 e a baixa escolaridade dos entrevistados, sendo que 44% desses tinham o primeiro grau completo ou incompleto, também apontado por outros estudos que mostram a pauperização da epidemia, que pode ser inferida baseando-se no grau de escolaridade (Fonseca *et al.*, 2000; Ferreira *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2002; Rodrigues-Júnior & Castilho, 2004; Silva *et al.*, 2009; Neto *et al.*, 2010). Esse fato deve ser resultado do abandono precoce do estudo e da necessidade de contribuir com a renda familiar.

A constatação de que o número de casos aumentou nos estratos com menor renda familiar remete à condição de menor cobertura dos sistemas de vigilância e de assistência médica, entre os menos favorecidos economicamente (Rodrigues-Júnior & Castilho, 2004). Sabe-se, de maneira geral, que indivíduos de baixa renda também têm menor nível educacional e menor acesso às informações sobre saúde, tornando-se alvos de doenças potencialmente evitáveis através de mudanças de comportamento, o que justificaria um foco especial no desenvolvimento ou adaptação de metodologia preventiva específica para esse estrato populacional (Pechansky *et al.*, 2005).

A maioria dos portadores do HIV-1 desta pesquisa residia em Belém e era naturalizado Paraense provavelmente, devido o local de atendimento (URE DIPE) ser referência para a clientela em Belém/PA, o que permite adesão e qualidade do tratamento.

Dessa forma, pode haver influência dos vieses na residência e naturalidade dos participantes.

4.2 FATORES DE RISCO DA POPULAÇÃO DE PORTADORES DO HIV-1 COM OU SEM SIDA/AIDS ATENDIDOS NA URE-DIPE EM BELÉM/PA.

Entre os fatores de risco pesquisados nenhum se destacou acentuadamente, fato concordante com dados atuais de outros trabalhos, mostrando que o perfil do portador do HIV-1 diversificou-se, superando o conceito de grupo de risco, o que indica que o sexo protegido é a grande contenção dessa epidemia.

Embora, alguns Programas de Educação Sexual e Prevenção de HIV estimulem o sexo protegido (Paiva *et al.*, 2002), foi verificado neste estudo, o uso irregular e o não-uso de preservativos (29,7% e 25,1% respectivamente) durante as relações. Esses dados são semelhantes aqueles encontrados por Biscotto *et al.* (2009). Paiva *et al.* (2003) afirmaram que os jovens são mais acessíveis ao uso do preservativo, diferentemente da população de maior faixa etária, que tem mais resistência a essas práticas e confiam em parceiros de relações estáveis ou não.

Aproximadamente 43% dos entrevistados declararam a prática usual e imprevisível do sexo anal, uma prática comum na nossa cultura, mas é a mais perigosa, pois a mucosa anal tem uma quantidade grande de vasos sanguíneos de imediato contato e o vírus é absorvido direto para a corrente sanguínea (Greenblat & Hessol, 2000).

Alguns entrevistados (40,2%) relataram já ter tido uma ou mais IST, dado semelhante ao encontrado por Reiche *et al.* (2005) (32,5%) e Rodrigues & Abath (2000) (20%), o que está associado com o maior risco para infecção pelo HIV-1 e na progressão da

AIDS, que pode ser devido à inflamação, ulceração e ruptura das barreiras locais, mas também a inflamação sistêmica não específica e liberação de citocinas que produzem ativação imune sistêmica (Wasserheit, 1992; Phair *et al.*, 1992; Royce *et al.*, 1997; Fleming & Wasserheit, 1999).

Um número relativamente grande dos entrevistados (42,7%) relatou o uso de drogas não injetáveis, como o álcool, o cigarro e a maconha, enquanto o uso de drogas injetáveis foi uma prática incomum (2,5%). Alguns estudos têm demonstrado relação entre o uso de álcool e outras drogas com comportamentos sexuais de risco (Fullilove *et al.*, 1990; Fullilove *et al.*, 1993; Shirier *et al.*, 1997), como o não uso de preservativos e ter múltiplos parceiros. Um estudo realizado pelo Núcleo de Prevenção à AIDS – Nup aids (NUPAIDS, 1992) observou que o consumo de álcool estimula a atividade sexual, uma vez que fornece a impressão de que a libido é maior e o desempenho na relação sexual melhora.

Relativo aos parceiros sexuais, os dados encontrados confirmaram outras pesquisas realizadas no Brasil (Rodrigues & Abath, 2000; Reiche *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2009; Biscotto *et al.*, 2009; Neto *et al.*, 2010), em que as maiores prevalências foram entre homens e mulheres que mantêm relações heterossexuais, contrariando a literatura americana, que mostra ainda a maioria dos casos de AIDS atribuída ao contato homossexual masculino (47%) (Hariri & Mckenna, 2007).

Assim, o crescimento do número de casos entre homens heterossexuais, junto ao marcante predomínio desta forma de transmissão na população feminina, corrobora a hipótese de heterossexualização e feminização da epidemia (Santos *et al.*, 2002).

Neste trabalho, a parceria sexual com indivíduos com HIV foi de 36,3%, esse dado é relevante como critério de risco pra obter esse vírus.

4.3 PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELO HTLV-1/2 EM PORTADORES DO HIV-1 COM OU SEM SIDA/AIDS ATENDIDOS NA URE-DIPE EM BELÉM/PA.

4.3.1 Subtipos do HTLV-1 e HTLV-2 em Portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS Atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.

No Brasil, a soroprevalência da infecção pelo HTLV-1/HTLV-2 tende a aumentar em populações consideradas de alto risco, por exemplo, foram encontradas taxas de 8,2% (Zanetti & Galli *et al.*, 1992), 6,5% (Morimoto *et al.*, 2005), 3,5% (Laurentino *et al.*, 2005), entre indivíduos HIV/HTLV.

No presente estudo, a co-infecção HIV-1/HTLV foi confirmada em 12 (2,3%) pessoas, residentes em Belém e em outros municípios do PA, com uma taxa de 0,8% para o HTLV-1 e 1,0% para o HTLV-2, esses resultados são semelhantes àqueles encontrados por Vallinoto *et al.* (1998) (2,7 e 4,7%), posteriormente confirmados por Laurentino *et al.* (2005) (1,2 e 2,3%), na área urbana de Belém, em indivíduos co-infectados pelo HIV-1, cuja prevalência de HTLV-2 foi maior em relação ao HTLV-1. Isso ocorre provavelmente devido à alta endemicidade para o HTLV-2 encontrado na Região Amazônica Brasileira (Ishak *et al.*, 2001).

Também, esses resultados condizem com os dados obtidos de outras pesquisas brasileiras com a prevalência da infecção para o HTLV-1 e para o HTLV-2 sendo, respectivamente, 4,0 e 6,1% em São Paulo (Caterino-de Araujo *et al.*, 1998), 6,0 e 7,2% em Santos (Etzet *et al.*, 2001) e 0,8 e 4,9% em Londrina (Morimoto *et al.*, 2005). Entretanto, eles contrastam com os obtidos por Schechter *et al.* (1994) no Rio de Janeiro (5,7 e 0,4%) e por Brites *et al.* (1997) na Bahia (11,4 e 0,8%).

Algumas amostras, tanto de HTLV-1 quanto de HTLV-2, não chegaram a ser seqüenciadas, devido à dificuldade de amplificação da região 5' *LTR*, em virtude, talvez, da presença de mutações em sítios específicos dos iniciadores ou à existência de uma baixa carga proviral (< 10 cópias/0,7 µg DNA), o que pode dificultar, assim, a amplificação das regiões genômicas do HTLV (Cimarelli *et al.*, 1996). Para tanto, foram feitas inúmeras tentativas de amplificação gênica, o que acabou por acarretar a perda de muitas dessas amostras.

No presente estudo, foi detectada a presença do HTLV-1, subtipo Cosmopolita, subgrupo Transcontinental em um indivíduo co-infectado pelo HIV-1. Isso está de acordo com outros estudos que indicam esse subtipo como o mais prevalente em populações urbanas tais como São Paulo e Salvador (Segurado *et al.*, 2002; Alcântara *et al.*, 2003a). Além disso, esse subtipo tem sido relatado em outras comunidades urbana e rural do Estado do Pará (Pontes *et al.*, 2003; Laurentino *et al.*, 2005), exceto entre os imigrantes japoneses residentes em Tomé-Açú, onde foi encontrado o subgrupo Japonês (Vallinoto *et al.*, 2004).

Considerando que o Subtipo Transcontinental tem sido isolado em diversos grupos étnicos incluindo Africanos e seus descendentes que vivem na América Latina (Van Dooren *et al.*, 1998), e que a infecção pelo HTLV-1 está ausente ou com baixa prevalência na população de índios nativos da Região Amazônica (Ishak *et al.*, 1995; Shindo *et al.*, 2002), a presença desse subgrupo em Belém pode ser sugerida como uma recente introdução do vírus na Região Amazônica pelos Africanos que foram comprados como escravos por volta do século XVII e XVIII. Entretanto estudos anteriores têm fracassado na identificação da infecção pelo HTLV-1 em duas populações Afro-brasileiras semi-isoladas localizadas na Região Amazônica Brasileira (Ishak *et al.*, 1995).

Estudos da infecção pelo HTLV-2 em comunidades urbanas e não-urbanas da Região Amazônica têm mostrado a ocorrência principalmente do subtipo molecular designado como HTVL-2c, que é filogeneticamente e fenotipicamente associado ao HTLV-2a e HTLV-2b, respectivamente (Ishak *et al.*, 1995; Eiraku *et al.*, 1996; Vallinoto *et al.*, 2002; Alcântara *et al.*, 2003 b). No presente estudo, a análise filogenética mostrou que as três cepas isoladas agruparam-se com as outras cepas descritas como HTLV-2c. Esse resultado corrobora a proposta do HTLV-2c como o principal subtipo molecular encontrado na Região Amazônica Brasileira (Vallinoto *et al.*, 2002).

Esse subtipo HTLV-2c foi identificado, também, em doadores de sangue e em pacientes co-infectados pelo HIV-1, na cidade de Belém (Pará) assim como, em três comunidades indígenas (Gorotire, Kayapó e Tiriyo) do Estado do Pará (Vallinoto *et al.*, 2002; Laurentino *et al.*, 2005). Pontes *et al.* (2003), através de análises moleculares feitas em amostras de várias populações do Estado do Pará identificaram a presença do subtipo HTLV-2c em populações ribeirinhas localizadas nas ilhas próximas a capital, Belém.

A ocorrência desse subtipo na população brasileira, especialmente na Região Amazônica pode ser atribuída a um efeito fundador após os eventos migratórios humanos que povoaram a região, atribuindo-se, assim, a hipótese de que se trata de um subtipo molecular único, cuja origem estaria relacionada ao povoamento da região pelos ancestrais ameríndios, disseminando-se nas áreas urbanas do Brasil por meio da miscigenação inter-étnica (Vallinoto *et al.*, 2002).

A evidência, no presente estudo, de pacientes apresentando a co-infecção HIV-1/HTLV-2, ressalta o fato de que o HTLV-2c está se expandindo da área geográfica de endemidade para áreas urbanas, e assim esse não está restrito a populações indígenas da

Região Amazônica Brasileira, como tem sido previamente relatado em outros estudos (Ishak *et al.*, 1995; Eiraku *et al.*, 1996; Vallinoto *et al.*, 1998; Shindo *et al.*, 2002).

4.3.2 Fatores Sócio-Demográficos e Fatores de Risco dos Indivíduos Co-infectados HIV/HTLV com ou sem SIDA/AIDS Atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.

A prevalência da infecção pelo HTLV-1/2 aumenta com a idade e alcança valores máximos na idade de 60 anos (Murphy *et al.*, 1991; Muller *et al.*, 1996; Larsen *et al.*, 2000), ao passo que a co-infecção HIV/HTLV é encontrada em indivíduos acima de 35 anos de idade (Bessinger *et al.*, 1997).

No presente estudo, a média das idades entre os co-infectados foi de 45,1 anos e a faixa etária dos co-infectados variou de 26-65 anos, resultado devido, provavelmente, ao fato que 90,8% da população analisada atingiram essa faixa etária de idade. Esse dado está de acordo com resultados relatados previamente (Morimoto *et al.*, 2005; Dougan *et al.*, 2005), porém contrária os dados de Kleine-Neto *et al.* (2009).

Observou-se que a soropositividade para o HTLV foi igual para homens e mulheres (50%), contrariando os dados em outros estudos Brasileiros, onde o sexo masculino predominou em mais de 65% (Vallinoto *et al.*, 1998; Morimoto *et al.*, 2005; Kleine-Neto *et al.*, 2009; Colin *et al.*, 2003).

Enquanto em outros estudos predominou o sexo feminino (Dougan *et al.*, 2005; Mota *et al.*, 2006; Loreiro, 2008), visto que a transmissão sexual é mais eficiente no sentido do homem para a mulher (Murphy *et al.*, 1989; Kaplan *et al.*, 1996).

O estado civil solteiro foi o mais citado entre os indivíduos dos dois grupos avaliados, diferentemente dos dados obtidos por Loreiro (2008), onde predominou a situação estável entre os indivíduos co-infectados.

Alguns pesquisadores têm citado que a educação escolar é um fator importante para a saúde de um indivíduo, bem como um indicador socioeconômico para os casos de AIDS (Pappas *et al.*, 1993; Mackenbach *et al.*, 1997; Dhaliya *et al.*, 2000). No presente estudo, 66,6% dos indivíduos co-infectados HIV/HTLV tinham ensino médio incompleto divergindo dos resultados de Morimoto *et al.* (2005), onde 77,6% eram analfabetos ou possuíam o ensino fundamental. De acordo com estudos prévios, a baixa escolaridade está associada com maior soroprevalência do HTLV-1 (Edlich *et al.*, 2000; Rouet *et al.*, 2002; Dourado *et al.*, 2003).

Em relação à renda, houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,041\%$) na categoria menor que um salário, com a maior taxa no grupo dos mono-infectados. Também, foi verificado um grande número de indivíduos co-infectados (66,7%) em um dos estratos com menor renda familiar (1-3 salários), concordando com outros estudos que sugerem a associação de menor renda com essa infecção (Edlich *et al.*, 2000; Rouet *et al.*, 2002; Dourado *et al.*, 2003; Morimoto *et al.*, 2005).

A maioria dos co-infectados desta pesquisa residia em Belém e era naturalizado Paraense, provavelmente, devido o local de atendimento (URE-DIPE) ser referência para a clientela em Belém/PA. Esse fato também foi encontrado em outros estudos, onde o maior número de participantes sempre residiam no local onde era realizada a pesquisa.

A baixa frequência de pessoas co-infectadas no presente estudo não permitiu evidenciar associação dos parâmetros de comportamento de risco com a soropositividade para o HTLV-1/2. Contudo, foi verificado neste estudo, o uso irregular e o não-uso de preservativos (27,0% e 22,6% respectivamente) durante as relações, com essas taxas do

grupo dos mono infectados sendo maior que as do co-infectados, dados que sugerem maior risco de exposição a infecções no grupo dos mono infectados.

Mesmo sem haver associação relevante nos fatores de risco, uma importante parcela dos participantes co-infectados relatou a prática usual e imprevisível do sexo anal (16,6% e 16,6% respectivamente), o sexo com parceiros de outros estados (60,0%) e sexo com parceiros UDE (33,3%) e UDNE (50,0%).

Também não foi encontrada associação estatisticamente significativa dessa co-infecção com os casos de IST. Esse resultado está de acordo com o resultado de outras pesquisas conduzidas no Brasil (Etzel *et al.*, 2001; Morimoto *et al.*, 2005; Kleine-Neto *et al.*, 2009). Embora, 41,7%, dos co-infectados avaliados, revelaram já ter tido algum episódio de IST, que segundo Murphy *et al.* (1989) representa um fator de risco para a infecção por HTLV-1. Araújo & De Andrada-Serpa (1998) demonstraram, em estudo de levantamento nacional em 5 centros brasileiros de tratamento da PET/MAH-HTLV-1 positivo, que 30,6% tinham história prévia de IST.

A análise do questionário revelou que, não foi encontrada associação entre indivíduos co-infectados HIV/HTLV e o fato de ser UDE, o que difere de outros dados encontrados previamente, onde mostram que a co-infecção HIV/HTLV está relacionada principalmente em ser UDE (Caterino-de Araujo *et al.*, 1994; Bessinger *et al.*, 1997; Caterino-de Araujo *et al.*, 1998; Etzel *et al.*, 2001; Kleine-Neto *et al.*, 2009).

Porém, foi encontrada associação estatisticamente significativa em ser UDNE (0,75%), tais como o álcool, o cigarro e a maconha, o que poderia aumentar a vulnerabilidade à aquisição de agentes infecciosos pela via sexual, pois o álcool, juntamente com a maconha, tem um efeito desinibitório que facilitaria a relação sexual.

Relativo aos parceiros sexuais, os dados encontrados confirmaram outras pesquisas realizadas no Brasil (Colin *et al.*, 2003; Kleine-Neto *et al.*, 2009) e na Inglaterra e País de Gales (Dougan *et al.*, 2005), em que as maiores prevalências foram entre homens e mulheres que mantêm relações heterossexuais. Esse dado é também contrário ao descrito em outro estudo, onde se verificou a prevalência de homo ou bissexuais (Vallinoto *et al.*, 1998).

4.3.3 Ausência de Associação da Contagem de Linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ e Carga Viral dos pacientes co-infectados HIV-1/HTLV com os monoinfectados.

No presente estudo, a contagem das células T CD4⁺ foi similar entre os grupos dos co-infectados e dos monoinfectados pelo HIV-1, com maior taxa no valor de CD4 < 350 Células/mm³, em ambos os grupos. Enquanto a contagem das células T CD8⁺ foi maior no valor de CD8 > 500 Células/mm³, também em ambos os grupos.

Resultados similares foram obtidos por Posada-Vergara *et al.* (2006), onde no grupo dos co-infectados a contagem das células T CD4⁺ foi menor e a contagem das células T CD8⁺ foi maior. Esses achados podem refletir a patogênese imune causada pelo HIV-1, onde esse causa a destruição das células T CD4⁺ e a ativação imune causa o aumento das células T CD8⁺ durante a infecção.

Posada-Vergara *et al.* (2006), verificaram um maior número de células T CD4⁺ em infecções causadas somente pelo HTLV-2 em relação aos co-infectados HIV-1/HTLV-2, esse dado apresentou diferença estatisticamente significante ($p < 0,01$), enquanto que o número de células T CD8⁺ foi maior entre co-infectados.

Zhang (1998) observou um discreto aumento de células CD4⁺ no grupo dos co-infectados HIV/HTLV-2 em relação aos monoinfectados. De acordo com outras pesquisas,

foi verificado um maior número de células T CD4⁺ em co-infectados HIV-1/HTLV-1 quando comparado com os monoinfectados HIV-1 (Schechter *et al.*, 1994; Schechter *et al.*, 1997; Casseb *et al.*, 2007).

No presente estudo, a carga viral plasmática do HIV-1 apresentou maior taxa (41%) no intervalo 1000|—100000 cópias/mL no grupo dos monoinfectados pelo HIV-1, em relação aos co-infectados. Esse dado confirma outros achados que sugerem o efeito protetor do HTLV-2, onde a contagem de células T CD4⁺ e T CD8⁺ permanece em níveis normais e a replicação do HIV fica reduzida juntamente com a ativação imune (O'Garra, 1998; Menten *et al.*, 2002).

4.4 PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELO HHV-8 EM PORTADORES DO HIV-1 COM OU SEM SIDA/AIDS ATENDIDOS NA URE-DIPE EM BELÉM/PA.

4.4.1 Subtipos do HHV-8 em Portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS Atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.

No presente estudo, a soroprevalência do HHV-8 foi verificada em 179 pessoas (35,9%) pelo método de ELISA e em um indivíduo (0,6%) pela PCR. Assim, a prevalência aqui encontrada pela PCR foi menor do que aquela obtida pelo teste sorológico, possivelmente a maioria dos participantes eram saudáveis infectados com HHV-8 (infecção latente), a proporção da detecção pela PCR aumentaria se eles estivessem com a doença (infecção lítica).

Esse dado corrobora outros achados que têm demonstrado que no sangue periférico, a frequência de detecção do HHV-8 em pacientes com SK varia de 50-93%, em diferentes regiões geográficas e diferentes populações, no entanto, em lesões tumorais de pacientes

com SK as seqüências de DNA do HHV-8 foram detectadas pela PCR em quase 100% (Sitas *et al.*, 1999; Spira *et al.*, 2000).

Outro estudo mostrou que menos de 10% dos pacientes HIV⁺ sem SK apresentaram DNA de HHV-8 em células mononucleares de sangue periférico (PBMC) enquanto que 70% das amostras de tecido oral sem SK e HIV⁺ apresentaram DNA do HHV-8 (Whiby *et al.*, 1999). Isso sugere que o sangue periférico não é o melhor material para a detecção do DNA do HHV-8.

A prevalência da co-infecção HIV-1/HHV-8 descrita no presente trabalho, foi de 0,6% pelo nested PCR, menor que a encontrada na Itália, que foi de 7%, confirmada pelo *nested* PCR no sangue periférico de 58 portadores do HIV (Bigoni *et al.*, 1996), no Brasil, que foi de 3,7% detectado pela PCR nas amostras de portadores do HIV sem SK (Keller *et al.*, 2001), em Salvador que foi de 4,0% (Cunha, 2005) e em Belém, que foi de 4,9% (Martins, 2004), ambos em portadores do HIV-1, usando a *nested* PCR.

A análise filogenética, realizada neste trabalho, revelou que a seqüência da VR1 do gene *K1* codificado pelo HHV-8, de uma amostra de um portador do HIV-1, foi agrupada com as cepas do Subtipo B. Isso está de acordo com outros estudos que também o detectaram em portadores do HIV-1, tais como em Salvador (Cunha, 2005), em Belém do Pará (Martins, 2004), diferentemente dos subtipos encontrados nas Populações Ameríndias, onde Biggar *et al.*, em 2000, descreveram o subtipo E e Martins (2004) verificou a presença do subtipo C e do subtipo E pertencentes as tribos Zo'é e Tiriyó, respectivamente.

Zong *et al.* (1999), verificando a presença do HHV-8, em amostras de biópsias de SK, originadas de vários lugares como EUA, África Central, Arábia Saudita, Taiwan,

Uganda, Tanzânia e Zâmbia, encontraram o subtipo B quase que exclusivamente em amostras de pacientes da África ou de origem africana.

Resultados similares foram obtidos por Cook *et al.*, em 1999, os quais também observaram a presença do subtipo B em amostras de biópsias, sangue periférico, sêmen e linhagens celulares, oriundas de países africanos.

Considerando que o Subtipo B tem sido isolado principalmente em Africanos e seus descendentes, a presença desse subgrupo em Belém pode ser sugerida como uma introdução do vírus na Região Amazônica pelos Africanos que foram comprados como escravos por volta do século XVII e XVIII.

4.4.2 Fatores Sócio-Demográficos e Fatores de Risco dos Indivíduos Co-infectados HIV/ HHV-8 com ou sem SIDA/AIDS Atendidos na URE-DIPE em Belém/PA.

No presente estudo, a média das idades entre os co-infectados foi de 39 anos e a faixa etária predominante dos co-infectados foi de 26-35 anos. Esse dado está de acordo com resultados relatados previamente, onde a média de idade foi de 40 anos, variando de 31 a 47 anos (Cunha, 2005), porém contrária os dados de Martins (2004), onde a prevalência de anticorpos anti-HHV-8 foi maior entre pacientes com 50 anos ou mais.

Observou-se que a soropositividade para o HHV-8 foi maior em homens (61,5%), corroborando os dados de outros estudos, onde o sexo masculino predominou (Martins, 2004; Cunha, 2005; Nascimento *et al.*, 2005; Kouri *et al.*, 2005).

Em relação ao sexo masculino, Borges (2009) observou que foi maior a excreção do HHV-8 pela saliva de homens soropositivos que de mulheres, (16,7% e 6,5%, respectivamente, $p=0,001$) e Monine *et al.*(1996) verificaram a presença do HHV-8 no

sêmen dos pacientes com SK (13–20%), porém é incerto se a quantidade do vírus presente no sêmen é suficiente para transmissão sexual.

Este estudo demonstrou que houve maior risco entre os portadores do HHV-8 com menor escolaridade e menor renda, confirmando relatos de que indivíduos de baixa renda também têm menor nível educacional e menor acesso às informações sobre saúde (Pechansky *et al.*, 2005).

O estado civil solteiro foi o mais citado entre os indivíduos dos dois grupos avaliados, isso os torna mais vulneráveis, pois é possível relacioná-los com o maior número de parceiros e outras práticas sexuais (Silva & Barone, 2006).

A URE DIPE é um centro de referência em saúde localizado na cidade de Belém/PA, prestando assistência médica aos moradores de Belém e de cidades vizinhas. Por isso, a URE DIPE frequentemente recebe usuários com domicílio em Belém e região. Observou-se que a maioria dos co-infectados desta pesquisa residia em Belém e era naturalizado Paraense.

Embora, alguns Programas de Educação Sexual e Prevenção de HIV estimulem o sexo protegido (Paiva *et al.*, 2002), foi verificado neste estudo, o uso irregular e o não-uso de preservativos (22,1% e 17,1% respectivamente) durante as relações, com essas taxas do grupo dos co-infectados sendo menor que as do monoinfectados, dados que apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p=0,026$ e $p=0,006$ respectivamente), evidenciando maior risco de exposição a infecções no grupo dos monoinfectados.

Uma importante parcela dos participantes relatou a prática usual e imprevisível do sexo anal (19,0% e 24,7% respectivamente) no grupo dos co-infectados, com diferença estatisticamente significativa na prática imprevisível ($p=0,015$), sendo maior no grupo dos

mono-infectados. A soropositividade para o HHV-8, e em alguns casos a soroconversão têm sido associado à prática de sexo anal (Schulz & Moore, 1999; Blackbourn *et al.*, 1999).

Não foi encontrada associação estatisticamente significante dessa co-infecção com os casos de ISTs, sendo encontrada maior ausência de casos dessas infecções no grupo dos co-infectados. Esse resultado discorda dos dados obtidos por Kedes *et al.*, em 1996, que verificaram associação estatisticamente significante entre soropositividade para o HHV-8 e histórico de sífilis.

A soropositividade para o HHV-8 tem sido associada à história de doenças sexualmente transmissíveis, visto que as lesões da sífilis e de outras ISTs são portas de entradas e que facilitam a transmissão/aquisição viral (Schulz & Moore, 1999; Blackbourn *et al.*, 1999).

Spode & Schmitt (2004) afirmaram que Pacientes que fazem uso de drogas ficam mais suscetíveis à infecção pelo HIV e adquirem o HHV-8 devido à imunossupressão. No presente estudo, um número relativamente grande dos entrevistados (41,3%) relatou o uso de drogas não injetáveis, como o álcool, o cigarro e a maconha. Enquanto o uso de drogas injetáveis foi uma prática incomum (2,8%) entre os indivíduos co-infectados. Caterino *et al.*, (1999) encontraram que 0,8% dos co-infectados eram usuários de drogas injetáveis.

Relativo à orientação sexual, no presente trabalho foi verificado maior prevalência de heterossexuais, esse dado foi contrário ao descrito em outro estudo, onde se verificou a prevalência de homo ou bissexuais (Lennette *et al.*, 1996; Simpson *et al.*, 1996; Regamey *et al.*, 1998a; Caterino-de-Araujo *et al.*, 1999; Martins, 2004; Kouri *et al.*, 2005; Szalai *et al.*, 2005). Esses resultados apoiam a idéia que HHV-8 pode ser transmitido principalmente por relações homossexuais, além de outros modos de transmissão tal como o beijo, aleitamento materno e compartilhamento de utensílios (Kedes *et al.*, 1996).

Neste trabalho, o estilo de possuir companheiro que possui múltiplos parceiros apresentou diferença estatisticamente significativa ($p=0,004$), com maior taxa nos indivíduos mono infectados (16,6%). Além disso, a parceria sexual com indivíduos portadores do HIV foi de 38,5% e com indivíduos com AIDS foi de 17,3%, esses dados são relevantes como critérios de risco para obter o HIV e posteriormente o HHV-8 devido à imunossupressão.

4.4.3 Presença de Associação entre a Contagem de Linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ e Carga viral dos pacientes co-infectados HIV-1/HHV-8 com os mono infectados

No presente estudo, a contagem das células T CD4⁺ foi similar entre os grupos dos co-infectados e dos mono infectados pelo HIV-1, com maior taxa no valor de CD4 < 350 Células/mm³, em ambos os grupos. Enquanto a contagem das células T CD8⁺ foi maior no valor de CD8 > 500 Células/mm³, também em ambos os grupos. Esses achados podem refletir a patogênese imune causada pelo HIV-1, onde esse causa a destruição das células T CD4⁺ e a ativação imune causa o aumento das células T CD8⁺ durante a infecção.

Martins (2004), não encontrou associação da prevalência do HHV-8 com a quantificação dos níveis de linfócitos T CD4⁺ entre portadores do HIV-1 ($p=0,4897$) e observou maior prevalência na contagem de CD4⁺ \geq 350 células/mm³. Nascimento *et al.* (2005), encontraram a média de contagem de CD4⁺ (média de 103,5 células/mm³) baixa em portadores do HIV-1 e, assim, a maioria desses (70%) já estavam em tratamento com a HAART.

No presente estudo, a carga viral plasmática do HIV-1 apresentou maior taxa (45,4%) no intervalo 501—1000 cópias/mL no grupo dos mono infectados pelo HIV-1, em relação aos co-infectados, dado que mostrou diferença estatisticamente significativa (Teste

Mann-Whitney: $U = 20478.5$, $p=0,003$ e $X^2=12829$, $GL=1$, $p=0,0005$), seguida pelo intervalo 10000|—100000 cópias/mL, com uma taxa de 35% no grupo dos monoinfectados pelo HIV-1, dado que também mostrou diferença estatisticamente significativa (Teste Mann-Whitney: $U = 20478.5$, $p=0,003$ e $X^2=7928$, $GL=1$, $p=0,007$), demonstrando assim que esses valores são diferentes.

Esse dado confirma outros achados que sugerem que nos co-infectados existe um aumento da replicação do HIV-1 e do HHV-8, tais interações recíprocas parecem ser promovidas pela a proteína Tat e pelo produto do gene imediato inicial (KIE2) do HHV-8 (Huang *et al.*, 2001), e possivelmente com uma evolução desfavorável para o paciente, em vista do favorecimento tanto para a AIDS quanto para as doenças causadas pelo HHV-8. Justificando um possível resultado final negativo na evolução clínica desses pacientes em comparação com os monoinfectados.

Finalmente, chamou a atenção à detecção de quatro indivíduos possuírem os três vírus analisados, HIV-HTLV-HHV-8, confirmando dados de que ambos possuem as mesmas vias de transmissão. Sendo dois homens e duas mulheres, solteiros, residentes em Belém, Conde e Macapá, paraenses, com idades de 33, 49, 52 e 63 anos. Possuíam renda de 1 a 3 salários, ensino médio, não eram UDE, dois eram homossexuais que se relacionavam com parceiros portadores do HIV-1, todos praticavam sexo anal, dois já haviam apresentado um episódio de IST (gonorréia). A contagem de células $CD4^+$ foi geralmente menor que 500 células/mm³, enquanto a contagem de células $CD8^+$ foi maior que 500 células/mm³, e a Carga Viral do HIV-1 variou de < 50 a 50|—1000 cópias/mL.

5. CONCLUSÕES

- 1- Os HTLV-1 e HTLV-2 circulam de forma equivalente entre indivíduos infectados com o HIV-1 na população estudada.
- 2- A amostra de HTLV-1 seqüenciada foi classificada como pertencente ao subtipo Cosmopolita, subgrupo Transcontinental.
- 3- Todas as amostras de HTLV-2 seqüenciadas foram classificadas como pertencentes ao subtipo HTLV-2c.
- 4- Não foi possível observar associação da co-infecção HIV/HTLV com fatores de risco, como: transmissão sexual, UDE e ISTs, em relação aos mono infectados HIV-1.
- 5- Não houve associação da co-infecção HIV/HTLV com a contagem de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ e a carga viral plasmática do HIV-1, em relação aos mono infectados pelo HIV-1.
- 6- A contagem de linfócitos T CD4⁺ foi menor que a contagem de T CD8⁺ tanto no grupo dos co-infectados HIV-1/HTLV como no grupo dos mono infectados.
- 7- A maior taxa da carga viral plasmática do HIV-1 no grupo dos mono infectados pelo HIV-1 sugere um efeito protetor do HTLV-2.
- 8- O subtipo do HHV-8 encontrado em pacientes portadores do HIV-1 com ou sem SIDA/AIDS, em Belém do Pará, foi o subtipo B.
- 9- A discrepância entre os resultados do teste sorológico e a PCR sugere que a maioria dos participantes eram saudáveis infectados com HHV-8 (infecção latente).

- 10- A soropositividade para o HHV-8 foi maior em indivíduos do sexo masculino, com menor escolaridade, menor renda e heterossexuais.
- 11- A contagem dos linfócitos T CD4⁺ foi menor que a contagem dos linfócitos T CD8⁺ tanto no grupo dos co-infectados HIV/HHV-8 como no grupo dos mono infectados.
- 12- Houve diferença estatisticamente significativa da co-infecção HIV/HHV-8 com a carga viral plasmática do HIV-1.
- 13- A maior taxa da carga viral plasmática do HIV-1 foi no grupo dos co-infectados HIV/HHV-8.
- 14- Foram detectados quatro indivíduos possuindo os três vírus analisados, HIV-HTLV-HHV-8.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABLASHI, D., CHATLYNNE, L., COOPER, H., THOMAS, D., YADAV, M., NORHANOM, A.W., CHANDANA, A.K, CHURDBOONCHART, V., KULPRADIST, S.A., PATNAIK, M., LIEGMANN, K., MASOOD, R., REITZ, M., CLEGHORN, F., MANNS, A., LEVINE, P.H., RABKIN, C., BIGGAR, R., JENSEN, F., GILL, P., JACK, N., EDWARDS, J., WHITMAN, J., BOSHOFF, C. Seroprevalence of human herpesvirus-8 (HHV-8) in countries of Southeast Asia compared to the United States, the Caribbean and Africa. **British Journal of Cancer**, **81**: 893-7, 1999.
- ALBINI, A., SOLDI, R., GIUNCIUGLIO, D., GIRAUDO, E., BENELLI, R., PRIMO, L., NOONAN, D., SALIO, M., CAMUSSI, G., ROCKL, W., BUSSOLINO, F. The angiogenesis induced by HIV-1 tat protein is mediated by the Flk-1/KDR receptor on vascular endothelial cells. **Nature Medicine**, **2**: 1371-5, 1996.
- ALCANTARA, J.L.C., SHINDO, N., VAN DOOREN, S., SALEMI, M., COSTA, M.C.R., KASHIMA, S., COVAS, D.T., VANDAMME, A.M., GALVÃO-CASTRO, B. Brazilian HTLV Type 2a Strains from Intravenous Drug Users (IDUs) Appear to Have Originated from Two Sources: Brazilian Amerindians and European/North American IDUs. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **19** (6): 519–523, 2003a.
- ALCANTARA, L.C. JR., VAN DOOREN, S., GONCALVES, 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. AND GALVAO-CASTRO, B. Globin haplotypes of human T-cell lymphotropic virus type I-infected individuals in

- Salvador, Bahia, Brazil, suggest a post-Columbian African origin of this virus. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **33 (4)**: 536-42, 2003b.
- AN, J., LICHTENSTEIN, A.K., BRENT, G., RETTING, M.B. The Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (SKHV) induces cellular interleukin 6 expression: role of the SKHV latency-associated nuclear antigen and AP1 response element. **Blood**, **99**: 649-54, 2002.
- AN, J., SUN, Y., SUN, R., RETTING, M.B. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus encoded vFLIP induces cellular IL-6 expression: the role of NF-kappa B and JNK/AP1 pathways. **Oncogene**, **22**: 3371-85, 2003.
- ANDO, Y., NAKANO, S., SAITO, K., SHIMAMOTO, I., ICHIJO, M., TOYAMA, T., HINUMA, Y. Transmission of adult T- Cell leukemia retrovirus (HTLV-1) from mother to child: Comparison of bottle-fed with breast-fed babies. **Japanese Journal of Cancer Research**, **78 (4)**: 322-24, 1987.
- ANDO, Y., MATSUMOTO, Y., NAKANO, S., SAITO, K., KAKIMOTO, K., TANIGAWA, T., EKUNI, Y., KAWA, M., TOYAMA, T. Long-term follow-up study of HTLV-1 infection in bottle-fed children born to seropositive mothers. **Journal of Infectious**, **46 (1)**: 9-11, 2003.
- ANDO, Y., MATSUMOTO, Y., 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. **The Journal of Infection**, **46 (3)**: 177-9, 2003.
- ANDRADA-SERPA, M.J., ARAUJO, A.Q., TAFFAREL, M., SCHOR, D., SCHEINER, M.A., FERREIRA, O., SCHATZMAYR, H.G. Detection and isolation of human T

- cell leukemia/lymphoma virus type I (HTLV-I) from cultured lymphocytes of Brazilian TSP/HAM patient. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, **28 (1)**: 51-7, 1995.
- ANIL, S., CHALLACOMBE, S.J. Oral lesions of HIV and AIDS: an overview. **Oral Diseases**, **3 (1)**: 36-40, 1997.
- ANON, A. Kaposi s' Sarcoma and pneumocystis, pneumonia among homosexual men- New york city and Califórnia. **Morbidity and Mortality Weekly Report, Atlant**, **30**: 305-308, 1981.
- ANTMAN, K. & CHANG, Y. Kaposi's sarcoma. **The New England Journal of medicine**, **Boston**, **342 (14)**: 1027-1038, 2000.
- ARANGO, C., RUGELES, M.T., CONCHA, M., BORRERO, I.I., LAI, H., LAI, S., BERNAL, C., BERNAL, E. Risk Factors for HTLV-I mother to child transmission: influence of genetic markers. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, **2 (3)**: 135-42, 1998.
- ARAÚJO, A.D.E.Q., ALFONSO, C.R., SCHOR, D., LEITE, A.C., DE ANDRADE-SERPA, M.J. Clinical and demographic features of HTLV-I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) in Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Neurologica Scandinavica**, **88 (1)**: 59-62, 1993.
- ARAÚJO, A.Q., LEITE, A.C., DUTRA, S.V., ANDRADE-SERPA, M.J. Progression of neurological disability in HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). **Journal of the Neurological Sciences**, **129 (2)**:147-51, 1995.

- ARAÚJO, A.Q. & DE ANDRADA-SERPA, M.J. HTLV-I associated myelopathy/ tropical spastic paraparesis in Brazil: a nationwide survey. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology**, **19(5)**: 536-541, 1998.
- ATKINSON, J., ELDIN, B.R., ENGELS, E.A., KRAL, A.H., SEAL, K., GAMACHE, C.J., WHITBY, D., O'BRIEN, T. R. . Seroprevalence of human herpesvirus 8 among injection drug users in San Francisco. **The Journal of Infectious Diseases**, **187**: 974-81, 2003.
- AYRES, M., AYRES JÚNIOR, M., AYRES, D.L. & SANTOS, A.A. **BioEstat 5.0: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências biológicas e Médicas**. Belém: Sociedade Civil Mamiraná, Brasília, CNPq. 2007.
- BALCAZAR, N., SANCHEZ, G. I., GARCIA-VALLEJO, F. Sequence and phylogenetic analysis of human T Cell lymphotropic virus type 1 from Tumaco, Colombia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **98 (5)**: 641-48, 2003.
- BARILLARI, G., SGADARI, C., FIORELLI, V., SAMANIEGO, F., COLOMBINI, S., MANZARI, V., MODESTI, A., NAIR, B.C., CAFARO, A., STURZL, M., ENSOLI, B. The Tat protein of human immunodeficiency virus type-1 promotes vascular cell growth and locomotion by engaging the alpha 5 beta 1 and alpha V beta 3 integrins and by mobilizing sequestered basic fibroblast growth factor. **Blood**, **94**: 663-72, 1999.
- BARMAK, K., HARHAJ, E., GRANT, C., ALEFANTIS, T., WIGDAHI, B. Human T cell leukemia virus Type I-induced disease: pathways to cancer and neurodegeneration. **Virology**, **308 (1)**: 1-12, 2003.
- BASSICHETTO, K.C., MESQUITA, F., ZACARO, C., SANTOS, E.A., OLIVEIRA, S.M., VERAS, M.A.S.M., BERGAMASCHI, D.P. Perfil epidemiológico dos usuários de

um Centro de Testagem e Aconselhamento para DST/HIV da Rede Municipal de São Paulo, com sorologia positiva para o HIV. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, 7:302-10, 2004.

BASTIAN, I., GARDNER, J., WEBB, D., GARDNER, I. Isolation of human T-lymphotropic virus type I strain from Australian aboriginals. **Journal of virology**, 67: 843-851, 1993.

BEILKE, M.A., JAPA S., VINSON, D.G. HTLV-I and HTLV-II virus expression increase with HIV-1 coinfection. **The Journal Of Acquired Immune Deficiency Syndromes And Human Retrovirology**, 17 (5):391-7, 1998.

BERAL, V., PETERMAN, T.A., BERKELMAN, R.L., JAFFE, H.W. Kaposi's Sarcoma among persons with AIDS: A sexually transmitted infection? **Lancet**, 335: 123-128, 1990.

BERNEMAN, Z.N., GARTENHAUS, R.B., REITZ, M.S., BLATTNER, W.A., MANNS, A., HANCHARD, B., IKEHARA, O., GALLO, R.C., KLOTMAN, M.E. Expression of alternatively spliced human T-lymphotropic virus type 1 pX mRNA in infected cell lines and in primary uncultured cells from patients with adult T-cell leukemia/lymphoma and healthy carriers. **Proceedings National Academy of Science of the U.S.A**, 89: 3005-3009, 1992.

BESSINGER, R.; BEILKE, M.; KISSINGER, P.; JARROTT, C. & TABAK, O.F. Retroviral coinfections at a New Orleans HIV outpatient clinic. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology**, 14: 67-71, 1997.

- BIGGAR, R.J, WHITBY, D., MARSHALL, V., LINHARES, A.C., BLACK, F. Human herpesvirus 8 in Brazilian Amerindians: a hyperendemic population with a new subtype. **Journal of Infectious Diseases**, **181(5)**:1562-1568. 2000.
- BIGLIONE, M., PIZARRO, M., DEVITO, C., GOMEZ, A., SEVERICH, I., MARTINEZ PERALTA, L. High prevalence of human T-cell leukaemia/lymphoma virus infection among blood-donors in Jujuy, northwest Argentina. In: **8th Eighth International Conference on Human Retrovirology: HTLV**; 1997 June 9-13; Rio de Janeiro, Brazil.
- BIGLIONE, M., PIZARRO, M., CRESPO, O., SEVERICH, I., MARTINEZ PERALTA, L., LIBONATTI, O., MERCEDES AVILA, M., ASTARLOA, L. High prevalence of human T-cell leukaemia/lymphoma virus infection in Argentinian blood donors: A new human T-cell leukaemia/lymphoma virus endemic area? **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Hum Retrovirology**, **20(1)**:101-2, 1999.
- BIGONI, B., DOLCELLI, R., DE LELLIS, L., CARBONE, A., BOLOCCHI, M., GASSAL, E. Human herpesvirus 8 is present in the lymphoid system of healthy persons and can reactivate in the course of AIDS. **Journal of Infectious Diseases**, **173**: 542-549, 1996.
- BISCOTTO, C.R., CARVALHO, C.A.R., SOUZA, D.M., LOPES, F.P., RODRIGUES, L.D.S., TEIXEIRA, M.A.F., SILVEIRA, M.F. Mudança de comportamento sexual após diagnóstico de vírus da imunodeficiência humana no Norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Clínica Médica**, **7**:225-227, 2009. (Biscotto *et al.*, 2009).
- BLACKBOURN, J. D., OSMOND, D., LEVY, J. A., LENNETTE, E. T., - Increased Human Herpesvirus 8 seroprevalence in Young Homosexual Men who Have multiple

- sex contacts with different partners. **Journal of Infectious Diseases**, **179**:237-239, 1999.
- BLATTNER, W.A., KALYANARAMAN, V.S., ROBERT-GUROFF, M., LISTER, T.A., GALTON, D.A., SARIN, P.S., CRAWFORD, M.H., CATOVSKY, D., GREAVES, M., GALLO, R.C. The human type-C retrovirus, HTLV, in Blacks from the Caribbean region, and relationship to adult T-cell leukemia/lymphoma. **International Journal of Câncer**, **30**: 257-64, 1982.
- BORGES, J. D. **Estudo epidemiológico da infecção por herpesvírus 8 humano (HHV-8) em população indígena da Amazônia brasileira**. Tese (Doutorado) – São Paulo, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brasil, 2009.
- BOWER, M., NELSON, M., YOUNG, A.M., THIRLWELL, C., NEWSOM-DAVIS, T., MANDALIA, S., DHILLON, T., HOLMES P., B.G., GAZZARD, B.G., AND STEBBING, J. Immune reconstitution inflammatory syndrome associated with Kaposi's sarcoma. **Journal of Clinical Oncology**, **23**: 5224-8, 2005.
- BRITES, C., HARRINGTON, J.R.W., PEDROSO, C., NETTO, E.M., BADARÓ, R. Epidemiological characteristics of HTLV-I and II coinfection in Brazilian subjects infected by HIV-1. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, **1**: 42-47, 1997.
- BRITES, C., GUSMAO, R.A., PEDROSO, C., NETTO, E.M., PEDRAL-SAMPAIO, D.B., BADARO, R. Co-infection with HTLV-1 is associated with a shorter survival time for HIV-1-infected patients in Bahia, Brazil. **AIDS**, **15 (15)**: 2053-5, 2001.
- BRITES, C., GOYANNA, F., FRANÇA, L.G., NETTO, E.M., PEDRAL-SAMPAIO, D., BADARÓ, R., HARRINGTON, J.R.W. Co-infection by HTLV-I/II increases the risk of strongyloidiasis and may lead to a delayed introduction of antiretroviral

therapy for HIV infected patients. **11th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI), February 8-11, CA (Abst. O-38), San Francisco, 2004.**

BUONAGURO, F.M., TORNESELLO, M.L., BETH-GIRALDO, E., HATZAKIS, A., MUELLER, N., DOWNING, R., BIRYAMWAHO, B., SEMPALA, S.D., GIRALDO, G. Herpesvirus-like DNA sequences detected in endemic, classic, iatrogenic and epidemic Kaposi's sarcoma (SK) biopsies. **International Journal of Cancer, 65:** 25-8, 1996.

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.

CANN, A. J., CHEN, I. S. Y. T-cell leukemia virus type I and II. In: **FIELDS Virology.** FIELDS, B.N., KNIPE, D.M. & HOWLEY, P.M.(eds). Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996, v. 2, p. 1849-80.

CANNON, M.J., DOLLARD, S.C., BLACK, J.B., EDLIN, B.R., HANNAH, C., HOGAN, S.E., PATEL, M.M., JAFFE, H.W., OFFERMANN, M.K., SPIRA, T.J., PELLETT, P.E., GUNTHER, C.J. Risk factors for Kaposi's sarcoma in men seropositive for both human herpesvirus 8 and human immunodeficiency virus. **AIDS, 17:** 215-22, 2003.

CANNON, M.J., LANEY, A.S., PELLETT, P. Human herpesvirus 8: current issues. **Clinical Infectious Diseases 37:** 82-87, 2003.

CARBONE, P.H. **Pesquisa de anticorpos dirigidos a antígenos de fase latente e lítica do herpesvírus humano tipo 8 (HHV-8): prevalência em populações sob risco**

- epidemiológico e em população sadia de São Paulo.** Dissertação (Mestrado) - São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 2002.
- CARIBBEAN EPIDEMIOLOGY CENTER. Public health implications of HTLV -1 in the Caribbean. **Weekly epidemiological record/ health section of the secretariat of the league of nations**, **65 (9)**: 63-65, 1990.
- CASOLI, C., VICENZI, E., CIMARELLI, A., MAGNANI, G., CIANCIANAINI, P., CATTANEO, E., DALL'AGLIO, P., POLI, G., BERTAZZONI, U. HTLV-II Down-regulates HIV-1 replication in IL-2-stimulated primary PBMC of coinfecting individuals through expression of MIP-1alpha. **Blood Journal**, **95 (9)**: 2760-9, 2000.
- CASSEB, J.; POSADA-VERGARA, M.P.; MONTANHEIRO, P.; FUKUMORI, L.M.I.; OLAH, I.; SMID, J.; DUARTE, A.J.S. & PENALVA DE OLIVEIRA, A.C. - T CD4+ cells count among patients co-infected with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1): high prevalence of tropical spastic paraparesis/HTLV-1- associated myelopathy (TSP/HAM). **Revista Instituto de Medicina tropical de São Paulo**, **49(4)**:231-233, 2007.
- CATALAN-SOARES, B.C., PROIETTI, F.A., CARNEIRO-PROIETTI, A.B.F. Os vírus linfotrópicos de células T humanos (HTLV) na última década (1990-2000): Aspectos epidemiológicos. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, **4 (2)**: 1415-790, 2001.
- CATALAN-SOARES, B., STANCIOLE, 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 área:

seroepidemiological, clinical and molecular study. **AIDS Research Human and Retroviruses**, **21**: 521-526, 2005.

CATERINO-DE-ARAUJO, A.; CASSEB, J.S.R.; NEITZERT, E., XAVIER DE SOUZA, M. L. , MAMMANO, F. , DEL MISTRO, A., DE ROSSI A., CHIECO-BIANCHI, L. HTLV-I and HTLV-II infections among HIV-1 seropositive patients in São Paulo, Brazil. **European Journal of Epidemiology**, **10**: 165-171, 1994.

CATERINO-DE-ARAUJO, A., CALABRÒ, M.L., FAVERO, A., SANTOS-FORTUNA, E., DEL MISTRO, A., ALAVES, V.A.F., CHIECO-BIANCHI, L. Detection of Herpes Virus (KSHV) DNA sequences in Brazilian patients with AIDS-associated Kaposi's sarcoma. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**. **1 (5)**: 256-259, 1997.

CATERINO-DE-ARAUJO, A., SANTOS-FORTUNA, E. L., MELEIRO, JAMAL SULEIMAN, M. C. Z., CALABRÒ, M. L., FAVERO, A., ROSSI, A., CHIECO-BIANCHI, L. - Sensitivity of two enzyme-linked immunosorbent assay tests in relation of Western Blot in detecting human T-cell lymphotropic virus types I and II infection among HIV-1 infected patients from São Paulo, Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, **30**: 173-182, 1998.

CATERINO-DE-ARAUJO, A. Human herpesvirus 8 group B and C variants circulating in São Paulo, Brazil. **The Journal of Infectious Diseases**. **177**:1136-1137, 1998.

CATERINO-DE-ARAUJO, A. Herpes vírus humano tipo 8 (HHV-8) e o sarcoma de Kaposi. **LAES & HAES**:72-84, 1999.

CATERINO-DE-ARAUJO, A., CALABRÒ, M.L., SANTOS-FORTUNA, E., SULEIMAN, J., CHIECO-BIANCHI, L. Searching for HHV-8 antibodies in serum

samples from patients infected with HIV1 and blood donors from São Paulo, Brazil.

The Journal of Infectious Diseases. **179**:1591-1592, 1999.

CATERINO-DE-ARAUJO, A., CARBONE, P.H.L., MARTINELLI, F.L.B., SANTOS-FORTUNA, E., MOREIRA, A.A., SULEIMAN, J., BARRA, L.A .C. Absence of an association between the presence of human herpesvirus 8 antibodies and the development of Kaposi's sarcoma in HIV-1-infected patients receiving anti-retroviral therapy. **AIDS** **14**:1-2, 2000.

CATERINO-DE-ARAUJO, A., SANTOS-FORTUNA, E., CARBONE, P.H.L., CIBELLA, S.E., MOREIRA, AA. Human herpesvirus 8 (HHV-8) antibodies among women from São Paulo, Brazil. Association with behavioral factors and Kaposi's sarcoma. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases.** **7 (6)**: 395-401, 2003.

CATERINO-DE-ARAUJO, A., & CIBELLA, SEL. Searching for antibodies to HHV-8 in children born to HIV-1 infected mothers from São Paulo, Brazil. Relationship to maternal infection. **Journal of Tropical Pediatrics.** **49 (4)**: 247-250, 2003.

CATERINO-DE-ARAUJO, A., COSTA, S.C., SANTOS-FORTUNA, E., BOA-SORTE, N.C., GONCALVES, M.S., COSTA, F.F., GALVAO-CASTRO, B. Increasing seroprevalence of human herpesvirus 8 (HHV-8) with age confirms HHV-8 endemicity in Amazon Amerindians from Brazil. **Journal of General Virology,** **86 (9)**:2433-2437. 2005.

CDC. Kaposi's sarcoma and Pneumocystis pneumonia among homosexual men — New York City and California. **Morbidity and Mortality Weekly Report,** **30 (25)**: 305–308, 1981.

- CESARMAN, E., CHANG, Y., MOORE, P.S., SAID, J.W., KNOWLES, D.M. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-related body cavity B-cell lymphomas. **The New England Journal of Medicine**, **332**:1186-91, 1995.
- CHANDRAN, B., SMITH, M., KOELLE, D., COREY, L., HORVAT, R., GOLDSTEIN, E. Reactivities of human sera with HHV-8 infected BCBL-1 cells and identification of HHV-8 specific proteins and the encoding c-DNAs. **Virology**, **243**: 208–217, 1998.
- CHANG, Y., CESARMAN, E., PESSIN, M.L., LEE, F., CULPEPPER, J., KNOWLES, D.M., MOORE, P.S. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. **Science**, **266**: 1865-1869, 1994.
- CHATLYNNE, L.G., LAPPS, W., HANDY, M., HUANG, Y.O., MASOOD, R., HAMILTON, A.S., SAID, J. W., KOEFFLER, H. P., KAPLAN, M. H., FRIEDMAN-KIEN, A., GILL, P. S., WHITMAN, J. E. & ABLASHI, D. V. Detection and titration of human herpesvirus- 8-specific antibodies in sera from blood donors, acquired immunodeficiency syndrome patients, and Kaposi's sarcoma patients using a whole virus enzyme-linked immunosorbent assay. **Blood**, **92**: 53-8,1998.
- CHATLYNNE, L.G., ABLASHI, D.V. Seroepidemiology of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (SKHV). **Seminars in Cancer Biology**, **9**: 175-85, 1999.
- CHAVANCE, M., NEISSON-VERNANT, C., QUIST, D., MONPLAISIR, N., ARMENGAUD, B., CHOUT, R.. HIV/HTLV-I coinfection and clinical grade at diagnosis. **Journal Of Acquired Immune Deficiency Syndromes And Human Retrovirology**, **8 (1)**: 91-5, 1995.

- 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.
- CIMINALE, V., PAVLAKIS, G.N., DERSE, D., CUNNINGHAM, C.P., FELBER, B.K. 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.
- CIOC, A.M., ALLEN, C., KALMAR, J.R., SUSTER, S., BAIOCCHI, R., NUOVO, G.J. Oral plasmablastic lymphomas in AIDS patients are associated with human herpesvirus 8. **The American Journal of Surgical Pathology**, **28**: 41-6, 2004.
- COHEN, E.A., TERWILLIGER, E.F., SODROSKI, J.G., HASELTINE, W.A. Identification of a protein encoded by the *vpu* gene of HIV-1. **Nature**, **334 (6182)**: 532–534, 1988.
- COLIN, D.D., ALCÂNTARA, L.C.J., SANTOS, F.L.N., UCHÔA, R., TAVARES-NETO, J. Prevalência da infecção pelo vírus linfotrópico humano de células T e fatores de risco associados à soropositividade em doadores de sangue da cidade de Rio Branco, AC, Brasil (1998-2001). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **36**:677-683, 2003.
- CORCHERO, J., MAC, E., SPIRA, T., PELLETT, P., INOUE, N. Comparison of serologic assays for detection of antibodies against HHV-8. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, **8**: 913–921, 2001.

- COREY, L., BRODIE, S., HUANG, M., KOELLE, D., WALD, A. HHV-8 infection: a model for reactivation and transmission. **Reviews in Medical Virology**, **12**: 47–63, 2002.
- COFFIN, J. M., Retroviridae. In: **Fundamental Virology**. Fields, B. N., Knipe, D. M., Howley, P. M., Chanock, R. M., Melnick J. L., Monath, T. P., Roizman, B. & Straus, S. E. (eds). Philadelphia: Lippincott Raven 1996. p. 763-843.
- COOK, P.M., WHITBY, D., CALABRO, M.L., LUPPI, M., KAKOOLA, D.N., HJALGRIM, H., ARIYOSHI, K., ENSOLI, B., DAVISON, A.J., SCHULZ, T.F. Variability and evolution of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in Europe and Africa. **AIDS**, **13**: 1165-1176, 1999.
- CORTES, E., DETEIS, R., ABOULAFIA, D., LI, XI LING., MOUDGIL, T., ALAM, M., BONECKER, C., GONZAGA, A., OYAFUSO, L., TONDO, M., BOITE, C., HAMMERSHLAK, N., CAPITANI, C., SLAMON, D. J., HO, D. D. HIV-1, HIV-2 And HTLV-I infection in high risk groups in Brazil. **The New England Journal of medicine**, **320 (15)**: 953-58, 1989.
- COSSEN, C., HAGENS, S., FUKUCHI, R., FORGHANI, B., GALLO, D., ASCHER, M. Comparison of six commercial human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) enzyme immunoassay kits for detection of antibodies to HTLV-I and HTLV-II. **Journal of Clinical Microbiology**, **30 (3)**: 724-5, 1992.
- CUNHA, A. M. G. **Soroprevalência e epidemiologia molecular do herpesvírus humano 8 (HHV-8) em populações brasileiras**. Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. Campinas, SP : [s.n.], 2005.

- CUNHA, A.M.G., CATERINO-DE-ARAUJO, A., COSTA, S.C.B., SANTOS-FORTUNA, E., BOA-SORTE, N.C.A., GONÇALVES, M.S., COSTA, F.F., GALVÃO-CASTRO, B. Increasing seroprevalence of Human herpesvirus 8 (HHV-8) with age confirms HHV-8 endemicity in Amazon Amerindians from Brazil. **Journal of General Virology**, **86 (9)**: 2433-2437, 2005.
- DAVIS, D.A., HUMPHREY, R.W., NEWCOMB, F.M., O'BRIEN, T.R., GOEDERT, J.J., STRAUS, S.E., YARCHOAN, R. Detection of serum antibodies to a Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-specific peptide. **The Journal of Infectious Diseases**, **175**: 1071-9, 1997.
- DELAPORTE, E., DUPONT, A., PEETERS, M., JOSSE, R., MERLIN, M., SCHRIJVERS, D., HAMONO, B., BEDJABAGA, L., CHERINGOU, H., BOYER, F. Epidemiology of human T-cell leukaemia/lymphoma virus type I in Gabon (Western Equatorial Africa). **International Journal of Cancer**, **42(5)**: 687-9, 1988.
- DELGADO, E., LEÓN-PONTE, M., VILLAHERMOSA M.L., CUEVAS M.T., DEIBIS, L., ECHEVERRÍA G, THOMSON MM, PÉREZ-ALVAREZ L, OSMANOV S, NÁJERA R. 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.
- DE PAOLI, PAOLI. Human herpesvirus 8: na update. **Microbes and Infection**, **6**: 328-335, 2004.
- DE-THE, G., BESTETTI, G., VAN BEVEREN, M., GESSAIN, A. Prevalence of human herpesvirus 8 infection before the acquired immunodeficiency disease syndrome-

- related epidemic of Kaposi's sarcoma in East Africa. **Journal of the National Cancer Institute**, **91**:1888-9, 1999.
- DHALIA, C., BARREIRA, D., CASTILHO, E.A. A AIDS no Brasil: situação atual e tendências. **Boletim Epidemiológico - AIDS XIII (1)**: 3-13, SE 48/99 a 22/00, 2000.
- DOMINGO, E., SABO, D., TANIGUCHI, T., WEISSMANN, C. Nucleotide sequence heterogeneity of an RNA phage population. **Cell**, **13 (4)**: 735-44, 1978.
- DOMINGO, E., BIEBRICHER, C.K., EIGEN, M., HOLLAND, J.J. Quasispecies and RNA Virus Evolution: Principles and Consequences. **Austin**: Landes Bioscience. 2001.
- DOUGAN, S., SMITH, R., TOSSWILL, J.C., DAVISON, K., ZUCKERMAN, M., TAYLOR, G.P. New Diagnoses of HTLV Infection in England and Wales: 2002-2004. **Eurosurveillance**, **10**: 10 - 12, 2005.
- DOURADO, I., ALCANTARA, L.C., BARRETO, M.L., TEIXEIRA, M.G., GALVÃO-CASTRO, B. HTLV-I in the general population of Salvador, Brazil: a city with African ethnic and sociodemographic characteristics. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes** **34**:527-531, 2003.
- DREW, W.L. Herpesvirus. In: **Microbiologia Médica**. Murray, P.R., Drew, W.L., Kobayashi, G.S., Thompson, J.H. (eds.). Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1992. p. 367-389.
- DUKERS, N.T., REZZA, G. Human herpesvirus 8 epidemiology: what we do and what we do not know. **AIDS**, **17**: 1717-1730, 2003.
- DUPIN, N., DISS, T.L., KELLAM, P., TULLIEZ, M., DU, M.Q., SICARD, D., WEISS, R.A., Isaacson, P.G., Boshoff C. HHV-8 is associated with a plasmablastic

- variant of Castleman disease that is linked to HHV-8 positive plasmablastic lymphoma. **Blood**, **95**:1406-12, 2000.
- EDLICH, R.F., ARNETTE, J.A., WILLIAMS, F.M. Global epidemic of human T-cell Lymphotropic virus type-I (HTLV-I). **Journal of Emergency Medicine** **18**:109-119, 2000.
- EIGEN, M., BIEBRICHER, C.K. **Sequence space and quasispecies distribution. RNA Genetics**, ed. E. Domingo, P. Ahlquist, and J.J. Holland. Vol. 3. 1988, Boca Raton: CRC Press. p. 211–245.
- EIRAKU, N.; NOVOA, P.; FERREIRA, M. C.; MONKEN, C.; ISHAK, R.; FERREIRA, O. C.; ZHU, S. W.; LORENCO, R.; ISHAK, M.; 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
- ENGELS, E.A., SINCLAIR, M.D., BIGGAR, R.J., WHITBY, D., EBBESEN, P., GOEDERT, J.J., GASTWIRTH, J.L. Latent class analysis of human herpesvirus 8 assay performance and infection prevalence in sub-saharan Africa and Malta. **International Journal of Cancer**, **88**: 1003-8, 2000.
- ENSOLI, B., SGADARI, C., BARILLARI, G., SIRIANNI, M., STURZL, M., MONINI, P. Biology of Kaposi's sarcoma. **European Journal of Cancer**, **37**: 1251–1269, 2001.
- EPSTEIN, J.B., CABAY, R.J., GLICK, M. Oral malignancies in HIV disease: changes in disease presentation, increasing understanding of molecular pathogenesis, and current

- management. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics**, **100**: 571-8, 2005.
- 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.
- FANG, C.T., WILLIAMS, E., SANDLER, S.G., American Red Cross HTLV/II Study Group. Seroprevalence and geographical determinants of anti- human T-cell leukaemia/lymphoma virus among blood donors in the United States. In: **3rd Annual Retrovirology Meeting**, Hawaii, 1990.
- FAUCI, A.S., LANE, H.C. Human immunodeficiency virus disease: AIDS and related disorders. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. **Harrison's principles of internal medicine. 16th ed. New York: McGraw- Hill**, p. 1076-139, 2005.
- FERREIRA, M.P.S., SILVA, C.M.F.P., GOMES, M.C.F., SILVA, S.M.B. Testagem sorológica para o HIV e a importância dos Centros de Testagem e Aconselhamento (CTA) – resultados de uma pesquisa no Município do Rio de Janeiro. **Ciência e Saúde Coletiva**, **6**:481-90, 2001.
- FERREIRA, W., SOUSA, **Journal of Microbiologia** – volume III. Lidel – edições técnicas, lda; Lisboa, Portugal, 2002.
- FERREIRA, S., SANABANI, S., REIS, A., CHAMONE, D.F., SABINO, E.C. Human herpesvirus 8 among Brazilian blood donors. **Transfusion Medicine**, **43**: 1764-1765, 2003.

- FIGUEROA, J.I., FULLER, L.C., ABRAHA, A., HAY, R.J. Dermatology in south-western Ethiopia: rationale for a community approach. **International Journal of Dermatology**, **37**: 752-8, 1998.
- FIORELLI, V., BARILLARI, G., TOSCHI, E., SGADARI, C., MONINI, P., STURZL, M., ENSOLI, B . IFN-gamma induces endothelial cells to proliferate and to invade the extracellular matrix in response to HIV-1 tat protein: implications for AIDS-Kaposi's sarcoma pathogenesis. **Journal of Immunology**, **162**: 1165-70, 1999.
- FLEMING, D.T. & WASSERHEIT, J.N. - From epidemiological synergy to public health policy and practice: the contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection. **Sexually Transmitted Infections**, **75**: 3-17, 1999.
- FOREMAN, K. E. Kaposi's sarcoma: the role of HHV-8 and HIV-1 in pathogenesis. **Expert Reviews in Molecular Medicine**. 2001.
- FONSECA, M.G., BASTOS, F.I., DERRICO, M., ANDRADE, C.L.T., TRAVASSOS, C., SZWARCOWALD, C.L. AIDS e grau de escolaridade no Brasil: evolução temporal de 1986 a 1996. **Caderno de Saúde Pública**, **16 (1)**: 77-87, 2000.
- FOUCHARD, N., LACOSTE, V., COUPLE, P., DEVELOUX, M., MAUCLERE, P., MICHEL, P., HERVE, V., PRADINAUD, R., BESTETTI, G., HUERRE, M., TEKAIA, F., DE THÉ, G. & GESSAIN, A. Detection and genetic polymorphism of human herpes virus type 8 in endemic or epidemic Kaposi's sarcoma from West and Central África, and South América. **International Journal of Cancer**, **85**:166-70, 2000.
- FRANCHINI, G. Molecular mechanisms of human T-cell leukemia/ lymphotropic virus type I infection. **Blood**, **86**: 3619–3639, 1995.

- FREITAS, R.B., FREITAS, M.R., LINHARES, A.C. Prevalence of human herpesvirus 8 antibodies in the population of Belem, Para, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, **44**: 309-313, 2002.
- FREZZINI, C., LEO, J.C., PORTER, S. Current trends of HIV disease of the mouth. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, **34**: 513-31, 2005.
- FUJINO, T., FUJIYOSHI, T., YASHIKI, S., SONODA, S., OTSUKA, H., NAGATA, Y. Human T-cell leukaemia/lymphoma virus type I transmission from mother to fetus via placenta. **Lancet**, **340 (8828)**:1157, 1992.
- FUJINO, T., NAGATA, Y. HTLV-1 transmission from mother to child. **Journal of Reproductive Immunology**, **47 (2)**: 197-206, 2000.
- FUJIYOSHI, T., LI, HC., LOU, H., YASHIKI, S., KARINO, S., ZANINOVIC, V., ONEEGLLO, S. G., CAMACHO, M., ANDRADE, R., HURTADO, L. V., GOMES, L. H., DAMIANI, E., CARTIER, L., DIPIERRI, J. E., HAYAMI, M., SONODA, S., 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**, **15 (14)**: 1235-39, 1999.
- FULLILOVE, R.E., FULLILOVE, M.T., BOWSER, B.P., GROSS, A.S. Risk of sexually transmitted disease among black adolescent crack users in Oakland and San Francisco, California. **Sexually Transmitted Diseases**, **263(6)**:851-55, 1990.
- FULLILOVE, M.T., GOLDEN, E., FULLILOVE, R.E., LENNON, R., PORTEFIELD, D., SCHWARCZ, S., BOLAN, G. Crack cocaine use and high-risk behaviors among sexually active black adolescents. **Journal of Adolescent Health** **14**:295-300, 1993.

- GAIDANO, G., PASTORE, C., GLOGHINI, A. Distribution of human herpesvirus-8 sequences throughout the spectrum of AIDS-related neoplasia. **AIDS**, **10**: 941-949, 1996.
- GALLO, R.C. The first human retrovirus. **Scientific American**. **255**: 88-98, 1986.
- GALVÃO-CASTRO, B., LOURES, L., RODRIGUES, L.G., SERENO, A., FERREIRA JUNIOR, O.C., FRANCO, L.G., MULLER, M., SAMPAIO, D.A., SANTANA, A., PASSOS, L.M., PROIETTI, F. Distribution of human T-lymphotropic virus type I among blood donors; a nationwide Brazilian study. **Transfusion** **1997**, **37(2)**:242-3.
- GAO, S.J., KINGSLEY, L., LI, M., ZHENG, W., PARRAVICINI, C., ZIEGLER, J., NEWTON, R., RINALDO, C.R., SAAH, A., PHAIR, J., DETELS, R., CHANG, Y., MOORE, P.S. SKHV antibodies among Americans, Italians and Ugandans with and without Kaposi's sarcoma. **Nature medicine**, **2(8)**: 925-8, 1996.
- GAMBUS, G., BOURBOULIA, D., ESTEVE, A., LAHOZ, R., RODRÍGUEZ, C., BOLAO, F., SIRERA, G., MUGA, R., DEL ROMERO, J., BOSHOFF, C., WHITBY, D., CASABONA, J. Prevalence and distribution of HHV-8 in different different subpopulations, with and without HIV infection, in Spain. **AIDS**, **15**: 1167-74, 2001.
- 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.
- GESSAIN, A., BARIN, F., VERNAT, J.C., GOUT, O., MAURS, L., CALENDER, A., DE THE, G. Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. **Lancet**, **2 (8452)**: 407-10, 1985.

- GESSAIN, A., MAHIEUX, R. Epidemiology, origin and genetic diversity of HTLV-I retroviruses and STLV-I simian affiliated retrovirus. **Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique**, **93 (3)**: 163-71, 2000.
- GESSAIN, A. **Rétrovirus HTLV-I et HTLV-II. Les infections nosocomiales virales et agents transmissibles non conventionnels**. Paris: John Libbey Eurotext ed; 2001. p. 83-95.
- GESSAIN, A. Rétrovirus humains HTLV-1 et HTLV-2. **EMC-Maladies infectieuses**, **1**: 203-220, 2004.
- GETACHEW, A., DEMISSIE, M., GEMECHU, T. Kaposi's sarcoma diagnosed in the Department of Pathology, Addis Ababa University Medical Faculty: a 15 years retrospective review of biopsy results 1981-1994. **Ethiopian Medical Journal**, **35**: 53-56, 1997.
- GILL, P.S., RARICK, M., ESPINA B, MACUTCHAN, J.A., SLATER, L., PARKER, B., MUCHMORE, E., BERNSTEIN-SINGER, M., AKIL, B., LEVINE, A. Systemic treatment of AIDS-related Kaposi's Sarcoma: results of randomized trial. **The American Journal of Medicine, New York**, **90**: 427-33, 1991.
- GOMES, P.S. **Avaliação as soroprevalência de herpesvírus humano 8 (HHV-8, vírus associado ao sarcoma de Kaposi) em doadores e receptores de transplante renal**. Dissertação (Mestrado) - São Paulo, Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina, 2003.
- GÓNGORA-BIACHI, R.A., LAL, R.B., RUDOLPH, D.L., CASTRO-SANSORES, C., GONZALAZ-MARTINEZ, P., PAVÍA-RUZ, N. Low prevalence of human T-cell leukaemia/lymphoma virus type I and type II in Mayan Indians in the Yucatán

- Península, México. In: **8th Eighth International Conference on Human Retrovirology: HTLV**; 1997 June 9-13; Rio de Janeiro, Brazil.
- GOODENOW, M., HUET, T., SAURIN, W., KWOK, S., SNINSKY, J., WAIN-HOBSON, S. HIV-1 isolates are rapidly evolving quasispecies: evidence for viral mixtures and preferred nucleotide substitutions. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **2**: 344-52, 1989.
- GOTO, K., SATO, K., KURITA, M., MASUHARA, N., IJIMA, Y., SAEKI, K., OHNO, S. The seroprevalence of human T-cell leukaemia/lymphoma virus type I in patients with ocular diseases, pregnant women and healthy volunteers in Kanto district, central Japan. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, **29**: 219-21, 1997.
- GOTUZZO, E., SANCHEZ, J., ESCAMILLA, J., CARRILLO, C., PHILLIPS, I., MOREYRA, L., STAMM, W., ASHLEY, R., ROGGEN, E., KREISS, J., PIOT, P., HOLMES, K. Human T-cell lymphotropic virus type 1 infection among female sex workers in Peru. **Journal of Infectious Diseases** **169** (4): 754-759, 1994.
- GOTUZZO, E., DE LÃS CASAS, C., DEZA, L., CABRERA, J., CASTANEDA, C., WATTS, D. Tropical spastic paraparesis and HTLV-I infection: clinical and epidemiological study in Lima, Peru. **Journal of the Neurological Sciences**, **143** (1-2): 114-17, 1996.
- GOTUZZO, E. Risk of transfusion. Transmitted human T- cell lymphotropic virus-type 1 in Latin America. **Int. Journal of Infectious Diseases**, **4** (2): 59-61, 2000.
- GOTUZZO, E., CABRERA, J., DEZA, L., VERDONCK, K., VANDAMME, A.M., CAIRAMPOMA, R., VIZCARRA, D., CABADA, M., NARVARTE, G., DE LAS

- CASAS, C. Clinical characteristics of patients in Peru with HTLV-I associated tropical spastic paraparesis. **Clinical Infectious Diseases**, **39 (7)**: 939-44, 2004.
- GOTTLIEB, M.S., SCHROFF, R., SCHANKER, H.M., WEISMAN, J.D., FAN, P.T., WOLF, R.A., SAXON, A. *Pneumocystis carinii* pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. **The New England Journal of Medicine** **305 (24)**: 1425–1431, 1981.
- GOUBAU, P. Aspectos controversos da infecção pelo HTLV. **Conferência apresentada no 5º Simpósio Internacional sobre HTLV**; 1998 Maio 27-30; Fortaleza Ceará].
- GRASSMANN, R., ABOUD, M., JEANG, K.T. Molecular mechanisms of cellular transformation by HTLV-1 Tax. **Oncogene**, **24**: 5976–5985, 2005.
- GREENBLAT, R.M & HESSOL, N.A. Epidemiology and natural history of HIV infection in women. *In*: Anderson J (ed) A guide to the clinical care of women with HIV. **Preliminary Edition, US Government Printing Office, Washington DC, p.1-33**, 2000.
- GROSSMAN, Z., ISCOVICH, J., SCHWARTZ, F., AZIZI, E., KLEPFISH, A., SCHATTNER, A., SARID, R. Absence of Kaposi sarcoma among Ethiopian immigrants to Israel despite high seroprevalence of human herpesvirus 8. **Mayo Clinic Proceedings**, **77**: 905-9, 2002.
- GUROFF, R.M., NAKAO, Y., NOTAKE, K., ITO, T., SLISKI, A., GALLO, R.C. Natural antibodies to human retrovirus *HTLV* in a cluster of Japanese patients with adult T-cell leukemia. **Science**, **215**: 975-978, 1982.

- GÜRTLER, L.G, HAUSER, P.H., EBERLE, J., VON BRUNN, A., KNAPP, S., ZEKENG, L., TSAGUE, J.M., KAPTUE, L. A new subtype of human immunodeficiency virus type 1 (MVP-5180) from Cameroon. **The Journal of Virology**, **68**:1581-5,1994.
- GUYADER, M., EMERMAN, M., SONIGO, P., CLAVEL, F., MONTAGNIER, L., ALIZON, M. Genome organization and transactivation of the human immunodeficiency virus type 2. **Nature** **326 (6114)**: 662–669, 1987.
- HAHN, B.H., SHAW, G.M., POPOVIC, M., LO MONICO, A., GALLO, R.C., WONG-STALL, F. Molecular cloning and analysis of a new variant of human T-cell leukemia virus (HTLV-Ib) from an Africa patient with adult T-cell leukemia. **International Journal of Cancer**, **34**: 613-618,1984.
- HALL, TA. **BioEdit**: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp Ser* 41: 95 – 98, 1999.
- HALL, W.W., 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. Human T cell lymphotropic virus type I and cutaneous T cell leukemia/lymphoma. **The Journal of Experimental Medicine**, **180 (5)**: 1581-5, 1994.
- HALL, W.W., KUBO, T., LIJICHI, S., TAKAHASHI, H., ZHU, S.W. Human T-cell leukemia/lymphoma virus, type II (HTLV-II): emergence of an important newly recognized pathogen. **Seminars in Virology**, **5**:165-78, 1994.
- HARIRI, S., MCKENNA, M.T. Epidemiology of human immunodeficiency virus in the United States. **Clinical Microbiology Reviews**, 20:478-488, 2007.

- HARRISON LH, QUINN TC, SCHECHTER M. Human T cell lymphotropic virus type I does not increase human immunodeficiency virus viral load in vivo. **The Journal of Infectious Diseases**, **175** (2): 438-40, 1997.
- HASE, T., KAWASHIRI, S., TANAKA, A., NAZAKI, S., NOGUCHI, N., KATO, K., NAKAYA, H., NAKAGAWA, K. Correlation of basic fibroblast growth factor expression with the invasion and the prognosis of oral squamous cell carcinoma. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, **35**: 136-9, 2006.
- HASHIMOTO, K., HIGUCHI, I., OSAME, M., IZUMO, S. Quantitative *in situ* PCR assay of HTLV-1 infected cells in peripheral blood lymphocytes of patients with ATL, HAM/TSP and asymptomatic carriers. **Journal of the Neurological Sciences**, **159** (1): 67-72, 1998.
- HAYWARD GS. KSHV strains: the origins and global spread of the virus. **Semin Cancer Biology**, **9**:187-199. 1999.
- HENDERSON, L.E., SOWDER, R.C., COPELAND, T.D., BENVENISTE, R.E., OROSZLAN, S. Isolation and characterization of a novel protein (X-ORF product) from SIV and HIV-2. **Science** **241** (4862): 199–201, 1988.
- HENGGE, U.R., RUZICKA, T., TYRING, S.K., STUSCHKE, M., ROGGENDORF, M., SCHWARTZ, R.A., SEEBER, S. Update on Kaposi's sarcoma and other HHV8 associated diseases. Part 1: Epidemiology, environmental predispositions, clinical manifestations and therapy. **The Lancet Infectious Diseases**, **2**: 281-92, 2002.
- HERSHOW, RC. An international collaborative study of the effects of coinfection with human T-lymphotropic virus type II on human immunodeficiency virus type 1 disease

- progression in injection drug users. **The Journal of Infectious Diseases**, **174** (2):309-17, 1996.
- HINUMA, Y., NAGATA, K., HANAOKA, M., NAKAI, M., MATSUMOTO, T., KINOSHITA, K.I., SHIRAKAWA, S., MIYOSHI, I. Adult T cell leukemia antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, **78** (10): 6476-6480, 1981.
- HIRATA, M., HAYASHI, J., NOGUCHI, A., NAKASHIMA, K., KAJIYAMA, W., KASHIWAGI, S., SAWADA, T. The effects of breastfeeding and presence of antibody to p40tax protein of human T-cell lymphotropic virus type-I on mother to child transmission. **International Journal of Epidemiology**, **21**: 989-94., 1992.
- HISADA, M., MALONEY, E.M., SAWADA, T., MILEY, W.J., PALMER, P., HANCHARD, B., GOEDERT, J.J., MANNS, A. Virus markers associated with vertical transmission of human lymphotropic virus type 1 in Jamaica. **Clinical Infectious Diseases**, **34** (12): 1551-57, 2002.
- 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 involves two prototype variants of virus. **The Journal of Infectious Diseases**, v. **168**, n. **3**, p. 737-40, 1993.
- HOLLSBERG, P., HAFLER, D. A. Pathogenesis of diseases induced by human lymphotropic virus type I infection. **The New England Journal of Medicine** **328** (16):1173-82, 1993.

- HOLLSBERG, P. Mechanisms of T-cell activation by human T-cell lymphotropic virus Type 1. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, **63 (2)**: 308-33, 1999.
- HU, C.Y., LIN, M.T., YANG, Y.C., TANG, J.L., TSENG, L.H., WANG, C.H., CHEN, Y.C., YANG, C.S. Familial Transmission of human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) in patients with adult T- Cell leukemia/ Lymphoma or HTLV-1 associated myelopathy. **Journal of the formosan Medical Associatian**, **97(2)**: 101-5, 1998.
- HUANG, Y.O., LI, J.J., ZHANG, W.G., FEINER, D., FRIEDMAN-KIEN, A.E. Transcription of human herpesvirus-like agent (HHV-8) in Kaposi's sarcoma. **The journal of Clinical Investigation**, **97**: 2803-6, 1996.
- HURTADO, L.V., GÓMEZ, L.H., ANDRADE, R. Human T-cell leukaemia/lymphoma virus infection and diseases in Bolivian population. In: **8th International Conference on Human Retrovirology: HTLV**. June 9-13; Rio de Janeiro, Brazil, 1997.
- IMAMURA, A. Studies on neurologenic bladder due to human T-lymphotropic virus type-I associated myelopathy (HAM). **Nippon Hynyokika Gakkai Zasshi**, **85 (7)**: 1106-1115, 1994.
- ISCOVICH, J., BOFFETTA, P., FRANCESCHI, S., AZIZI, E., SARID, R. Classic Kaposi sarcoma: epidemiology and risk factors. **Cancer**, **88**: 500-17, 2000.
- ISHAK, R., HARRINGTON Jr., W. J., AZEVEDO, V. N., EIRAKU, N., ISHAK, M. O. G., GUERREIRO, J. F., SANTOS, S. E. B., KUBO, T., MONKE, C., ALEXANDER, S. & HALL, W. W. Identification of human T-cell lymphotropic virus type IIa infection in the Kayapo, an indigenous population of Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **11**:813-821, 1995.

- ISHAK, R. VALLINOTO, A.C.R., AZEVEDO, V.N., LEWIS, M., HALL, W.W., ISHAK, M.O.G. Molecular Evidence of mother to child transmission of HTLV-IIc in the Kararao village in the Amazon Region of Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **35**: 519 – 525, 2001.
- ISHAK, R., VALLINOTO, A.C.R., AZEVEDO, V.N., ISHAK, M.O.G. Epidemiological aspects of retrovirus (HTLV) infection among Indian populations in the Amazon Region of Brazil. **Caderno de Saúde Pública**, **19 (4)**:901-914, 2003.
- ISHAK, R., MARTINS, R.N., MACHADO, L.F., VALLINOTO, A.C., LOBATO, L., SATÃ, T., ISHAK, M.O. The descriptive and molecular epidemiology of HHV-8 among population groups of the Amazon region of Brazil. **Journal of Infectious Diseases**, **9**: 436. 2005.
- IZUMO, S., GOTO, I., ITOYAMA, Y., OKAJIMA, T., WATANABE, S., KURODA, Y., ARAKI, S., MORI, M., NAGATAKI, S., MATSUKURA, S., AKAMINE, T., NAKAGAWA, M., YAMAMOTO, I., OSAME, M. Interferon-alpha is effective in HTLV-I-associated myelopathy: a multicenter, randomized double-blind, controlled trial. **Neurology**, **46**: 1016–1021, 1996.
- JAWETZ, E., MELNICK, J., ADELBERG, E. **Manual de Microbiologia Médica**. El Manual Moderno S. A.; México, 1973.
- JAWETZ, E. Herpesvirus. In: **Microbiologia Médica**. Jawetz, E., Melnick, J., Adelberg, E.A. (eds). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p.282-299.
- JACOBSON, L.P., JENKINS, F.J., SPRINGER, G., MUNOZ, A., SHAH, K.V., PHAIR, J., ZHANG, Z., ARMENIAN, H. Interaction of human immunodeficiency virus type

- 1 and human herpesvirus type 8 infections on the incidence of Kaposi's sarcoma. **The Journal of Infectious Diseases**, **181**: 1940-9, 2000.
- JUHÁSZ, A., REMENYIK, É., KÓNYA, J., VERESS, Gy., BÉGÁNY, Á., ANDIRKÓ, I., MEDGYESSY, I., HUNYADI, J., GERGELY, L. Prevalence and age distribution of human herpesvirus-8 specific antibodies in Hungarian blood donors. **The Journal of Medical Virology**, **64**: 526-30, 2001.
- KAJIYAMA, W., KASHIWAGI, S., IKEMATSU, H., HAYASHI, J., NOMURA, H., OKOCHI, K. Intrafamilial transmission of adult T-cell leukemia virus. **The Journal of Infectious Diseases**, **154**: 851-7, 1986.
- KAJUMBULA, H., WALLACE, R.G., ZONG, J.C., HOKELLO, J., SUSSMAN, N., SIMMS, S., ROCKWELL, R.F., POZOS, R., HAYWARD, G.S., BOTO, W. Ugandan Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus phylogeny: evidence for cross-ethnic transmission of viral subtypes. **Intervirology**, **49** (3):133-143. 2006.
- KALYANARAMAN, V.S., SARNGADHARAN, M.G., ROBERT-GUROFF, M., MIYOSHI, I., GOLDE, D., GALLO, R.C. A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II) associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia. **Science**, **218**: 571-573, 1982.
- KAPLAN, J.E., KHABBAZ, R.F., MURPHY, E.L., HERMANSEN, S., ROBERTS, C., LAL, R., HENEINE, W., WRIGHT D., MATIJAS, L., THOMSON, R., RUDOLPH, D., SWITZER, W.M., KLEINMAN, S., BUSCH, M., SCHREIBER, G.B. Male-to-female transmission of human T-cell lymphotropic virus types I and II: association with viral load. The Retrovirus Epidemiology Donor Study Group.

Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology

12: 193-201, 1996.

KAPOSI, M. Idiopathisches multiples Pigmentsarkom der Haut. **Archives of Dermatology and Syphilology (Prague)**, **4:**265-73, 1872.

KAPPES, J.C., MORROW, C.D., LEE, S.W., JAMESON, B.A., KENT, S.B., HOOD, L.E., SHAW, G.M., HAHN, B.H. Identification of a novel retroviral gene unique to human immunodeficiency virus type 2 and simian immunodeficiency virus SIVMAC. **The Journal of Virology**, **62 (9):** 3501–3505, 1988.

KASSA, E., DE WIT, T. F. R., HAILU, E., GIRMA, M., MESSELE, T., MARIAM, H.G., YOHANNES, S., JURRIAANS, S., YENENEH, H., COUTINHO, R. A., FONTANET, A. L. Evaluation of the world Health Organization staging system for HIV infection and disease in Ethiopia: association between clinical stages and laboratory markers. **AIDS**, **13:**381-9, 1999.

KATAMINE, S. Milk-Borne Transmission of human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1) and Its Intervention in Nagasaki. **Acta Medica Nagasakiensia**, **44:** 1-6, 1999.

KATANO, H., SATO, Y., KURATA, T., MORI, S., SATA, T. Expression and localization of human herpesvirus 8-encoded proteins in primary effusion lymphoma, Kaposi's sarcoma and multicentric Castleman's disease. **Virology**, **269:** 335-344, 2000b.

KAZANJI, M., DUSSART, P., DUPREZ, R., TORTEVOYE, P., POULIQUEN, J.F., VANDEKERKHOVE, J., COUPPIÉ, P., MORVAN, J., TALARMIN, A., GESSAIN, A. Serological and molecular evidence that human herpesvirus 8 is

- endemic among Amerindians in French Guiana. *J Infect Dis.* 2005;192(9):1525-1529.
- KAZANJI, M., DE-THÉ, G. Intérêt et faisabilité d'un vaccin contre l'onco-rétrovirus humain HTLV-I. *Virologie* **3**: 123–132, 1999.
- KEDES, D., OPERAISKI, E., BUSH, M., KHON, R., FLOOD, J., GANEM, D.E. The seroepidemiology of human herpesvirus 8 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus): distribution of infection in SK risk groups and evidence for sexual transmission. *Nature Medicine*, **2**: 918-24, 1996.
- KELLER, R., ZAGO, A., VIANA, M.C., BOURBOULIA, D., DESGRANGES, C., CASSEB, J., MOURA, W.V., DIETZE, R., COLLANDRE, H. *HHV-8* infection in patients with AIDS-related Kaposi's sarcoma in Brazil. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **34**: 879-886, 2001.
- KESTENS, L., MELBYE, M., BIGGAR, R.J. Endemic African Kaposi's Sarcoma is not associated with immunodeficiency. *International Journal of Cancer*, **36**: 49-54, 1985.
- KIDA, H., NAGAKAWA, M., IWASAKI, H., MORIOTOYO, T., KAWABATA, M., ARIMURA, K., OSAME, M. A case of rapidly progressive HTLV-I associated myelopathy (HAM). *Rinsho shinkeigaku*, **37 (9)**: 802-5, 1997.
- KIRA, J., FUJIHARA, K., ITOYAMA, Y., GOTO, I., HASUO, K. Leukoencephalopathy in HTLV-I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis: MRI analysis and a two-year follow-up study after corticosteroid therapy. *Journal of the Neurological Sciences*, **106**: 41–49, 1991B.

- KLEINE-NETO, W., SANABANI, S.S., JAMAL, L.F., SABINO, E.C. Prevalência, fatores de risco e caracterização genética dos vírus linfotrófico de células T humana tipo 1 e 2 em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 nas Cidades de Ribeirão Preto e São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **42(3):264-270, 2009.**
- KOELLE, D., HUANG, M., CHANDRAN, B., VIEIRA, J., PIEPKORN, M., COREY, L. Frequent detection of SK-associated herpesvirus DNA in saliva of HIV-infected men: clinical and immunological correlates. **Journal of Infectious Diseases**, **176**: 94–102, 1997.
- KOHAKURA, M., NAKADA, K., YONAHARA, M., KOMODA, H., IMAI, J., HINUMA, Y. Sercepidemiology of the human retrovirus (HTLV/ATLV) in Okinawa where adult T-cell leukemia is highly endemic. **Japanese Journal of Cancer Research: Gann**, **77 (1)**: 21-23, 1986.
- KOMURIAN-PRADEL, F., PELLOQUIN, F., SONODA, S., OSAME, M., DE THÉ, G. Geographical subtypes demonstrated by RFLP following PC R in the *LTR* region of HTLV-I. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **8(4)**: 429-434, 1992.
- KONDO, Y., IZUMI, T., YANAGA, T., KANDA, H., KATANO, H., SATA, T. Spontaneously regressed Kaposi's Sarcoma and Human Herpesvirus human 8 in a Human immunodeficiency virus-negative patient. **Pathology International, Tokio**, **50**: 340-346, 2000.
- KORALNIK, I.J., GESSAIN, A., KLOTMAN, M.E., LO, M.A., BERNEMAN, Z.N., FRANCHINI, G. Protein isoforms encoded by the pX region of human T-cell

- leukemia/lymphotropic virus type I. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, **89**: 8813–8817, 1992.
- KOURI, V., MARINI, A., DOROUDI, R., NAMBIAR, S., RODRIGUEZ, M.E., CAPO, V., RESIK, S., BLANCO, O., MARTÍNEZ, A., HENGGE, U.R. Molecular epidemiology of Kaposi's sarcoma herpesvirus (KSHV) in Cuban and German patients with Kaposi's sarcoma (KS) and asymptomatic sexual contacts . **Virology**, **337(2)**: 297-303, 2005.
- 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.
- KROWN, S.E., OLD, J.W., NIEDXWIECKI, D., BUNDOW, D., FLOMENBERG, N., GANSBACHER, B., BREW, B.J. Interferon alpha with zidovudine: safety, tolerance, and clinical virologic effects in patients with Kaposi Sarcoma associated with AIDS. **Annals of Internal Medicine**, **12**: 812-821, 1997.
- KURODA, Y., FUJIYAMA, F., NAGUMO, F. Analysis of factors of relevance to rapid clinical progression in HTLV-I-associated myelopathy. **Journal of the Neurological Sciences**, **105 (1)**: 61-66, 1991.
- LAGER, I., ALTINI, M., COLEMAN, H., ALI, H. Oral Kaposi's sarcoma: a clinicopathologic study from South Africa. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics**, **96**: 701-10, 2003.
- LARSEN, O., ANDERSSON, S., DA SILVA, Z., HEDEGAARD, K., SANDSTROM, A., NAUCLER, A., DIAS, F., MELBYE M, AABY, P. Prevalences of HTLV-1 infection and associated risk determinants in an urban population in Guinea-Bissau,

- West Africa. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **25**:157-163, 2000.
- LARSON, C., TASWELL, H. Hum T-Cell leukemia virus (HTLV-1) and blood transfusion. **Mayo Clinic Proceedings** ., **63 (9)**: 869-75, 1988.
- LAURENTINO, R.V.; LOPES IG, AZEVEDO, V.N.; MACHADO, L.F.A.; MOREIRA, M.R.C.; LOBATO, L.; ISHAK, M.O.G.; ISHAK, R.; VALLINOTO, A.C.R. Molecular characterization of human T-cell lymphotropic virus coinfecting human immunodeficiencyvirus 1 infected patients in the Amazon region of Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **100**: 371-376. 2005.
- LAWSON, V.A. Visualisation of phenotypically mixed HIV and HTLV-I virus particles by electron microscopy. **Journal of Biomedical Science**, **7 (2)**:71-4, 2000.
- LEIDNER, R.S., ABOULAFIA, D.M. Recrudescence Kaposi's sarcoma after initiation of HAART: a manifestation of immune reconstitution syndrome. **AIDS Patient Care STDS**, **19**: 635-44, 2005.
- LENNETTE, E.T., BLACKBOURNE, D.J., LEVY, J.A. Antibodies to human herpesvirus type 8 in the general population and in Kaposi's sarcoma patients. **Lancet**, **348**: 858-61, 1996.
- LI, H.C., FUJIYOSHI, T., LOU, H., YASHIKI, S., SONODA, S., CARTIER, L., NUNEZ, L., MUNOZ, I., HORAI, S., TAJIMA, K. The presence of ancient human T-cell lymphotropic virus type I provirus DNA in an Andean mummy. **Nature Medicine**, **5 (12)**: 1428-32, 1999.
- LIITSOLA, K., HOLM, K., BOBKOV, A., POKROVSKY, V., SMOLSKAJA, T., LEINIKKI, P., OSMANOV, S., SALMINEN, M. An AB recombinant and its

- parental HIV type 1 strains in the area of the former Soviet Union: low requirements for sequence identity in recombination. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **16**:1047-53, 2000.
- LINDTJORN, B. Cancer in southern Ethiopia. **Journal of tropical Medicine Hygiene**, **90**: 752-8, 1987.
- LIU, S.-L., MITTLER, J. E., NICKLE, D. C., MULVANIA, T. M., SHRINER, D., RODRIGO, A. G., KOSLOFF, B., HE, X., COREY, L. AND MULLINS, J. I. Selection for human immunodeficiency virus type 1 recombinants in a patient with rapid progression to AIDS. **The Journal of Virology**, **76 (21)**: 10674-8, 2002.
- LOREIRO, P. Infecção pelo HTLV-1: diagnóstico e determinação da carga proviral em indivíduos assintomáticos e com enfermidades associadas em serviço de referência no Nordeste. **Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães Fundação Oswaldo Cruz, Recife**: 172 f, 2008.
- LUCIW, P.A. Human immunodeficiency viruses and their replication. In: **Fundamental Virology**. FIELDS, B.N., KNIPE, D.M., KOWLEY, P.M. (eds). Lippincott Raven, Philadelphia, 1996. p. 845-916.
- LUPI, O., AVELLEIRA, J.C.R. Infecção pelo Herpesvírus-8. In: **Herpes – Clínica, Diagnóstico e Tratamento**. LUPI, O., SILVA, A.G., PEREIRA Jr, A.C. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 2000. p. 1-4; 203-218.
- MACKENBACH, J.P., KUNST, A.E., CAVELAARS, A.E.J.M., GRONHOF, F., GEURTS, J.J.M. The EU Working Group on Socioeconomic Inequalities in Health. Socioeconomic inequalities in morbidity and mortality in western Europe. **Lancet** **349**:1655-9, 1997.

- MADIGAN, M., MARTINKO, J., PARKER, J. Brock – **Biology of Microorganisms** (9th edition). Prentice Hall; New Jersey, USA, 2000.
- 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 Pygmies. **Journal of Virology**, **71**: 1317-1333, 1997.
- MANEL, N., KIM, F.J., KINET, S., TAYLOR, N., SITBON, M., BATTINI, J.L. The ubiquitous, glucose transporter GLUT-1 is a receptor for HTLV. **Cell**, **115**: 449-459, 2003.
- MANI, K.S., MANI, A.J., MONTGOMERY, R.D. A spastic paraplegic syndrome in South India. **Journal of the Neurological Sciences**, **9** (1): 179-99, 1969.
- MANNS, A., HISADA, M., LA GRENADE, L. Human T-lymphotropic virus type I infection. **Lancet**, **353** (9168): 1951-58, 1999.
- MARRIOTT, S.J., SEMMES, O.J. Impact of HTLV-I Tax on cell cycle progression and the cellular DNA damage repair response. **Oncogene**, **24**: 5986–5995, 2005.
- MARTIN, J.N., GANEM, D.E., OSMOND, D.H., PAGE-SHAFFER, K.A., MACRAE, D., KEDES, D.H. Sexual transmission and the natural history of human herpesvirus 8 infection. **The New England Journal of Medicine**, **338**: 948-54, 1998.
- MARTINS, R. N. **Epidemiologia descritiva da infecção pelo herpesvírus humano 8 (HHV-8) entre populações indígenas da Amazônia brasileira e da co-infecção HHV-8/HIV-1 entre pacientes soropositivos e/ou com SIDA/AIDS em Belém,**

- Pará, Brasil.** Dissertação (Mestrado) - Belém, Universidade Federal do Pará, UFPA, Brasil, 2004.
- MASUR, H., MICHELIS, M.A., GREENE, J.B., ONORATO, I., STOUWE, R.A., HOLZMAN, R.S., WORMSER, G., BRETTMAN, L., LANGE, M. , MURRAY, H.W., CUNNINGHAM-RUNDLES, S. An outbreak of community-acquired *Pneumocystis carinii* pneumonia: initial manifestation of cellular immune dysfunction. **The New England Journal of Medicine** **305 (24)**: 1431–1438, 1981.
- MATSUO, H., NAKAMURA, T., TSUJIHATA, M., KINOSHITA, I., SATOH, A., TOMITA, I., SHIRABE, S., SHIBAYAMA, K., NAGATAKI, S. Plasmapheresis in treatment of human T-lymphotropic virus type I associated myelopathy. **Lancet**, **2**: 1109–1113, 1988.
- MEANS, RE., CHOI., J.K., NAKAMURA, H., CHUNG, Y.H., ISHIDO, S., JUNG, J.U. Immune evasion strategies of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, **269**: 187-201, 2002.
- MELONI, S.T.; SANKALÉ, J-L.; HAMEL, D.J.; EISEN, G.; GUÉYE-NDIAYE, A.; 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**, **78(22)**:12455-61. 2004.
- MENENDEZ-ARIAS, L. Molecular basis of fidelity of DNA synthesis and nucleotide specificity of retroviral reverse transcriptases. **Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology**, **71**: 91-147, 2002.
- MENTEN, P., WUYTS, A., VAN DAMME, J. Macrophage inflammatory protein-1 Cytokine Growth Factor. **Review**, **13**:455-81, 2002.

- MEYERHANS, A., CHEYNIER, R., ALBERT, J., SETH, M., KWOK, S., SNINSKY, J., MORFELDT-MANSON, L., ASJO, B., WAIN-HOBSON, S. Temporal fluctuations in HIV quasispecies in vivo are not reflected by sequential HIV isolations. **Cell**, **58** (5): 901-10, 1989.
- MICHAEL, B., NAIR, A., LAIRMORE, M.D. Role of accessory proteins of HTLV-1 in viral replication, T cell activation, and cellular gene expression. **Frontiers in Bioscience**, **9**: 2556–2576, 2004.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de Manejo Clínico do Paciente com HTLV**. Série A, n.º 3, Normas e Manuais Técnicos, 2004.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico AIDS, 2009**. - versão preliminar. Data de Publicação 26/11/09. Disponível em: <http://www.aids.gov.br> Acessado em: 08/02/2010.
- MIURA, T., FUKUNAGA, T., IGARASHI, T., YAMASHITA, M., IDO, E., FUNAHASHI, S., ISHIDA, T., WASHIO, K., UEDA, S., HASHIMOTO, K., YOSHIDA, M., OSAME, M., SINGHAL, B., ZANINOVIC, 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 anthropological background. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, **91**:1124-1127, 1994.
- MONINI, P., LELLIS, L., FABRIS, M., RIGOLIN, F., CASSAI, E. – Kaposi’s Sarcoma – Associated herpesvirus DNA sequences in prostate tissue and human semen.- **The New England Journal of Medicine**, **334** (18):1168-72, 1996.

- MONTANER, S., SODHI, A., SERVITJA, J.M., RAMSDELL, A.K., BARAC, A., SAWAI, E.T., GUTKIND, J.S. The small GTPase Rac 1 links the Kaposi sarcoma-associated herpesvirus vGPCR to cytokine secretion and paracrine neoplasia. **Blood**, **104**: 2903-11, 2004.
- MONTANO, S.M., ZUNT, J.R., RODRIGUEZ, L., QUISPE, I., RODRIGUEZ, C., ALTAMIRANO, J., BAUTISTA, C. T., ALARCÓN, J. O. V., LONGSTRETH, W. T., JR., HOLMES, K. K. Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 Infection and Early Neurological Development: A Pilot Study of 48 Children. **Clinical Infectious Diseases**, **39 (7)**: 1079-82, 2004.
- MOORE P. The emergence of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8). **The New England Journal of Medicine**, **343**:1411-3, 2000.
- MOORE, P.S., CHANG, Y. Detection of herpesvirus-like DNA sequences in Kaposi's sarcoma in patients with and without HIV infection. **The New England Journal of Medicine**, **332**: 1181-1185, 1995.
- MOORE, P.S., KINGSLEY, L.A., HOLMBERG, S.D., SPIRA, T., GUTPA, P., HOOVER, D.R., PARRY, J.P., CONLEY, L.J., JAFFE, H.W., CHANG, Y. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection prior to the onset of Kaposi's sarcoma. **AIDS**, **10**: 175-80, 1996.
- MOREIRA, A.A. **Pesquisa de sítios de restrição enzimática em segmento da ORF K1 do genoma de herpesvírus humano tipo 8 (HHV-8) em isolados clínicos de São Paulo: relação com subtipos virais e implantação da técnica de RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism Analyses) para determinar**

- subtipos virais.** Dissertação (Mestrado) - São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 2003.
- MORIMOTO, H. K., CATERINO-DE-ARAUJO, A., MORIMOTO, A. A., REICHE, E. M. V., UEDA, L. T., MATSUO, T., STEGMANN, J. W., REICHE, F. Soroprevalence and risk factors for human T cell Lymphotropic Virus Type 1 and 2 infection in Human Immunodeficiency Virus- Infected patients attending AIDS Referral Center Health Units in Londrina and others Communities in Paraná, Brazil. **AIDS research and Human retroviruses**, **21(4)**: 256-262, 2005.
- MORIUCHI H., MORIUCHI M., FAUCI AS. Factors secreted by human t lymphotropic virus type I (HTLV-I)- infected cells can enhance or inhibit replication of HIV-1 in HTLV-I uninfected cells: implication for in vivo coinfection with HTLV-I and HIV-1. **The Journal of Experimental Medicine**, **187 (10)**:1689-97, 1998.
- MOTA, A., NUNES, C., MELO, A., ROMEO, M., BOASORTE, N., DOURADO, I., ALCÂNTARA, L.C., GALVÃO-CASTRO, B. A case-control study of HTLV-infection among blood donors in Salvador, Bahia, Brazil – Associated risk factors and trend towards declining prevalence. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia** **28**: 120-126, 2006.
- MUELLER, N., OKAYAMA, A., STUVER, S., TACHIBANA, N. Findings from the Miyazaki cohort study. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology**, **13 (Suppl 1)**: 2–7, 1996.
- MULLER, H.J. The Relation of Recombination to Mutational Advance. **Mutation Research**, **106**: 2-9, 1964.

- MURPHY, E.L, FIGUEROA, J.P., GIBBS, W.N., BRATHWAITE, A., HOLDING-COBHAM, M., WATERS, D., CRANSTON, B., HANCHARD, B., BLATTNER, W.A. Sexual transmission of human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I). **Annals of Internal Medicine**, **111**: 555-60, 1989.
- MURPHY, E.L., FIGUEROA, J.P., GIBBS, W.N., HOLDING-COBHAM, M., CRANSTON, B., MALLEY, K., BODNER, A.J., ALEXANDER, S.S., BLATTNER, W.A. Human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) seroprevalence in Jamaica. I - Demographic determinants. **American Journal of Epidemiology**, **133**: 1114-24, 1991.
- MURPHY, F. A. , FAUQUET, C. M., BISHOP, D. H. L., GHABRIAL, S. A., JARVIS, A. W., MARTELLI, G. P., MAYO, M. A. & SUMMERS, M. D. (EDITORS). **Virus Taxonomy: Six report of the International Committee on the Taxonomy of viruses**. Vienna & Nueva York: Springer Verlag, 1995.
- MURPHY, E. L. The clinical epidemiology of human T-lymphotropic virus type II (HTLV-II). **The Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes Human Retrovirology**, **13 (1)**: 215-9, 1996.
- MURPHY, E.L., WILSK, R., HANCHARD, B., CRANSTON, B., FIGUEROA, J.P., GIBBS, W.N., MURPHY, J., BLATTNER, W.A. A case-control study of risk factors for seropositivity to human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) in Jamaica. **International Journal of Epidemiology**, **25 (5)**: 1083-89, 1996.
- MURPHY, E.L., FRIDEY, J., SMITH, J.W., ENGSTRON, J., SACHER, R.A., MILLER, K., GIBBLE, J., STEVENS, J., THOMSON, R., HANSMA, D., KAPLAN, J., KHABBAZ, R., NEMO, G. HTLV-associated myelopathy in a cohort of HTLV-I and

- HTLV-II-infected blood donors. The REDS investigators. **Neurology**, **48 (2)**: 315-20, 1997.
- MURPHY, E.L.; GLYNN, S.A., FRIDEY, J. SMITH, J.W., SACHER, R.A., NASS, C.C., OWNBY, H.E., WRIGHT, D.J., NEMO, G.J. Increased Incidence of infectious diseases during prospective follow-up of human T-lymphotropic virus type II and I - infected blood donors. **Archives of Internal Medicine** **159**: 1485-91,1999.
- NADOR, R.G., CESARMAN, E., CHADBURN, A., DAWSON, D.B., ANSARI, M.Q., SAID, J.W., KNOWLES, D.M. Primary effusion lymphoma: a distinct clinicopathologic entity associated with the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. **Blood**, **88**: 645-656, 1996.
- NAKAGAWA, M., IZUMO, S., IJICHI, S., KUBOTA, H., ARIMURA, K., KAWABATA, M., OSAME, M. HTLV-I associated myelopathy: analysis of 213 patients based on clinical features and laboratory findings. **Journal of Neurovirology**, **1 (1)**: 60-61, 1995.
- NAKAGAWA, M., NAGAKAHARA, K., MARUYAMA, Y., KAWABATA, M., HIGUCHI, I., KUBOTA, H., IZUMO, S., ARIMURA, K., OSAME, M. Therapeutic trials in 200 patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **Journal of Neurovirology**, **2 (5)**: 345-55, 1996.
- NASCIMENTO, M.C., WILDER, N., PANNUTI, C. S., WEISS, H. A., MAYAUD, P. Molecular characterization of Kaposi's sarcoma associated herpesvirus (KSHV) from patients with AIDS-associated Kaposi's sarcoma in São Paulo, Brazil. *Journal of Clinical Virology* **33**: 52-59, 2005

- NEIPEL, F., ALBRECHT, J., FLECKENSTEIN, B. HHV-8—the first human Rhadinovirus. **Journal of the National Cancer Institute Monographs**, **23**: 73–77, 1998.
- NERURKAR, V.R., SONG, K.J., SAITOU, N., MELLAND, R.R., YANAGIHARA, R. Interfamilial and intrafamilial genomic diversity and molecular phylogeny of human T-cell lymphotropic virus type 1 Papua New Guinea and the Solomom Islands. **Virology**, **196 (2)**: 506-13, 1993.
- NETO, J.F.R., LIMA, L.S., ROCHA, L.F., LIMA, J.S., SANTANA, K.R., SILVEIRA, M.F. Perfil de adultos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) em ambulatório de referência em doenças sexualmente transmissíveis no norte de Minas Gerais. **Revista Médica de Minas Gerais**, **20(1)**: 22-29, 2010.
- NITTAYANATA, W., JEALAE, S., CHUNG-PANISH, S. Oral lesions in Thai heterosexual AIDS patients: a preliminary study. **British Dental Journal**, **182**: 219-21, 1997.
- NOVOA, P., GRANATO, G.F.H., BARUZZI, R.G., HALL, W.W. Evidence for and the rate of mother-to-child transmission of human T-cell leukaemia/lymphoma virus type II among Kaiapo Indians, Brazil. In: **8th International Conference on Human Retrovirology: HTLV**; 1997 June 9-13; Rio de Janeiro, Brazil.
- NUPAIDS. Dados estatísticos do estudo na FEBEM Feminina e Masculina. São Paulo: **Núcleo de Apoio e Prevenção a Aids**, 1992.
- NYAMBI, P. N., VILLE, Y., LOUWAGIE, J., BEDJABAGA, I., GLOWACZOWER, E., PEETERS, M., KEROUEDAN, D., DAZZA, M., LAROUZE, B., VAN DER GROEN, G., DELAPORTE, E. Mother-to-child transmission of human T-cell

- lymphotropic virus types I and II (HTLV-I/II) in Gabon: a prospective follow-up of four years. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology**, **12 (2)**: 187-92, 1996.
- O'BRIEN, T.R., KEDES, D., GANEM, D., MACRAE, D.R., ROSENBERG, P.S., MOLDEN, J., GOEDERT, J.J. Evidence for concurrent epidemics of human herpesvirus 8 and human immunodeficiency virus type 1 in US homosexual men: rates, risk factors and relationship to Kaposi's sarcoma. **The Journal of Infectious Diseases**, **180 (4)**: 1010-7, 1999.
- O'GARRA, A. Cytokines induce the development of functionally heterogeneous T helper cell subsets. **Immunity**, **8**:275-83, 1998.
- OKOCHI, K., SATO, H., HINUMIA, Y. A retrospective study on transmission of adult T-cell leukemia virus via blood transfusion Seroconversion in recipients. **Vox Sanguinis**, **46 (5)**: 245-53, 1984.
- OKSENHENDLER, E., DUARTE, M., SOULIER, J., CACOUB, P., WELKER, W., CADRANEL, J., CAZALS, H.D., AUTRAN, B., CLAUVEL, J.P., RAPHAEL, M. Multicentric Castleman's disease in HIV infection: a clinical and pathological study of 20 patients. **AIDS**, **10**: 61-67, 1996.
- OKSENHENDLER, E., CARCELAIN, G., AOKI, Y. High levels of human herpesvirus 8 viral load, human interleukin 6, interleukin 10 and c-reactive protein correlate with exacerbation of multicentric Castleman's disease in HIV-infected patients. **Blood**, **96**: 2069-2073, 2000.

- OLSEN, S.J., CHANG, Y., MOORE, P.S., BIGGAR, R.J., MELBYE, M. Increasing Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus seroprevalence with age in a highly Kaposi's sarcoma endemic region, Zambia in 1985. **AIDS**, **12**: 1921-5, 1998.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Scientific Group on HTLV-I infections and Associated Diseases: Report Manila, Philippines. **The office**, pp 17-18, 1989.
- OSAME, M., NAKAGAWA, M., UMEHARA, F., IJICHI, S., MORITOYO, T., HIGUCHI, I., USUKU K, ARIMURA K, IZUMO S. Recent studies on the epidemiology, clinical features and pathogenic mechanisms of HTLV-I associated myelopathy (HAM-TSP) and other diseases associated to HTLV. **Journal of Neurovirology**, **3** : S50-51, 1997.
- OSMANOV, S., PATTOU, C., WALTER, N., SCHWARTÄNDER, B., ESPARZA, J. WHO-UNAIDS Network for HIV Isolation and Characterization. Estimated global distribution and regional spread of HIV-1 genetic subtypes in the year 2000. **The Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **29**:184-90, 2002.
- PAIVA, V., LATORRE, M.R., GRAVATO, N., LACERDA, R. Sexualidade de mulheres vivendo com HIV/AIDS em São Paulo. **Caderno de Saúde Pública**, **18**:1609-20, 2002.
- PAIVA, V., VENTURI, G., FRANÇA-JUNIOR I, LOPES F. **Uso de preservativos: Pesquisa Nacional MS/Ibope, Brasil 2003** [monografia na Internet]. Brasília: MS. Disponível em: <http://www.aids.gov.br>.
- PANCAKE, B.A., ZUCKER, F.D., MARMOR, M., LEGLER, P.M. Determination of the true prevalence of infection with the human T-cell lymphotropic viruses (HTLV-I/II)

- may require a combination of biomelecular and serological analyses. **Proceedings of the Association of American Physicians, 108:** 444-8, 1996;
- PAPA, A.; PAPADIMITRIOU, E.; PAPOUTSI, A.; KIOSSES, V.; ANTONIADIS, A. HIV-1 subtypes and circulating recombinant forms (CRFs) in Northern Greece. **Virus Research, 85(1):**85-93, 2002.
- PAPPAS, G., QUEEN, S., HADDEN, W., FISHER, G. The increasing disparity in mortality between socioeconomic groups in the United States, 1960 and 1986. **The New England Journal of Medicine 329:**103-8, 1993.
- PARRAVICINI, C., OLSEIN, S.J, CAPRA, M., POLI, F., SIRCHIA, G., GAO, S-J., BERTI, E. NOCEGA, A., ROSSI, E., BESTETTI, G. PIZZUTO, M., GALLI, M., MORONI, M., MOORE, P.S., CORBELLINO, M. Risk of Kaposi's Sarcoma-associated Herpesvirus transmission from donor allografts among Italian posttransplant Kaposi s' Sarcoma patients. **Blood, Washington- D.C, 90 (7):** 2826-2829, 1997.
- PAUK, J., HUANG, M.L., BRODIE, S.J., WALD, A., KOELLE, D.M., SCHACKER, T., CELUM, C., SELKE, S., COREY, L. Mucosal shedding of human herpesvirus 8 in men. **The New England Journal of Medicine, 343:** 1369-1377, 2000.
- PECHANSKY, F., VON DIEMEN, L., KESSLER, F., DE BONI, R., SURRAT, H., INCIARDI, J. Preditores de soropositividade para HIV em indivíduos não abusadores de drogas que buscam centros de testagem e aconselhamento de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Caderno de Saúde Pública, 21:**266-74, 2005.
- PEREZ, C., TOUS, M., GALLEGO, S., ZALA, N., RABINOVICH, O., GARBIERO, S., MARTINEZ, M.J., CUNHA, A.M., CAMINO, S., CAMARA, A., COSTA, S.C.,

- LARRONDO, M., FRANCALANCIA, V., LANDREAU, F., BARTOMIOLI, M.A. Seroprevalence of human herpesvirus-8 in blood donors from different geographical regions of Argentina, Brazil and Chile. **Journal of Medical Virology**, **72**: 661-667, 2004.
- PETERMAN, T.A., JAFFO, H.W., FRIEDMAN-KIEN, A.E. The aetiology of Karposi's Sarcoma. **Cancer Survey**, **10**: 23-37, 1991.
- PHAIR, J.; JACOBSON, L.; DETELS, R. RINALDO, C; SAAH, A; SCHRAGER, L; MUNOZ, A. Acquired immune deficiency syndrome occurring within 5 years of infection with human immunodeficiency virus type-1: the Multicenter AIDS Cohort Study. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndrome**, **5**: 490-496, 1992.
- PIERROTTI, L.C. **Estudo da prevalência e fatores de risco para a infecção pelo herpesvírus humano 8 (HHV-8) em pacientes com HIV/AIDS do Município de Santos, Estado de São Paulo**. Dissertação (Mestrado) -. São Paulo, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2000.
- PISE-MASISON, C.A., MAHIEUX, R., RADONOVICH, M., JIANG, H., DUVALL, J., GUILLERM, C., BRADY, J. N. Insight into the molecular mechanism of p53 inhibition by HTLV type 1 Tax. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **16 (16)**: 1669-75, 2000.
- PISE-MASISON, C.A., JEONG, S.J., BRADY, J.N. Human T cell leukemia virus type 1: the role of Tax in leukemogenesis. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis (Warsz.)**, **53**: 283–296, 2005.
- POIESZ, B.J., RUSCETTI, F.W., GADZAR, A.F., BUNN, P.A., MINNA, J.D., GALLO, R.C. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured

- lymphocytes of a patient with cutaneous T cell lymphoma. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, **77 (12)**: 7415-19, 1980.
- POIESZ, B. J., POIESZ, M.J., HOI, D. The human T-cell lymphoma/Lekemia viruses. **Cancer Investigation**, **21**: 253-277, 2003.
- POMBO-DE-OLIVEIRA, M.S., MATUTES, E., FAMADAS, L.C., SCHULTZ, T.F., CALABRO, M.L., NUCCI, M., ANDRADA-SERPA, M.J., TEDDER, R.S., WEISS, R.A., CATOVSKY, D. Adult T-cell leukaemia/lymphoma in Brazil and its relation to HTLV-I. **Lancet**, **336 (8721)**:987-90, 1990.
- PONTES, G. S. et al. Seroepidemiology and molecular epidemiology of HTLV infection in rural and urban populations from the Amazon Region of Brazil. **Virus Review and Research** **8 (supl 1)**: 211, 2003.
- POSADA-VERGARA, M.P.; MONTANHEIRO, P.; FUKUMORI, L.M.I.; BONASSER, F.; DUARTE, A.J.S.; PENALVA DE OLIVEIRA, A.C. & CASSEB, J. - Clinical and epidemiological aspects of HTLV-II infection in São Paulo, Brazil: presence of Tropical Spastic Paraparesis/HTLV-Associated Myelopathy (TSP/HAM) simili diagnosis in HIV-1-co-infected subjects. **Revista do Instituto Medicina tropical de São Paulo**, **48(4)**: 207-210, 2006.
- POSADA, D, CRANDALL KA. **MODELTEST: testing the model of DNA substitution**. **Bioinformatics** **14**: 817 – 818, 1998.
- PREISER, W., SZEPEL, N.I., LANG, D., DOERR, H.W., RABENAU, H.F. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus seroprevalence in selected German patients: evaluation by different test system. **Medical Microbiology and Immunology (Berl)**, **190**: 121-7, 2001.

- PRESTON, B.D., POIESZ, B.J., LOEB, L.A. Fidelity of HIV-1 reverse transcriptase. **Science**, **242 (4882)**: 1168-71, 1988.
- PRESTON, B.D., DOUGHERTY, J.P. Mechanisms of retroviral mutation. **Trends Microbiology**, **4 (1)**: 16-21, 1996.
- RAMIREZ-AMADOR, V., ESQUIVEL-PEDRAZA, L., LOZADA-NUR, F. Intralesional vinblastine vs. 3% sodium tetradecyl sulfate for the treatment of oral Kaposi's Sarcoma. A double blind, randomized clinical trial. **Oral oncology**, **38(5)**: 460-467, 2002.
- REGAMEY, N., CATHOMAS, G., SCHWAGER, M., WERNLI, M., HARR, T., ERB, P. High human herpesvirus 8 seroprevalence in the homosexual population in Switzerland. **Journal of Clinical Microbiology**, **36**:1784-6, 1998a.
- REGAMEY, N., TAMM, M., WERNLY, A., THIEL, G., CATHOMAS, G., ERB, P. Transmission of Human Herpesvirus 8 infection from renal transplant donors to recipient. **The New England Journal of Medicine, Boston**, **339 (19)**: 1358-1363, 1998b.
- REICHART, P.A., KHONGKHUNTHIAN, P., BENDICK, C. Oral manifestations in HIV-infected individuals from Thailand and Cambodia. **Medical Microbiology and Immunology** **192**: 157-60, 2003.
- REICHE, E.M.V.; BONAMETTI, A.M.; WATANABE, M.A.E.; MORIMOTO, H.K.; MORIMOTO, A.A.; WIECHMANN, S.L.; BREGANÓ, J.W.; MATSUO, T. & REICHE, F.V. – Sociodemographic and epidemiological characteristics associated with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection in HIV-1-exposed but uninfected individuals, and in HIV-1- infected patients from a southern Brazilian

- population. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, **47(5)**: 239-246, 2005.
- RENNE, R. ZHONG, W. HERNDIER, B. MCGRATH, M. ABBEY, N. KEDES, D. GANEM, D. Lytic growth of Kaposi's Sarcoma associated herpesvirus (Human Herpesvirus 8) in culture. **Nature Medicine**, **2 (3)**: 342-347, 1996b.
- REZZA, G., ANDREONI, M., DORRUCCI, M., PEZZOTTI, P., MONINI, P., ZERBONI, R., SALASSA, B., COLANGELI, V., SARMATI, L., NICASTRI, E., BARBANERA, M., PRISTERA, R., AIUTI F., ORTONA, L., ENSOLI, B. Human herpesvirus 8 seropositivity and risk of Kaposi's sarcoma and other acquired immunodeficiency syndrome-related diseases. **Journal of the National Cancer Institute**, **91(17)**: 1468-74, 1999.
- RODRIGUES, E.H.G. & ABATH F.G.C. Doenças sexualmente transmissíveis em pacientes infectados com HIV/AIDS no Estado de Pernambuco, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **33**:47-52, 2000.
- RODRIGUES-JÚNIOR, A.L. & CASTILHO, E.A. A epidemia de AIDS no Brasil, 1991-2000: descrição espaço-temporal. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **37**: 312-7, 2004.
- ROMAN, G.C., ROMAN, L.N. Tropical spastic paraparesis. A clinical study of 50 patients from Tumaco (Colombia) and review of the worldwide features of the syndrome. **Journal of the Neurological Sciences**, **(1)**: 121-38, 1988.
- ROSENBERG, A.R., DELAMARRE, L., PIQUE, C., DOKHÉLAR, M.C. Lês glycoprotéines d'enveloppe du rétrovirus HTLV-I. **Virologie** **2**: 463-469, 1997.

- ROUET, F., HERRMANN-STORCK, C., COUROUBLE, G., DELOUMEAUX, J., MADANI, D., STROBEL, M. A case-control study of risk factors associated with human T-cell lymphotropic virus type-I seropositivity in blood donors from Guadeloupe, French West Indies. **Vox Sanguinis** **82**:61-66, 2002.
- ROYCE, R.A.; SENA, A.; CATES Jr., W, COHEN, M.S. - Sexual transmission of HIV. **The New England Journal of medicine**, **336**: 1072-1078, 1997.
- RUSSO, J. J., BOHENZKY, R. A., CHIEN, M.C., CHEN, J., YAN, M., MADDALENA, D.,J., PERRY, P., PERUZZI, D., EDELMAN, I. S., CHANG, Y., MOORE, P.S. Nucleotide sequence of the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (HHV-8). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, **93**:14862-14867, 1996.
- 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 closet relatives among African STLV-I strains. *Virology*, **246**: 277-284, 1998.
- SANCHEZ, G., VÁZQUEZ, P. Seroprevalencia de HTLV-I en donantes de sangre. **Revista Médica de Chile**:119-600, 1991.
- SANGER, F., NICHLER, S., COULSON, A.R. DNA sequences with chain termination inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, **74**: 5463-5468, 1977.
- SANTOS, S.N.J., TAYRA, A., SILVA, R.S., BUCHALLA, C.M., LAURENTI, R. As mudanças no perfil da epidemia e perspectivas da vigilância epidemiológica. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, **5**:286-310, 2002.

- SANTOS, F. L. N., LIMA, F. W. M. Epidemiologia, fisiopatogenia e diagnóstico laboratorial da infecção pelo HTLV-I. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, **41(2)**: 1676-2444, 2005.
- SAXINGER, W., BLATTNER, W.A., LEVINE, P.H., CLARK, J., BIGGAR, R, HOH, M., MOGHISSI, J., JACOBS, P., WILSON, L., JACOBSON, R. Human T-cell leukemia virus (HTLV-1) antibodies in Africa. **Science**, **225 (4669)**:1473-76, 1984.
- SCHECHTER, M., HARRISON, L. H., HALSEY, N. A., TRADE, G., SANTINO, M., MOULTON, L. H., QUINN, T. C. Co-infection with human T-cell lymphotropic virus type I and HIV in Brazil: impact on markers of HIV disease progression. **The Journal of the American Medical Association** **271**: 353-357, 1994.
- SCHECHTER, M., MOULTON, L.H., HARRISON, L.H. HIV viral load and CD4+ lymphocyte counts in subjects coinfecting with HTLV-I and HIV-1. **Journal Of Acquired Immune Deficiency Syndromes And Human Retrovirology**, **15(4)**: 308-11, 1997.
- SCHULZ, T. F. & MOORE, P. S. - Kaposi`s sarcoma-associated herpesvirus: a new human tumor virus, but how? **Trends in microbiology**, **7**:196-200, 1999.
- SCHULZ, T.F. Epidemiology of Kaposi`s sarcoma associated herpesvirus/human herpesvirus 8. **Advances in Cancer Research**, **76**: 121–160, 1999.
- SCHULZ, T.F. Kaposi`s sarcoma associated herpesvirus: epidemiology and pathogenesis. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy** **45**: 15–27 (Topic T3), 2000.
- SCHULZ, T., SHELDON, J., GREENSILL, J. Kaposi`s sarcoma associated herpesvirus (KSHV) or human herpesvirus 8 (HHV8). **Virus Research**, **82**: 115—26, 2002.

- SCHUSTER, P., STADLER, P.F. Nature and evolution of early replicons. In: **Origin and Evolution of Viruses**. Domingo, E., Webster, R.G., Holland, J.J. (eds). San Diego: Academic Press, 1999. p. 1–24.
- SCHWARTZ, R.A. Kaposi's sarcoma: an update. **Journal of Surgical Oncology**, **87**: 146-51, 2004.
- SECKIN, D., DEMIRAG, A., HYZEL, N. DEMIRHAN, B., ERDAL, R. Absence of Epstein-Barr virus DNA Sequences in Iatrogenic Kaposi's Sarcoma of renal transplant recipient. **Transplantation Proceedings, Houston**, **32**: 554-555, 2000.
- 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 asymptomatic carries and patients with HTLV-I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis from São Paulo, Brasil. **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.
- SEIKI, M., EDDY, R., SHOWS, T. B. & YOSHIDA, M. Nonspecific integration of the HTLV provirus genome into adult T-cell leukemia cells. **Nature**, **309 (5969)**: 640-2, 1984.
- SGADARI, C., BARILLARI, G., TOSCHI, E., CARLEI, D., BACIGALUPO, I., BACCARINI, S., PALLADINO, C., LEONI, P., ENSOLI, B. HIV protease inhibitor

- are potent ant-angiogenic molecules and promote regression of Kaposi Sarcoma. **Nature Medical**, **8**: 225-232, 2002.
- SHANKARAPPA, R., MARGOLICK, J.B., GANGE, S.J., RODRIGO, A.G., UPCHURCH, D., FARZADEGAN, H., GUPTA, P., RINALDO, C.R., LEARN, G.H., HE, X., HUANG, X.L., MULLINS, J.I. Consistent viral evolutionary changes associated with the progression of human immunodeficiency virus type 1 infection. **The Journal of Virology**, **73(12)**: 10489-502, 1999.
- SHEREMATA, W.A., BENEDICT, D., SQUILACOTE, D.C., SAZANT, A., DE FREITAS, E. High-dose zidovudine induction in HTLV-I associated myelopathy: safety and possible efficacy. **Neurology**, **43 (10)**: 2125-29, 1993.
- 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: serioepidemiological study and molecular epidemiology of HTLV type 2 isolates. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **18**: 71-78, 2002.
- SHIRIER, L.A., EMANS, S.J., WOODS, E.R., DURANT, R.H. The association of sexual risk behavior and problem drug behaviors in high school students. **Journal of Adolescent Health**, **20(5)**: 377-83, 1997.
- SILVA, C.G.M. O significado de fidelidade e as estratégias para prevenção da AIDS entre homens casados. **Revista de Saúde Pública**, **36 (4)**: 40-9, 2002.
- SILVA, A.C.M. & BARONE, A.A. Fatores de risco para infecção pelo HIV em pacientes com o vírus da hepatite C. **Revista de Saúde Pública**, **40**: 482-8, 2006.

- SILVA, M.T.T, ANDRADA, M.J., GRINSZTEJN, B., BERINQUÉ, E., CAMPOS, D., ROJAS, H., HARAB, H.,SANTINI, M., LEITE, A., LIMA, M., ARAÚJO, A. HIV/HTLV Co-infection:preliminary results in a cohort from Rio de Janeiro, Brasil. Instituto de pesquisa Clínica Evandro Chagas. **Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)**, Rio de Janeiro, Brasil, 2008.
- SILVA, L.C.F., SANTOS, E.M., NETO, A.L.S., MIRANDA, A.E., TALHARI, S., TOLEDO, L.M. Padrão da infecção pelo HIV/AIDS em Manaus, Estado do Amazonas, no período de 1986 a 2000. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **42(5)**:543-550, 2009.
- SIMON F., MAUCLÈRE, P., ROQUES, P., LOUSSERT-AJAKA, I., MÜLLER-TRUTWIN, M.C., SARAGOSTI, S., GEORGES-COURBOT, M.C., BARRÉ-SINOUSI, F., BRUN-VÉZINET, F. Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O. **Nature Medicine**, **4**:1032-7, 1998.
- SIMPSON, G.R., SCHULZ, T.F., WHITBY, D., COOK, P.M., BOSHOFF, C., RAINBOW, L., HOWARD, M.R., GAO, S.J., BOHENZKY, R.A., SIMMONDS, P., LEE, C., DE RUITER, A., HATZAKIS, A., TEDDER, R.S., WELLER, I.V.D., WEISS, R.A., MOORE, P.S. Prevalence of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection measured by antibodies to recombinant capsid protein and latent immunofluorescence antigen. **Lancet**, **348**: 1133-1138, 1996.
- SITAS, F., CARRARA, H., BERAL, V., NEWTON, R., REVES, G., BULL, D., JENTSCH, U., PACELLA-NORMAN, R., BOURBOULIA, D., WHITBY, D., BOSHOFF, C., WEISS, R. Antibodies against human herpesvirus 8 in black South

- African patients with cancer. **New England Journal of Medicine**, **340**: 1863-1871, 1999.
- SOBESKY, M. Coinfection with HIV and HTLV-I and survival in AIDS stage. French Guiana Study. **Presse Medical**, **29(8)**: 413-6, 2000.
- SODHI, A., MONTANER, S., GUTKIND, J.S. Does dysregulated expression of a dysregulated viral GPCR trigger Kaposi's sarcomagenesis? **The FASEB journal**, **18**: 422-7, 2004.
- SODHI, A., MONTANER, S., PATEL, V., GOMEZ-ROMAN, J.J., LI, Y., SAUSVILLE, E.A., SAWAI, E.T., GUTKIND, J.S. Akt plays a central role in sarcomagenesis induced by Kaposi's sarcoma herpesvirus-encoded G protein-coupled receptors. **Proceedings of the National Academy of Science U S A**, **101 (14)**: 4821-6, 2004.
- SOULIER, J., GROUPEL, L., OSKENHENDLER, E., CACOUB, P., CAZALS-HATEM, D., BABINET, P., D'AGAY, M.F., CLAUVEL, J.P., RAPHAEL, M., RAPHAEL, M., DEGOS, L. Kaposi's sarcoma associated herpesvirus-like DNA sequences in multicentric Castlemann's Disease. **Blood**, **86**:1276-80, **1995**.
- SOUZA, V.A.U.F., SUMITA, L.M., FREIRE, W., SATO, H.K., BRANDI, J.L., PIERROTTI, L.C., NASCIMENTO, M.C., PANNUTI, C.S. Prevalence of antibodies to human herpesvirus-8 in populations with and without risk for infection in São Paulo state. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, **37**: 123-127, 2004.
- SOUZA VA, SUMITA LM, NASCIMENTO MC, OLIVEIRA J, MASCHERETTI M, QUIROGA M, FREIRE WS, TATENO A, BOULOS M, MAYAUD P, PANNUTI CS. Human herpesvirus-8 infection and oral shedding in Amerindian and non-

- Amerindian populations in the Brazilian Amazon region. **Journal of Infectious Diseases**, **196** (6):844-852. 2007.
- SPIRA, T.J., LAM, L., DOLLARD, S.C., MENG, Y.X., PAU, C.P., BLACK, J.B., BURNS, D., COOPER, B., HAMID, M., HUONG, J., KITE-POWELL, K., PELLETT, P.E. Comparison of serologic assays and PCR for diagnosis of human herpesvirus 8 infection. **Journal of Clinical Microbiology**, **38**: 2174-2180, 2000.
- SPODE, V.L. & SCHMITT, V.M. Estudo sobre as possíveis vias de transmissão do Herpesvírus Humano tipo 8. **Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana**, **38** (4): 523-7, 2004.
- STURZL, M., HOHENADL, C., ZEITZ, C., CASTANOS-VELEZ, E., WUNDERLICH, A., ASCHERL, G., BIBERFELD, P., MONINI, P., BROWNING, P.J., ENSOLI, B. Expression of K13/vFLIP gene of human herpesvirus 8 and apoptosis in Kaposi's sarcoma spindle cells. **Journal of the National Cancer Institute**, **91**: 1725-33, 1999.
- SVAROVSKAIA, E.S., CHESLOCK, S.R., ZHANG, W.H., HU, W.S., PATHAK, V.K. Retroviral mutation rates and reverse transcriptase fidelity. **Frontiers In Bioscience**, **8**: 117-34, 2003.
- SZALAI, E., GERLEI, Z., SZLA'VIK, J., SZLA'DEK, G., PATEL, R., HUNYADI, J., GERGELY, LAJOS.G., JUHA'SZ, A. Prevalence of human herpesvirus-8 infection in HIV-positive patients with and without Kaposi sarcoma in Hungary. **Immunology and Medical Microbiology**, **43**: 265-268, 2005.
- SWOFFORD, D. L. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, 2002.
- TAMURA, K., DUDLEY, J., NEI, M., KUMAR, S. MEGA4: Molecular evolutionary

genetics analysis (MEGA) software version 4.0. **Molecular Biology and Evolution**

24: 1596-1599, 2007.

TAJIMA, K. The 4^a nation-wide study of Adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL) in Japan:

estimate of risk of ATL and its geographical and clinical features. The T- and B-cell

Malignancy Study Group. **International Journal of Cancer, 45 (2):** 237-43, 1990.

TAKATSUKI, K. A proposal for smoldering adult T-cell leukemia: a clinicopathologic

study of five cases. **Blood, 62 (4):**756-66, 1983.

TAYLOR, J., SMITH, P., BULL, D., PIKE, M. Kaposi's Sarkoma in Uganda: Geographic

and ethnic distribution. **British Journal of Cancer, London. 26:** 483-493, 1992.

TAYLOR, G.P. The epidemiology of human T-cell leukaemia/lymphoma virus type I in

Europe. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human**

Retrovirology. 13 (1): 8-14, 1996.

TAYLOR, M.M., CHOCHAN, B., LAVREYS, L., HASSAN, W., HUANG, M.L., COREY,

L., ASHLEY MORROW R, RICHARDSON, B.A., MANDALIYA, K., NDINYA-

ACHOLA, J., BWAYO, J., KREISS, J. Shedding of human herpesvirus 8 in oral and

genital secretions from HIV-1 seropositive and seronegative Kenyan women. **The**

Journal of Infectious Diseases, 190(3): 484-8, 2004.

TEDESCHI, R., DILLNER, J., PAOLI, P.de. Laboratory diagnosis of HHV-8 infection in

humans. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 21:**

831-844, 2002.

TEMIN, H., MITZUTANI, S. ENA-dependent DNA polymerase in virions of Rous

sarcoma virus. **Nature, 226:** 1211-3, 1970.

- THOMPSON, J.D., GIBSON, T.J., PLEWNIAK, F., JEANMOUGIN, F., HIGGINS, D.G.
The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic Acids Research**, **25 (24)**: 4876-4882, 1997.
- THOMSON, M.M., PEREZ-ALVAREZ, L., NAJERA, R. Molecular epidemiology of HIV-1 genetic forms and its significance for vaccine development and therapy. **The Lancet infectious diseases**, **2 (8)**: 461-71, 2002.
- TSANG, P.C.S., SAMARANAYAKE, L.P. Oral manifestations of HIV infection in a group of predominantly ethnic Chinese. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, **28**: 122-7, 1999.
- TSUGANE, S., WATANABE, S., SUGIMURA, H., OTSU, T., TOBINAI, K., SHIMOYAMA, M., NANRI, S., ISHII, H. Infectious state of human T lymphotropic virus type I and hepatitis B virus among Japanese immigrants in the Republic of Bolivia. **American Journal of Epidemiology**, **128 (5)**: 1153-61, 1988.
- UCHIYAMA, T., YODOI, J., SAGAWA, K., TAKATSUKI, K., UCHINO, H. Adult T-cell leukemia: Clinical and hematological features of 16 cases. **Blood**, **50 (3)**: 481-92, 1977.
- VALLEJO, A.; GARCÍA-SÁIZ, A. Typing human T-cell lymphotropic virus (HTLV-I and HTLV-II) by nested polymerase chain reaction: application to clinical specimens. **Journal of Virological Methods**, **51 (1)**: 9-17, 1995.
- VALLINOTO A.C.R., AZEVEDO, V.N., SANTOS, D.E.M., CANICEIRO, S., MESQUITA, F.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., AZEVEDO, V.N., ISHAK, M.O.G., ISHAK, R. VICENTE, A.C.P., OTSUKI, K., HALL, W.W. Molecular epidemiology of human T-lymphotropic virus type II infection in Amerindian and urban populations of the Amazon region of Brazil. **Human Biology**, **74**: 633 - 644, 2002.
- VALLINOTO, A.C.R., MUTO, N.A., PONTES, G.S., MACHADO, L.F.A., AZEVEDO, V.N., SANTOS, S.E.B., SANTOS, Â.K.C.R., ISHAK, M.O.G., ISHAK, R. Serological and molecular evidence of HTLV-I infection among Japanese immigrants living in the Amazon region of Brazil. **Journal of Infectious Diseases**, **57**: 156-159, 2004.
- VALLINOTO, A. C. R; PONTES, G. S; MUTO, N. A; LOPES, I. G. L; MACHADO, L. F. A; AZEVEDO, V. N; CARVALHAES, F. A. P. L; SANTOS, S. E. B; GUERREIRO, J. F; ISHAK, M. O. G; ISHAK, R. Identification of human T-cell lymphotropic virus infection in a semi-isolated Afro-Brazilian quilombo located in the Marajó Island (Pará, Brazil). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **101(1)**:103-105, 2006.
- 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 a post-Columbian introduction of human T-cell lymphotropic virus [type I] in latin America. **Journal of General virology**, **79 (11)**: 2695-708, 1998.

- VANDAMME, A. M., LIU, H.F., GOUBAU, P., DESMYTER, J. Primate T-lymphotropic virus type I LTR sequence variation and phylogenic analysis: compatibility with an African origin of HTLV-I. **Virology**, **202**: 212-223, 1994.
- VANDAMME, A. M., SALEMI, M., van BRUSSEL, M., LIU, H.F., LAETHEM, K. V., RANST, M. V., MICHELS, L., DESMYTER, J. & GOUBAU, P. African origin of human T-lymphotropic virus type 2 (HTLV-2) supported by a potential new HTLV-2d subtype in Congolese Bambuti Efe Pygmies. **Journal of Virology**, **72**:4327-4340, 1998.
- VARMA, M. RUDOLPH, D.L., KNUCHEL, M, SWITZER, W.M., HADLOCK, K.G., VELLIGAN, M., CHAN, L., FOUNG, S.K., LAL, R.B. Enhanced specificity of truncated transmembrane protein for serologic confirmation of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2 infections by Western blot (immunoblot) assays containing recombinant glycoproteins. **Journal of Clinical Microbiology**, **33 (12)**: 3239-44, 1995.
- VICENTE A.C.P., OTSUKI, K., SILVA, E.A., IÑIGUEZ, A.M. Molecular epidemiology of human T-lymphotropic virus type 2 in Brazil: na update. **IX Simpósio Internacional sobre HTLV no Brasil, 2006.**
- VIDAL, N.; MULANGA, C.; BAZEPEO, S. E.; LEPIRA, F.; DELAPORTE, E.; PEETERS, M. Identification and molecular characterization of subsubtype A4 in central Africa. **AIDS Research And Human Retroviruses**, **22(2)**:182-7. 2006.
- VISONÁ, K., YAMAGUCHI, K., BONILLA, J. Human T-cell leukaemia/lymphoma virus type I and type II infections in Costa Rica. In: **8th Eighth International Conference on Human Retrovirology: HTLV**; 1997 June 9-13; Rio de Janeiro, Brazil.

- VOYLES, B.A. **The Biology of Viruses. St. Louis, Missouri, Mosby**, 386p. 1993.
- WABINGA, H.R., PARKIN, D.M., WABWIRE-MANGEN, F., MANBOOZE, S. Trends in cancer incidence in Kyadono country, Uganda, 1960- 1997. **British Journal of Cancer**, **82**: 1585-92, 2000.
- WAGNER, E., HEWLETT, M. **Basic Virology**. Blackwell Science, Inc.; USA, 1999.
- WASSERHEIT, J.N. - Epidemiological synergy: interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases. **Sexually Transmitted Diseases**, **19**: 61-77, 1992.
- WEI, X., GUOSH, S.J., TAYLOR, M.E., JOHNSON, V.A., EMINI, E.A., DEUTSCH, P., LIFSON, J.D., BONHOEFFER. S., NOWAK, M.A., HAHN, B.H., SAAG, M.S., SHAW, G.M. Viral dynamics in Human Immunodeficiency virus type 1 infection. **Nature**, **373**: 117-122, 1995.
- WIGNALL, F.S., HYAMS, K.C., PHILLIPS, I.A., ESCAMILLA, J., TEJADA, A., LI, O., LOPEZ. F., CHAUCA, G., SANCHEZ, S., ROBERTS, C.R. Sexual Transmission of human T-cell lymphotropic virus type 1 in Peruvian prostitutes. **Journal of Medical Virology**, **38 (1)**: 44-48, 1992.
- WHITBY, D., HOWARD, M.R., TENANT-FLOWERS, M., BRINK, N.S., COPAS ,A., BOSHOF, C., HATZIOANNOU T, SUGGETT FE, ALDAM DM, DENTON AS, . Miller, R.F., Weller, I.V.D., Weiss, R.A., Tedder, R.S., Schulz, T.F. Detection of Kaposi's sarcoma associated herpesvirus in peripheral blood of HIV-infected individuals and progression to Kaposi's sarcoma. **Lancet**, **346 (8978)**: 799-802, 1995.
- WHITBY, D., LUPPI, M., BAROZZI, P., BOSHOF, C., WEISS, R.A., TORELLI, G. Human herpesvirus 8 seroprevalence in blood donors and lymphoma patients from

- different regions of Italy. **Journal of the National Cancer Institute**, **90**: 395-7, 1998.
- WHIBY, D.; SMITH, N. A.; MATTHEWS, S.; O'SHEA, S.; SABIN, C. A.; KULASEGARAM, R.; BOSHOFF, C. Human Herpesvirus 8: retroepidemiology among women and detection in the genital tract seropositive women. **The Journal of Infection Disease**. **179**:234-6, 1999.
- WHITBY, D., MARSHALL, V.A., BAGNI, R.K., WANG, C.D., GAMACHE, C.J., GUZMAN, J.R., KRON,M., EBBESEN, P., BIGGAR, R.J. Genotypic characterization of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in asymptomatic infected subjects from isolated populations. **Journal General of Virology**, **85**: 155-63, 2004.
- WHYTE, G.S. Is screening of Australian blood donors of human T-cell leukaemia/lymphoma virus type I and type II necessary? **The Medical Journal of Australia**, **166**: 478-81, 1997.
- WOLFE, N.D., HENEINE, W., CARR, J.K., GARCIA, A.D., SHANMUGAM, V., TAMOUFE, U., TORIMIRO, J.N., PROSSER, A.T., LEBRETON, M., MPOUDINGOLE, E., MCCUTCHAN, F.E.,BIRX, D.L., FOLKS, T.M., BURKE, D.S., SWITZER, W.M. Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central Africa bushmeat hunters. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, **102**: 7994-7999, 2005.
- WU, L., LO, P., YU, X., STOOPS, J. K., FORGHANI, B., ZHOU, Z. H. Three-dimensional structure of the human herpesvirus 8 capsid. **Journal of Virology**, **74**: 9646-9654, 2000.
- YAMAGUCHI, K., NISHIMURA, H., KOHROGI, H., JONO, M., MIYAMOTO, Y.,

- YASUNAGA, J., SAKAI, T., NOSAKA, K., ETOH, K., TAMIYA, S., KOGA, S., MITA, S., UCHINO, M., MITSUYA, H., MATSUOTKA, M. Impaired production of naïve T lymphocytes in human T-cell leukemia virus type I infected individuals: its implications in the immunodeficient state. **Blood**, **97**: 3177-3183, 2001.
- YAMASAKI, K., KIRA, J., KOYANAGI, Y., KAWANO, Y., MIYANO-KUROSAKI, N., NAKAMURA, M., BABA, E., SUZUKI, J., YAMAMOTO, A., YAMAMOTO, N., KOBAYASHI, T. Long-term, high dose interferon-alpha treatment in HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis: a combined clinical, virological and immunological study. **Journal of the Neurological Sciences**, **147**: 135–144, 1997.
- YAMANO, Y., NAGAI, M., IJICHI, S., USUKU, K., YASHIKI, S., IZUMO, S., SNODA, S., OSAME, M. Treatment of TSP/HAM with a combination of zidovudine and interferon- α (Abstract P125). Abstracts of the 9th International Conference on Human Retrovirology, Kagoshima, Japan, April 1999. **The Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **20**: A62, 1999.
- YANAGIHARA, R., JENKINS, C.L., ALEXANDER, S.S., MORA, C.A., GARRUTO, R.M. Human T lymphotropic virus type I infection in Papua New Guinea: high prevalence among the Hagahai confirmed by western analysis. **The Journal of Infectious Diseases**, **162**: 649-54, 1990.
- YEN-MOORE, A., HUDNALL, S.D., RADY, P.L., WAGNER, R.F. J.R., MOORE T.O., MEMAR, O., HUGHES, T.K., TYRING, S.K. Differential expression of HHV-8 vGCR cellular homolog gene in AIDS-associated and classic Kaposi's sarcoma: potential role of HIV-1 tat. **Virology**, **267(2)**: 247-51, 2000.

- YOSHIDA, M., MIYOSHI, L., HINUMA, Y. Isolation and characterization of retrovirus from cell lines of human adult T-cell leukemia and its implication in the disease. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, **79 (6)**:2031-2035, 1982.
- YOSHIDA, M. Multiple targets of HTLV-I for dysregulation of host cells. **Seminars in Virology**, **7**: 349–360, 1996.
- YOUNIS, I., GREEN, P.L. The human T-cell leukemia virus Rex protein. **Frontiers in Bioscience**, **10**: 431–445, 2005.
- ZANETTI, A., & C. GALLI. Seroprevalence of HTLV-I and HTLV-II. **The New England Journal of Medicine**, **326**:1783, 1992.
- ZANINOVIC, V., SANZON, F., LOPES, F., VELANDIA, G., BLANK, A., BLANK, M., FUJIYAMA, C., YASHIKI, S., MATSUMOTO, D., KATAHIRA, Y., MIYASHITA, H., FUJIYOSHI, T., CHAN, L., SAWADA, T., MIURA, T., HAYAMI, M., TAJIMA, K., SONODA, S. Geographic independence of HTLV-I and HTLV II foci in the Andes Highland, the Atlantic Coast, and the Orinoco of Colombia. **AIDS Research and Human Retroviruses**, **10 (1)**: 97-101, 1994.
- ZAGO, A., BOURBOULIA, D., VIANA, M.C., COLLANDRE, H., DIETZE, R., BOSHOFF, C., KELLER, R. Seroprevalence of human herpesvirus 8 and its association with Kaposi's sarcoma in Brazil. **Sexually Transmitted Diseases**, **27**: 468-472, 2000.
- ZHANG, H. HIV/HTLV-II coinfection and CD4+ cell count controlling for plasma HIV viral load in injection drug users in Baltimore. **Journal Of Acquired Immune Deficiency Syndromes And Human Retrovirology**, **18 (4)**:397-8, 1998.

- ZHANG, M.; WILBE, K.; WOLFE, N.D.; GASCHEN, B.; CARR, J.K.; LEITNER, T.
HIV type 1 CRF13_cpx revisited: identification of a new sequence from Cameroon and signal for subsubtype J2. **Aids Research Human Retroviruses**. **21(11)**:955-60.2005.
- ZHU, T., KORBER, B.T., NAHMIAS, A. J., HOOPER, E., SHARP, P. M., HO, D.D. An African HIV-1 sequence from 1959 and implications for origin of the epidemic. **Nature**, **391**: 594-597, 1998.
- ZIEGLER, J.L., NEWTON, R., KATONGOLE-MBIDDE, E., MBULATAIYE, S., DE COCK, K., WABINGA, H., MUGERWA, J., KATABIRA, E., JAFFE, H., PARKIN, D.M., REEVES, G., WEISS, R., BERAL, V. Risk factors for Kaposi's sarcoma in HIV-positive subjects in Uganda. **AIDS**, **11 (13)**: 1619-26, 1997.
- ZONG, J.C., METROKA, C., REITZ, M.S., NICHOLAS, J., HAYWARD, G.S. Strain variability among Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) genomes: evidence that a large cohort of United States AIDS patients may have been infected by a single common isolate. **Journal of Virology**, **71 (3)**:2505-2511. 1997.
- ZONG, J., CIUFO, D., ALCENDOR, D., WAN, X., NICHOLAS, J., BROWNING, P., RADY, P., TYRING, S., ORENSTEIN, J., RABKIN, C., SU, I., POWELL, K., CROXSON, M., FOREMAN, K., NICKOLOFF, B., ALKAN, S., HAYWARD, G.. High level variability in the *ORF* K1 membrane protein gene at the left end of SKHV genome defines four major virus subtypes and multiple variants or clades in different human populations. **Journal of Virology**, **73**: 4156–4170, 1999.
- ZUNT, J.R., DEZZUTTI, C.S., MONTANO, S.M., THOMAS, K.K., ALARCON, J.O., 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 1 is associated with cervicitis. **Journal of Infectious Diseases**, **186 (11)**: 1669-72, 2002.
- ZURITA, S., COSTA, C., WATTS, D., INDACOCHEA, S., CAMPOS, P., SÁNCHEZ, J., GOTUZZO, E. Prevalence of human retroviral infection in Quillabamba and Cuzco, Peru: a new endemic area for human T-cell lymphotropic virus type 1. **American Journal of Tropical medicine and Hygiene**, **56 (5)**: 561-65, 1997.