

CAD. Nº 111 155: 65730
R 13829625/04

742053

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
Faculdade de Medicina
Departamento de Patologia e Medicina Legal

**PERFIL IMUNOFENOTÍPICO DE CÉLULAS
LINFÓIDES CIRCULANTES EM PACIENTES
SOROPOSITIVOS PARA O VÍRUS
LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS-I**

Geane Félix de Souza

1638
616.079
74154
2002

Fortaleza
2002

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Geane Félix de Souza

**PERFIL IMUNOFENOTÍPICO DE CÉLULAS
LINFÓIDES CIRCULANTES EM PACIENTES
SOROPOSITIVOS PARA O VÍRUS
LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS-I**

**Dissertação apresentada ao Curso de Pós-
Graduação em Patologia do
Departamento de Patologia e Medicina
Legal da Universidade Federal do Ceará
para obtenção do título de Mestre.**

Orientador:

Prof. Dr. Francisco Dário Rocha Filho

Co-orientadores:

Profa. Dra. Sílvia Maria Meira Magalhães

Prof. Dr. Carlos Maurício de Castro Costa

Fortaleza

2002

S715p Souza, Geane Félix de
Perfil imunofenotípico de células linfóides circulantes em
Pacientes soropositivos para vírus linfotrópico de células T
humanas – I / Geane Félix de Souza. - Fortaleza, 2002.
105fs.
Orientador: Prof. Dr. Francisco Dário Rocha Filho
Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Ceará.
Departamento de Patologia e Medicina Legal.
1. Linfócitos - imunologia
2. Linfócitos T
3. Análise imunofenotípica
4. Soroprevalência
5. HTLV I. título

CDD 616079

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Mestrado em Patologia, área de concentração Patologia Tropical, do Departamento de Patologia e Medicina Legal, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Patologia.

Data: 13/11/2002

BANCA EXAMINADORA

.....
Prof. Dr. Carlos Maurício de Castro Costa
Universidade Federal do Ceará

.....
Prof. Dr. Antonio Wilson Vasconcelos
Universidade Federal do Ceará

.....
Prof. Dr. Eduardo Antonio Gonçalves Ramos
Universidade Federal da Bahia

A realização deste trabalho contou com o apoio da Fundação Cearense de Amparo à Pesquisa -FUNCAP e do Laboratório Louis Pasteur de Patologia Clínica – LABPASTEUR.

Aos meus pais,

Antonio Felix de Souza e Joseny Felix de Souza, pessoas singelas e cheias de dignidade, que antes de tudo, me ensinaram a ser “gente”, me incentivaram a seguir os caminhos do amor e da ciência. Meu eterno agradecimento pelo apoio incondicional.

À minha família, meu bem querer.

Meu esposo Cristóvão e meus filhos Pedro Felipe e Gabriella, que com amor e carinho suportaram o sofrimento da ausência. Dedico este trabalho com gratidão.

AGRADECIMENTOS

A DEUS. O respeito ao SENHOR é o princípio da sabedoria (prov.9).

Aos meus irmãos, pelo apoio em todos os momentos.

À Profª Drª Sílvia Maria Meira Magalhães, pelo exemplo de compromisso e de responsabilidade a mim passado, quando, da transmissão de seus conhecimentos profissionais e experiências de vida. Por ter me incentivado, sempre, a uma maior qualificação profissional. Que com seu equilíbrio e serenidade, transformou meus momentos de angústias, em alegres e confiantes. Por sua valiosa contribuição, dedico, com carinho este trabalho.

Ao Prof. Dr. Carlos Maurício de Castro Costa pela imprescindível orientação para a realização desta pesquisa e pela acolhida em seu consultório de neurologia no Hospital das Clínicas.

Ao Prof. Dr. Francisco Dário Rocha Filho e Dr. Francisco Valdeci de Almeida pelas orientações prestadas.

À Drª. Cláudia Guimarães e sua equipe, por sua disponibilidade em ajudar nas análises imunofenotípicas das amostras.

À Drª. Fanca, Drª. Cristiane, Kátia, Karine, Beth, Livanildo e todos os funcionários do laboratório Louis Pasteur.

Ao Dr. Braga, Drª. Elaine, Dr. Lúcio, Ana Paula e todos os funcionários do setor de sorologia do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará.

À Drª. Anecy Araújo e todos os funcionários do setor de imunohematologia do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará

À Drª. Eunice Bobó, Dr. Marcos Antonio, Drª. Dayse, Drª. Ana Cláudia, Suely e todos os funcionários do setor de hematologia do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará.

À Francine Bovy de Castro Costa, por sua colaboração na coleta dos dados e amostras junto ao Ambulatório de HTLV do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará.

Ao Prof. Dr. Talapala G. Naidu por seu incentivo durante a realização deste trabalho.

À Drª. Vânia Barreto A. F. Gomes e Drª. Ana Cesarina Oliveira por ter permitido a realização desta pesquisa no ambulatório de HTLV do HEMOCE.

Ao Dr. Tadeu Sobreira e Drª. Tereza Bandeira por ter permitido a realização de parte desta pesquisa no laboratório Louis Pasteur.

Ao Prof. Gustavo de Brito Melo, Prof^ª. Anna Bárbara Proietti e todos participantes do Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em HTLV (GIPH) de Minas Gerais por suas valiosas sugestões de referências bibliográficas.

À Dr^ª. Terezinha de Jesus Teixeira Santos pelo estímulo ao desenvolvimento de minha dissertação.

Aos coordenadores e professores do Mestrado em Patologia das Doenças Tropicais.

Aos meus companheiros de pós-graduação.

À Norma de Carvalho Linhares e demais funcionários da Biblioteca de Ciências da Saúde.

À Prof^ª. Rosa Maria Salani Mota, pela realização da análise estatística desta pesquisa.

À Paula, Marlene, Marli, Franzé e todos os funcionários do Depto. de Patologia e Medicina Legal do Centro de Ciências da Saúde da UFC.

Ao Sílvio Alves Costa pelas orientações e dicas de informática.

Aos funcionários do laboratório do Hospital Distrital Gonzaga Mota de Messejana.

Aos doadores de sangue e pacientes participantes do estudo.

Aos meus amigos de todas as horas.

“Na ciência como na vida só se acha o que se procura”.
Evans Pritchard

SUMÁRIO

Lista de figuras	IX
Lista de tabelas	XI
Resumo	XIII
Abstract	XIV
Introdução	1
O vírus HTLV	2
Histórico	2
Classificação	4
Estrutura genômica	5
Morfologia e proteínas virais	7
Ciclo de replicação	9
Transmissão	11
Epidemiologia	13
Patologias associadas	18
Diagnóstico laboratorial	20
O tecido linfóide	24
Ontogenia das células T	25
Objetivos	28
Material e Métodos	30
Pacientes	31
ELISA	32
WESTERN BLOT	35
Parâmetros hematológicos	38
Análise imunofenotípica de células linfóides T	38
Análise estatística	42
Resultados	44
Discussão	59
Conclusões	68

Referências bibliográficas
Anexos

70

96

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura esquemática do genoma do HTLV-I/II e seus principais produtos.	6
Figura 2- Representação esquemática da estrutura e composição da partícula viral do HTLV-I	8
Figura 3- Representação esquemática do ciclo replicativo de um retrovírus humano.	10
Figura 4- Origem e distribuição do HTLV nos cinco continentes	15
Figura 5- Desenho esquemático da reação de ELISA	34
Figura 6- Análise do HTLV pelo teste de Western blot. SC: soro controle; MTA1 (rpg 46 I) e K55 (rgp 46 II), proteínas recombinantes específicas de HTLV-I e HTLV-II, respectivamente, derivadas da glicoproteína do envelope, rgp 21, proteína recombinante do envelope de transmembrana do HTLV-I reagindo com anticorpos contra ambos os tipos; as proteínas virais gp46, p24, e p19 são indicadas por sua massa molecular. Faixas I e II, controle soropositivo para HTLV-I e HTLV-II. Faixas a, b, e e são soropositivas para HTLV-I; faixas c e d são soropositivos para HTLV-II.	36
Figura 7- Esquema de funcionamento do citômetro de fluxo. O feixe de laser incide sobre um fluxo laminar de células. Aquelas marcadas pelos anticorpos conjugados a fluorocromos emitirão ondas luminosas de diferentes comprimentos, de acordo com o tipo de fluorocromo. Detectores de fluorescência captam as ondas, que serão convertidas a impulsos elétricos, analisáveis por computador.	41
Figura 8- Número de doadores reativos para o HTLV-I/II pelo teste ELISA no período entre 1997 a 2001.	45
Figura 9- Distribuição dos resultados do teste de WB realizados no período entre 1997 a 2001.	46
Figura 10- Distribuição dos resultados dos testes confirmatórios de WB realizados no ano de 2001.	47

Figura 11- Percentagem de indivíduos distribuídos por grupo em função do sexo.	48
Figura 12- Idade média dos indivíduos nos diferentes grupos estudados.	49
Figura 13- Contagem média do número de linfócitos nos diferentes grupos estudados.	50
Figura 14 – Contagem média do número de neutrófilos nos diferentes grupos estudados.	51
Figura 15 – Contagem média do número de plaquetas nos diferentes grupos estudados.	52
Figura 16 - Valor médio de hemoglobina nos diferentes grupos estudados.	53
Figura 17 - Contagem média de células CD3+ nos grupos estudados.	55
Figura 18 – Contagem média de células CD4+ nos grupos estudados.	56
Figura 19 – Contagem média de células CD8+ nos grupos estudados.	57
Figura 20 - Valor médio da relação CD4+/CD8+ nos grupos estudados.	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Classificação taxonômica dos retrovírus.	4
Tabela 2- Prevalência mundial para o HTLV-I e II.	16
Tabela 3- Prevalência do HTLV-I e II em doadores de sangue no Brasil.	17
Tabela 4- Critérios de interpretação dos resultados dos testes de WB.	37
Tabela 5- Prevalência da reatividade para o HTLV-I/II pelo teste de triagem ELISA na população geral de doadores do HEMOCE (Hemorrede do Estado do Ceará) no período de 1997 a 2001	45
Tabela 6- Resultados dos testes WB realizados, no período de 1997 a 2001, em indivíduos reativos pelo teste ELISA, provenientes da população geral de doadores do HEMOCE (Hemorrede do Estado do Ceará).	46
Tabela 7- Distribuição dos pacientes por grupo em função do sexo.	48
Tabela 8- Distribuição da idade dos indivíduos nos três grupos estudados.	49
Tabela 9- Distribuição dos parâmetros hematológicos no sangue periférico de indivíduos do grupo controle e dos grupos soropositivos assintomáticos e sintomáticos.	50
Tabela 10- Distribuição dos pacientes por grupo em função do número absoluto de neutrófilos	51
Tabela 11- Distribuição dos pacientes por grupo em função do número absoluto de plaquetas.	52
Tabela 12- Distribuição dos pacientes por grupo em função da concentração da hemoglobina.	53
Tabela 13- Caracterização imunofenotípica da subpopulação linfocitária no sangue periférico de indivíduos do grupo controle, soropositivo assintomático e soropositivo sintomático.	54
Tabela 14 - Distribuição dos pacientes por grupo em função da contagem de células CD3+ no sangue periférico.	55
Tabela 15- Distribuição dos pacientes por grupo em função da contagem de células CD4+ no sangue periférico.	56
Tabela 16- Distribuição dos pacientes por grupo em função da contagem de células CD8+ no sangue periférico.	57

Tabela 17- Distribuição dos pacientes por grupo em função da relação CD4+/CD8+.

RESUMO

Os vírus HTLV-I e II convertem o seu genoma RNA em DNA através da enzima transcriptase reversa, uma DNA polimerase dependente de RNA, o que permite a sua integração ao genoma da célula hospedeira. As vias de transmissão mais comuns são a via sexual, a transfusão de hemocomponentes e o uso compartilhado de agulhas e seringas contaminadas. A prevalência da infecção varia de forma significativa com a região geográfica, o grupo racial e a subpopulação de risco. Cerca de 1 a 4% dos indivíduos infectados desenvolvem algum tipo de doença em decorrência da infecção. Reconhece-se hoje associação entre o HTLV-I e a Leucemia de Células T do Adulto e a Paraparesia Espástica Tropical. Embora a maior parte dos portadores do HTLV-I permaneça assintomática existem evidências de comprometimento funcional da resposta imune celular. Considerando que o perfil imunofenotípico de células linfóides no sangue periférico reflete o desempenho do sistema imune buscou-se nesse estudo, verificar o comportamento dos linfócitos T CD3+, CD4+, CD8+ e a relação CD4+/CD8+ em 35 indivíduos infectados pelo HTLV-I com ou sem sintomas, bem como a distribuição da faixa etária e os parâmetros hematológicos, comparando-os com um grupo de indivíduos soronegativos. Na análise demográfica houve predomínio do sexo feminino e maior média de idade no grupo de indivíduos soropositivos sintomáticos. A dosagem de hemoglobina apresentou-se, em média, menor no grupo soropositivo. Os valores médios dos linfócitos e plaquetas não diferiram significativamente entre os grupos, enquanto o valor médio do número de neutrófilos apresentou valores significativamente mais elevados no grupo sintomático. A análise imunofenotípica mostrou que os valores médios de células CD3+, CD4+, CD8+, assim como a relação CD4+/CD8+ não diferiram significativamente entre os grupos. Verificou-se uma elevação do número de células CD8+ no grupo soropositivo embora essa diferença não alcançasse significância estatística. Resultados conflitantes de análise imunofenotípica de pacientes soropositivos para HTLV-I/II têm sido relatados por diferentes autores. Estudos posteriores, com um número maior de casos, são necessários para definir o valor preditivo da análise imunofenotípica de subpopulações linfocitárias para as patologias associadas a esse retrovírus.

ABSTRACT

HTLV-I and II viruses convert their genomic RNA to DNA employing the enzyme reverse transcriptase, a RNA-dependent DNA polymerase, which makes possible their integration into host cell genome. Common ways of transmission are: sexual intercourse, transfusion of hemoderivative components and the shared use of contaminated syringes and needles. The prevalence of the infection varies significantly with the geographic region, the racial group and the sub-population under risk. About 1 to 4% of the infected individuals develop some form of infection-related disease. The association of HTLV-I with Adult T – Cell Leukemia, as well as the Tropical Spastic Paraparesis, is presently well recognized. Although the majority of HTLV-I-infected individuals remain asymptomatic, there are indications that cellular responses are functionally impaired in these cases. As the immunophenotypic profile of peripheral blood lymphoid cells reflect on the performance of the immune system, a study was carried out on the behavior of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ T lymphocytes and the CD4⁺/ CD8⁺ ratios in 35 symptomatic or asymptomatic HTLV-I-infected individuals. The age distribution and the hematological parameters were investigated and compared to those of seronegative individuals. In the demographic analysis of the cases, a predominance of infection in females was observed with a higher average age in the group of seropositive symptomatic individuals. The mean hemoglobin value was also found to be significantly lower in this group. The mean lymphocyte and platelet values were not significantly different between the asymptomatic and symptomatic groups, but the mean polymorphonuclear neutrophil value was significantly higher in the symptomatic individuals. Immunophenotyping evaluation revealed that the mean CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ T lymphocytes count, as also the CD4⁺/ CD8⁺ ratios, were not significantly different between the symptomatic and asymptomatic groups. A slightly higher mean CD8⁺ T lymphocyte count was observed in the seropositive individuals. Conflicting results regarding immunophenotyping evaluations in seropositive HTLV-I/II have been reported by several authors. Subsequent studies with larger numbers of cases are needed to determine the predictive value of immunophenotyping of the lymphocyte subpopulations in the pathologies associated with these retroviral infections.

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

HTLV – HISTÓRICO

Os retrovírus convertem o seu genoma RNA em DNA através da enzima transcriptase reversa (TR), uma DNA polimerase dependente de RNA, o que permite a sua integração ao genoma da célula hospedeira.

Os primeiros retrovírus, embora ainda não recebessem essa denominação, foram descobertos no início do século XX por investigadores que estudavam doenças neoplásicas em galinhas. Em 1908, Ellerman e Bang demonstraram uma forma de leucemia e linfoma em galinhas, causada por um vírus conhecido hoje como vírus da leucose aviária (ALV) (COVAS, 2001).

Em 1911, Rous descreveu a transmissão de um tipo de sarcoma, também em galinhas, por meio de um infiltrado isento de células do tumor, através do vírus conhecido como Sarcoma Rous (VERONESI, 2000 ; COVAS, 2001).

Membros da família Retroviridae, sucessivamente, foram isolados em peixes, répteis, aves e mamíferos. Em 1936, foi descoberto, por John Bittner, o primeiro retrovírus indutor de tumor em mamíferos. Foi demonstrado que o carcinoma mamário de camundongos era determinado por um agente filtrável transmitido pelo leite (COVAS, 2001).

Em 1951, foi publicado o primeiro relato de retrovírus implicado num caso de leucemia em rato. Inúmeros agentes foram posteriormente relacionados a imunodeficiências em diversas espécies de mamíferos, assim como a uma variedade de neoplasias (GROSS, 1993).

A origem do vírus HTLV em humanos é muito controversa. Alguns autores sugerem que a infecção se originou na África e foi levada para as ilhas do Caribe pelo tráfico de escravos e para o Japão pela tripulação africana dos navios portugueses nos séculos XVI e XVII (YAMASHITA, 1996). Outros sugerem que esses vírus já estariam presentes entre japoneses aborígenes em tempos pré-históricos (GALLO, 1983; ISHIDA, 1985). Na África e na Ásia, esses retrovírus foram isolados de diversos primatas, sugerindo a possibilidade de transmissão enzoótica ao homem.

No entanto, um grande desenvolvimento no conhecimento desses retrovírus foi observado nas décadas de 70 e 80, e contribuiu para esses avanços a constatação de que a

interleucina-2 (IL-2) poderia ser utilizada como fator de crescimento linfocitário, permitindo desse modo o estabelecimento de linhagens celulares *in vitro* a partir de linfócitos humanos (SEGURADO, 2000).

Na década de 80, dois grupos, norte-americano e japonês, anunciaram a associação entre retrovírus e neoplasias em humanos.

Pesquisadores do Instituto Nacional de Saúde dos EUA isolaram o vírus HTLV, a partir de linhagem celular originária de linfócitos periféricos e de células de linfonodos de pacientes portadores de linfoma cutâneo de células T (micose fungóide) e de leucemia (síndrome de Sézary) (POIESZ, 1980; POIESZ, 1981). Paralelamente, pesquisadores japoneses conseguiram isolar partículas virais a partir de paciente com leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL), neoplasia hematológica prevalente nas ilhas situadas na região sudoeste do Japão (UCHIYAMA, 1977; YOSHIDA, 1982).

Em 1982, foi demonstrado, através de estudos soroepidemiológicos, que ambos os vírus tratavam-se de agentes semelhantes, com seqüência de nucleotídeos idêntica, e a partir de então foi adotada a nomenclatura internacional de vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV) para esse agente etiológico (GALLO, 1985; POPOVIC, 1982; WATANABE, 1984).

Ainda no mesmo ano, um segundo retrovírus foi isolado a partir de linhagem celular obtida de tecido esplênico de paciente portador de leucemia de células T pilosas (*leukemia hairy cell*) (KALYANARAMAN, 1982). Estudos sorológicos demonstraram que esse novo vírus apresentava reatividade cruzada com o HTLV, mas, como apresentasse seqüência de nucleotídeos diversa, foi denominado HTLV-II, para diferenciá-lo do originalmente descrito, o qual passou a ser denominado HTLV-I. Os vírus do tipo I e II compartilham aspectos estruturais e biológicos, com 65% de homologia na seqüência de RNA do seu genoma viral.

Assim, sucessivamente foram reconhecidos os diferentes vírus linfotrópicos de células T humanas, denominados HTLV-I, HTLV-II, HTLV-III e HTLV-IV, sendo os dois últimos posteriormente designados vírus da imunodeficiência humana do tipo I (HIV-I) e do tipo II (HIV-II) (SEGURADO, 2000).

Análises filogenéticas das seqüências do vírus HTLV-I têm mostrado uma constituição altamente conservada quando comparada à do HIV I e II. No homem da Antiguidade, os vírus HTLV-I e II parecem ter sido exógenos, e co-fatores ambientais podem ter ampliado sua disseminação e sua prevalência em certas áreas (VERONESI, 2000).

HTLV – CLASSIFICAÇÃO

Os retrovírus compreendem uma grande família, Retroviridae, composta por três subfamílias: Oncovirinae, Lentivirinae e Spumavirinae, de patogenia desconhecida para o homem (MARRIOT, 1994). Taxonomicamente, estão agrupados em sete gêneros (tabela 1).

Tabela 1 – Classificação taxonômica dos retrovírus

Família: Retroviridae
Gêneros
1. Grupo relacionado ao ALSV (<i>Avian Leukosis-Sarcoma Virus</i>)
2. Grupo dos vírus tipo C dos mamíferos
3. Grupo dos vírus tipo B
4. Grupo dos vírus tipo D
5. Grupo do HTLV/BLV
6. Lentivírus (HIV do tipo I e do tipo II)
7. Espumavírus

Com base na organização genômica, os retrovírus podem ser classificados em simples e complexos. Os simples possuem apenas três regiões codificantes no seu genoma, enquanto os complexos apresentam, além desses genes, regiões codificantes adicionais que originam proteínas reguladoras. Os gêneros HTLV-BLV, Lentivírus e Espumavírus são formados por retrovírus complexos, e os demais gêneros compreendem apenas retrovírus simples. Até o momento foi demonstrada a infecção de seres humanos por cinco agentes: HIV I e II, HTLV-I e II e pelo HFV (Vírus Esponjoso Humano) (COVAS, 2001).

O HTLV pode ser classificado: 1) em quatro grupos de A a D de acordo com a morfologia das partículas virais; 2) em exógenos, quando se transmitem horizontalmente, ou endógenos se a transmissão ocorre através de células germinativas infectadas; 3) de acordo com a presença ou ausência de um oncogene em seu genoma; 4) de acordo com o receptor celular utilizado; 5) de acordo com a sequência de seu genoma.

A variabilidade genômica, observada entre as espécies, tem levado à descrição de subtipos e à construção de árvores filogenéticas que representam relações evolutivas entre eles. O HTLV-I é classificado em 04 subtipos principais: cosmopolita, africano, japonês e melanésio (VIDAL, 1994). Não existe uma relação entre o subtipo e a patologia causada pela

espécie viral, sendo essa variabilidade genômica muito mais dependente da sua origem geográfica (MARTINS, 2000).

HTLV: ESTRUTURA GENÔMICA

A estrutura genômica do HTLV é similar à de outros retrovírus. Tem um genoma de RNA de fita simples possuindo três genes principais: gag (antígeno glicoproteína), pol (polimerase) e env (envelope), além da região X, a qual contém os genes reguladores (tax – transativador e rex- regulador da expressão viral). O genoma proviral tem de cada lado, nas extremidades, uma estrutura chamada de LTR (*Long Terminal Repeats*), cujas seqüências são essenciais na integração do DNA proviral ao DNA cromossômico do hospedeiro e no processo de transcrição do genoma do HTLV (SALEMI, 1999). O DNA proviral do HTLV-I possui 9032 pares de bases (SEIKI, 1983); e do HTLV-II, 8952 pares de bases (SHIMOTOHNO, 1985).

A transcrição do provírus gera três moléculas diferentes de RNA mensageiro: 1- uma fita de RNA de seqüência completa é utilizada para a síntese dos produtos dos genes gag e pol e também para o RNA genômico; 2- RNA subgenômico é feito a partir de um único processamento e codifica o produto do gene env; 3- RNA subgenômico que codifica as proteínas da região X (SEIKI, 1985; ALEXANDERSEN, 1993; CIMINALE, 1995; VAN BRUSSEL, 1996; BARTOE, 2000).

O genoma viral do HTLV-I, já clonado e totalmente seqüenciado, constitui-se em (**figura 1**):

1) Os segmentos LTR, com poucas áreas conservadas entre o HTLV-I e HTLV-II, o LTR, é a região mais divergente do genoma do HTLV. Ela contém seqüências específicas onde se ligam reguladores celulares importantes no controle da expressão viral, bem como outros elementos importantes no ciclo de replicação do vírus.

2) O gene env, que vai do nucleotídeo 5180 ao 6647, é o responsável pela codificação das glicoproteínas externas do envelope: a precursora gp61/68 e sua derivada, a glicoproteína de superfície de 46 kDa (gp46) e a proteína transmembrana de 21kDa (gp21).

3) O gene pol é responsável pela codificação das enzimas transcriptase reversa (p99), RNase, endonuclease e protease. Está compreendido entre os nucleotídeos 2497 a 5187 no genoma do HTLV-I (SEGURADO, 2000).

4) O gene *gag*, compreendido entre os nucleotídeos 802 a 2019, codifica as proteínas do *core* viral, a precursora p52 e suas derivadas, a proteína do nucleocapsídeo (NC) de 15 kDa (p15), a proteína da matriz (MA) de 19 kDa (p19) e a proteína do capsídeo (CA) de 24 kDa (p24) (OROSZLAN, 1984; SEGURADO, 2000). A proteína p24 possui alta similaridade de aminoácidos entre o HTLV I e HTLV II, o que resulta em reações antigênicas cruzadas. Em contrapartida, a proteína p19 exibe menos similaridade entre esses dois retrovírus (SALEMI, 1999).

5) Os genes *Tax* e *Rex* são essenciais para o processo de replicação viral. A proteína codificada pelo gene *Tax* possui peso molecular de 37kDa e é encontrada no núcleo das células infectadas. Ao interagir com outras proteínas regulatórias celulares, pode induzir indiretamente o aumento da expressão de outros genes celulares relacionados com o crescimento celular, como protooncogenes, fatores de crescimento ou seus receptores, e cuja expressão está diretamente envolvida nos efeitos patogênicos do HTLV (COVAS, 2001). O gene *rex* regula a expressão do gene *tax* e codifica uma proteína de peso molecular de 26kDa. É uma proteína envolvida no controle da expressão gênica do HTLV, na replicação viral, facilitando o transporte do vírus do núcleo para o citoplasma da célula (COVAS, 2001).

6) Os genes *rof* e *tof*, de função ainda não bem conhecida, são responsáveis pela codificação das proteínas p12, p13 e p30 (FRANCHINI, 1995; SEGURADO, 2000).

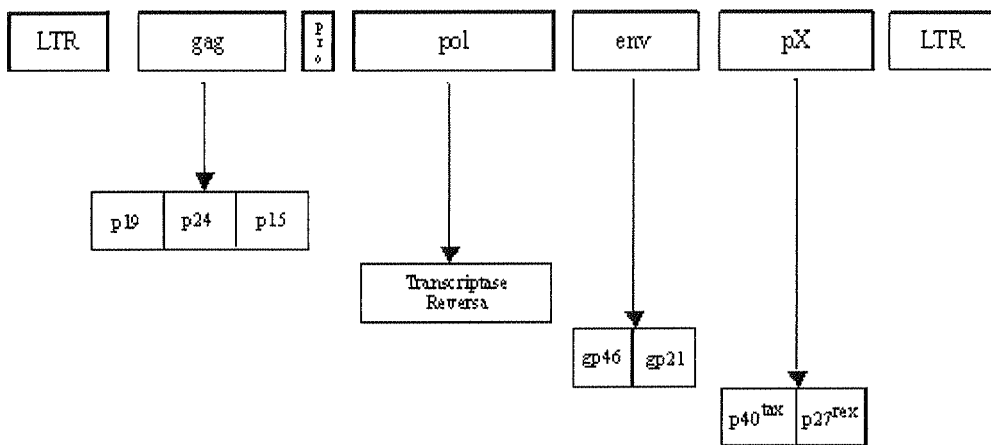


Fig. 1 - Estrutura esquemática do genoma do HTLV-I/II e seus principais produtos

HTLV – MORFOLOGIA E PROTEÍNAS VIRAIS

Os vírus HTLV-I e II são classificados morfológicamente como retrovírus do tipo C. São constituídos de partículas virais esféricas, com aproximadamente 110 a 140 nm de diâmetro, compostas de um *core* eletrodenso, que contém duas cópias de ácido ribonucléico (RNA) de fita única com 8,8 e 9,0 quilobases de tamanho, a enzima transcriptase reversa, as proteínas da matriz viral e o capsídeo protéico, além de um envelope externo composto de glicoproteínas (**figura 2**) (SCHUPBACH, 1989 ; SEGURADO, 2000). A glicoproteína viral externa (gp46), ou de superfície (SU), projeta-se da superfície viral sob a forma de 72 espículas, que se ancoram nas demais estruturas virais por meio da glicoproteína transmembrana (TM), ou gp21 (DELAMARRE, 1996). Essas glicoproteínas do envelope desencadeiam respostas humoral e celular e poderiam ser utilizadas para o desenvolvimento de uma vacina para o HTLV (MARTINS, 2000).

Caracteristicamente, as partículas virais do HTLV-I e II podem ser visualizadas à ultramicroscopia, sendo liberadas através do fenômeno de brotamento junto à membrana plasmática da célula infectada.

Três proteínas formam o núcleo central da partícula viral: a proteína da matriz (MA), que possui um ácido graxo no seu terminal amino e cuja presença determina uma modificação característica de muitas proteínas que se situam na face interna da membrana celular; o capsídeo (CA), que constitui o *core* da partícula viral e que abriga no seu interior o genoma viral representado por duas fitas de RNA; e por último, o nucleocapsídeo (NC), formado por pequenas proteínas básicas.

Proteínas presentes no interior do capsídeo, como a transcriptase reversa e a integrase, são essenciais no processo de integração do DNA proviral no genoma da célula hospedeira (COFFIN, 1990 ; COFFIN, 1996; SEGURADO, 2000).

A atividade da transcriptase reversa se dá no citoplasma da célula hospedeira. É responsável pela remoção da fita do RNA molde, após a síntese da cadeia de DNA por degradação seletiva do RNA de molécula híbrida DNA-RNA.

A integrase é responsável pela integração do DNA viral ao genoma da célula hospedeira, por clivagem do DNA da célula e sua ligação com o DNA viral.

A protease viral atua sobre as cadeias poliprotéicas, clivando-as para formar proteínas estruturais maduras encontradas na partícula viral. Esta clivagem é altamente específica levando à separação das proteínas gag e pol (NAM, 1988; SALEMI, 1999).

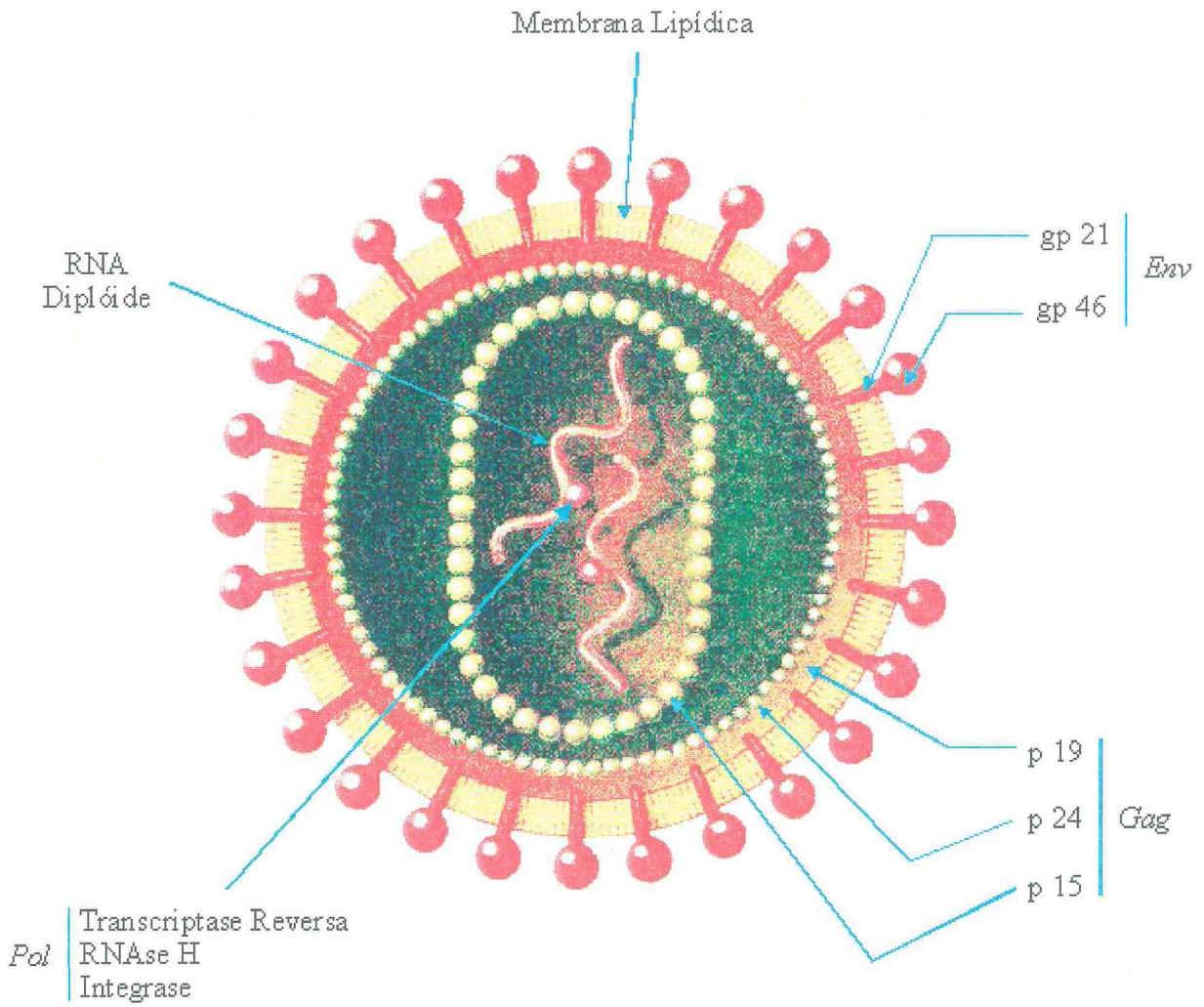


Fig. 2 - Representação esquemática da estrutura e composição da partícula viral do HTLV-I

HTLV: CICLO DE REPLICAÇÃO

O vírus HTLV é pouco replicativo e, *in vivo*, a amplificação viral deve-se principalmente à expansão oligoclonal de células infectadas, via mitose celular, do que à transcrição reversa (CIMARELLI, 1996 ; SANTOS, 2001).

Diferentemente de outros vírus oncogênicos que apresentam um oncogene integrado num sítio específico do genoma da célula hospedeira, o HTLV-I é randomicamente integrado no DNA humano. As células malignas, sem exceção, são monoclonais com respeito à integração do DNA proviral (YOSHIDA, 1980 ; SEIKI, 1984).

O ciclo de replicação se caracteriza pelas seguintes fases (figura-3):

1) Invasão de linfócitos CD4+ por partículas virais, pelo reconhecimento do receptor viral na superfície da célula-alvo. A ligação do vírus ao receptor de superfície membranar depende da interação entre a proteína do seu envelope (gp46) e um receptor de superfície, até o momento desconhecido. No entanto, pode-se afirmar que a molécula CD4 + certamente não é o receptor de superfície envolvido nesse processo (SEGURADO, 2000).

2) Penetração do *core* viral no interior da célula, mediada pela proteína transmembrana (gp21) e liberação de material genético no citoplasma do linfócito infectado.

3) Transcrição do genoma viral de RNA para DNA. O genoma viral de RNA sofre ação da enzima transcriptase reversa (TR), codificando uma molécula de DNA complementar. Durante esse processo, o RNA genômico é removido pela atividade RNase da TR.

4) Integração do DNA viral ao DNA da célula do hospedeiro, por ação da enzima integrase. Essa integração se dá ao acaso e não é feita em sítios específicos. O genoma viral integrado passa a ser denominado DNA proviral e será passível de replicação, quando da divisão celular e de transcrição sob ação de estímulos endógenos ou exógenos.

5) Síntese de RNA viral pela maquinaria celular tendo como DNA molde o provírus integrado. A transcrição viral produz inicialmente moléculas de RNA mensageiro, capazes de codificar a síntese de proteínas reguladoras da replicação viral, dentre as quais, p40tax, que é um potente transativador do promotor viral (SEIKI, 1986; SODROSKI, 1985), e p23rex. Com acúmulo de p23rex, ocorre formação de RNA mensageiro genômico, capaz de codificar as proteínas estruturais da matriz, do *core* e do envelope e, conseqüentemente, propiciar a formação de novas partículas virais.

6) A partícula viral madura emerge da superfície celular por brotamento, carregando consigo parte da membrana celular bilipídica como constituinte de seu envelope. Esse vírus que é brotado está apto para uma nova infecção (TANGY, 1996).

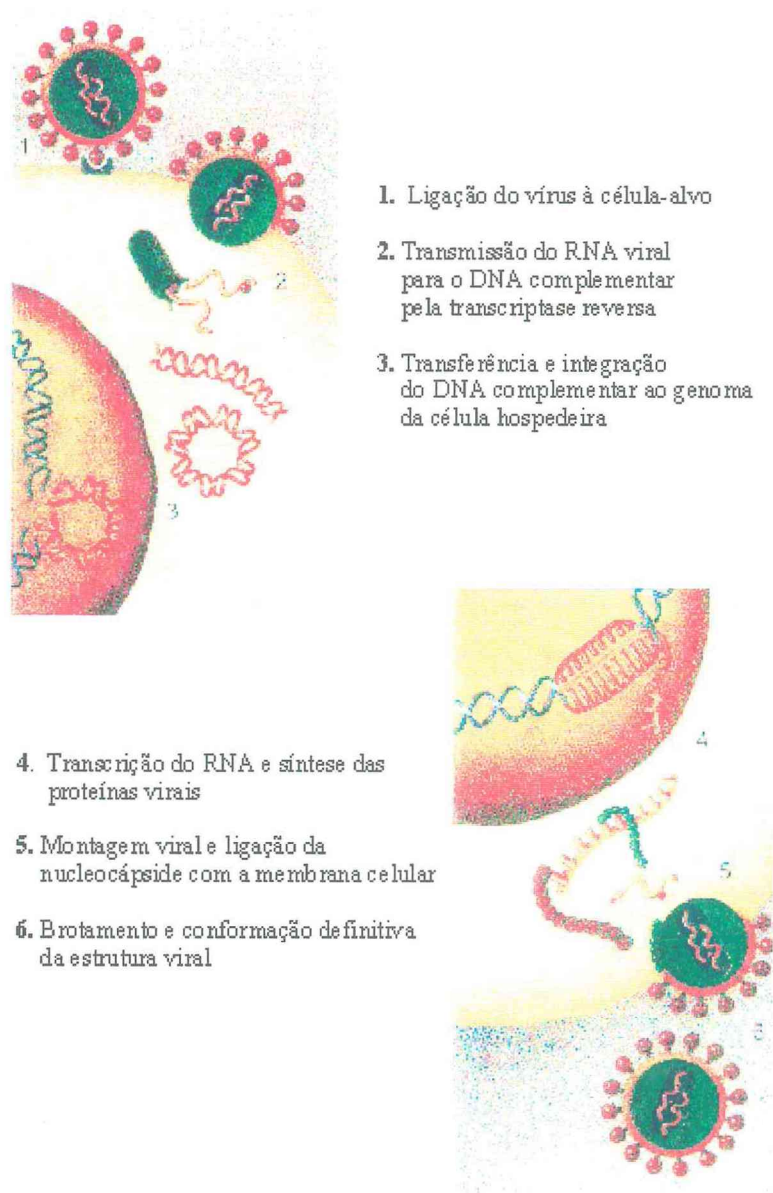


Fig. 3 – Representação esquemática do ciclo replicativo de um retrovírus humano

HTLV: FORMAS DE TRANSMISSÃO

O HTLV infecta linfócitos T e eventualmente monócitos por transmissão célula a célula. Não se observam partículas livres no sangue ou em outros fluidos biológicos de pacientes infectados, ao contrário do que acontece em pacientes portadores do HIV. Esse fato justifica a menor infectividade desse vírus, quando comparada à do HIV (SEGURADO, 1999). Um estudo realizado em Trinidad-Tobago detectou associação da infecção pelo HTLV com más condições de habitação e proximidade à água, levantando a possibilidade de interferência de fatores ambientais na transmissão dessa infecção (MILLER, 1986).

As vias de transmissão desses vírus são as mesmas que o HIV, entretanto de forma menos eficiente, devido à maior dependência da presença de células para transmissão.

1) TRANSMISSÃO MATERNO-INFANTIL: aproximadamente 2 a 5% das infecções pelo HTLV-I por toda a vida estão associadas à transmissão materno-infantil (SUGIYAMA, 1986; LANGHORN, 2000). Essa forma de transmissão ocorre no período pré-natal (via transplacentária) ou pós-natal (através do leite materno). Transmissão intra-uterina e durante o parto são possíveis.

O período pré-natal representa 1 a 2% de todas as infecções, enquanto, a amamentação pode representar até 15% (KOMURO, 1983; HINO, 1985; LANGHORN, 2000). O aleitamento materno contribui para a maioria das transmissões perinatais (ANDO, 1987; ANDO, 1993). Crianças amamentadas artificialmente apresentaram uma taxa de soroconversão de 1 a 2%, enquanto as com aleitamento materno apresentaram 20% (SUGIYAMA, 1986).

2) TRANSMISSÃO SEXUAL: esta forma de transmissão tem sido demonstrada em estudos de casais com vida sexual ativa. Transmissão homem-homem, mulher-homem e homem-mulher já foram documentados. O padrão de transmissão homem-mulher é o mais eficiente, no entanto são necessárias várias exposições para produzir a soroconversão, já que a probabilidade de transmissão pelo ato sexual é relativamente baixa.

Kajiyama e colaboradores em estudos com casais observaram que a eficácia da transmissão homem-mulher foi de 60,8% durante um período de 10 anos de relacionamento sexual, comparado a 0,3% de eficiência da transmissão mulher-homem (KAJIYAMA, 1986). Essa diferença reflete a baixa eficácia da transmissão mulher-homem, exceto na presença de fatores que rompam a integridade das barreiras mucosas normais (LANGHORN, 2000). A

concomitância de outra doença sexualmente transmissível com manifestações genitais ulcerativas amplia o risco de transmissão do HTLV-I (MURPHY, 1989).

Parceiros com sorologias discordantes e com relacionamento sexual de longa duração podem apresentar soroconversão tardia, o que pode ser parcialmente explicado pelo aumento progressivo da carga viral que ocorre com o passar do tempo. Esse achado foi documentado através de PCR quantitativo. A presença de anticorpos anti-tax também está associada a uma transmissão mais elevada (CHEN, 1991).

3) TRANSMISSÃO POR TRANSFUSÃO: transfusões de componentes celulares estão associadas à transmissão do HTLV-I e II. Devido ao risco de transmissão e à sua importância para a saúde pública, o teste para detecção de anticorpos anti- HTLV-I e II no sangue doado visa interromper a transmissão do vírus por meio da administração de sangue e hemocomponentes. Em 1986, o Japão foi o primeiro país a iniciar a triagem sorológica para o HTLV em bancos de sangue. Em 1988, a triagem sorológica para o HTLV passou a ser obrigatória em doadores voluntários americanos. Na França, o teste tornou-se obrigatório em 1991; e na Holanda, em 1993. No Brasil, a portaria 1.376, editada pelo Ministério da Saúde em 19 de novembro de 1993, obrigou a realização do teste anti- HTLV-I e II em todos os doadores de sangue do país (ALQUÉZAR, 2000).

A triagem obrigatória em bancos de sangue passou a classificar os doadores em três categorias: soronegativos, aptos para a doação; soroindeviduados e os soropositivos, inaptos para doação. Conseqüentemente, uma demanda crescente por assistência médica especializada surgiu por parte de indivíduos soropositivos, com a infecção, mas sem a doença. O diagnóstico laboratorial deve ser preciso e confirmatório. Na maioria dos centros de captação de doadores criaram-se serviços especializados para orienta-los quanto ao risco de desenvolver uma das doenças associadas e seguimento desses doadores com sorologia positiva ou indeterminada.

Aproximadamente 50% dos receptores de uma unidade positiva para o HTLV-I soroconvertem (OKOCHI, 1984). Apenas os hemoderivados que contêm componentes celulares são capazes de transmitir o vírus, ou seja, a transfusão de plasma ou crioprecipitado não está associada à transmissão (MANNS, 1991). Provavelmente devido à perda da viabilidade leucocitária, sangue total ou concentrados celulares têm menor chance de infectividade se armazenados por longos períodos (MANNS, 1992; ALQUEZAR, 2000).

A transmissão do HTLV-I e II por componentes celulares foi bem documentada no Japão, onde ocorreu taxa de soroconversão de 63% (26/41) em receptores desses produtos

contaminados com o vírus. O tempo de soroconversão variou de 20 a 50 dias após a transfusão. Não foi observada soroconversão em receptores de plasma fresco contaminado (OKOCHI, 1984). O risco de doar sangue no período de janela imunológica, após teste sorológico negativo, foi estimado em 1:640.000 entre doadores americanos (SCREIBER, 1996).

4) TRANSMISSÃO POR AGULHAS E SERINGAS CONTAMINADAS: o uso compartilhado de seringas e agulhas contaminadas, é presumivelmente o fator responsável pela alta soroprevalência para esse vírus entre usuários de drogas ilegais intravenosas (UDIV). Entretanto, poucos estudos apresentam dados quantificando essa associação.

Amostras de soros de 560 UDIV entre 1972 e 1976 foram testadas para o HTLV-I e II nos Estados Unidos. Dessas, 68 foram positivas para HTLV-I e II, e 36 foram classificadas como indeterminadas. Nenhum desses soros demonstrou soropositividade para HIV. Assim sendo, a infecção pelo HTLV-I e II parece ser relativamente mais antiga que a infecção pelo HIV entre UDIV nos EUA (BIGGAR, 1991). Em Nova Orleans, soro de 121 UDIV foram testados para HTLV-I e II. Desses, 23 amostras foram positivas e, quando testadas por PCR, 21 foram identificadas como HTLV-II, e 2 como HTLV-I (LEE, 1989). A maioria das transmissões por essa via envolve o HTLV-II (LANGHORN, 2000).

A soroprevalência para HTLV-I e II entre UDIV, quando comparada àquela relatada por outras vias, indica que essa população está em maior risco, sendo importante reservatório para esse vírus (PROIETTI, 1994).

HTLV: EPIDEMIOLOGIA

A maioria dos estudos de prevalência para o HTLV-I e II tem considerado grupos específicos como doadores de sangue, gestantes, pacientes atendidos em clínicas de doenças sexualmente transmissíveis e usuários de drogas injetáveis.

O vírus HTLV-I tem distribuição geográfica esparsa e características epidemiológicas bastante específicas, enquanto o tipo II parece ser um vírus predominante do hemisfério ocidental.

A prevalência do HTLV-I e II varia de forma significativa com a região geográfica, o grupo racial e a subpopulação de risco (LANGHORN, 2000). A infecção por esse retrovírus

apresenta um padrão epidemiológico que se caracteriza por (TAJIMA, 1982; KAJIYAMA, 1986; MURPHY, 1987; SARIM, 1990):

1)AUMENTO DA SOROPREVALÊNCIA COM A IDADE: há um aumento consistente em praticamente todas as áreas estudadas. A prevalência em crianças é baixa, sendo observada uma inclinação ascendente com a idade. O aumento da soroprevalência idade-dependente em homens e mulheres começa na adolescência, decresce no homem por volta dos 40 anos e continua a aumentar nas mulheres. Explicações para esse fenômeno incluem a reativação de infecção latente ao longo da vida e taxas decrescentes de infecção em coortes de pacientes mais jovens, dando a impressão de taxas ascendentes nas coortes de pacientes mais velhos (MOROFUJI, 1993; LANGHORN, 2000).

Taxas de novas infecções pelo HTLV-I em coortes de pacientes mais jovens no Japão apresentam-se em declínio e possíveis explicações para isso são a melhoria das condições sócio-econômicas e nutricionais, mudanças nos padrões de amamentação, eliminação de fatores ambientais que facilitam a transmissão e decréscimo de outras doenças sexualmente transmissíveis (BLATTNER, 1986; UEDA, 1989; LANGHORN, 2000; SANTOS, 2001).

2)SOROPREVALÊNCIA MAIS ELEVADA EM MULHERES, ACENTUADAMENTE APÓS 40 ANOS: para o aumento de soropositividade no sexo feminino, deve-se considerar a dinâmica da infecção, que pode ter características próprias em áreas distintas. Possíveis explicações para esse fato são a maior eficácia da transmissão sexual homem-mulher e a maior frequência de transfusões sanguíneas em mulheres (KAPLAN, 1996).

3)AGRUPAMENTO DA INFECÇÃO EM ÁREAS DEFINIDAS NO MUNDO: a capacidade do vírus se apresentar de forma endêmica em grupos raciais diferentes reflete a tendência de agrupamento de infecção, e não uma predisposição genética para adquirir o vírus. Entretanto, o fator genético parece ser importante no desenvolvimento de patologias associadas nos pacientes infectados. (MORI, 1988; MALONEY, 1989).

O HTLV-I afeta 10 a 20 milhões de pessoas em todo o mundo (EDLICH, 2000). É endêmico na África Central e Ocidental, Caribe com soroprevalência de 4-6%, Melanésia/Austrália, Japão, onde até 18% da população adulta apresenta anticorpos, na região sudeste dos Estados Unidos e em algumas partes da América Central e do Sul (SOARES, 2000; VERONESI, 2000) (**figura-4**). Positividade ocasional, inferior a 1%, tem sido detectada em estudos realizados em outros países da Ásia, e os indivíduos soropositivos

apresentam ligações ancestrais com o Japão (HINUMA, 1983; ZENG, 1984; ISHIDA, 1985; CHEN, 1996 ; ASHER, 1988).

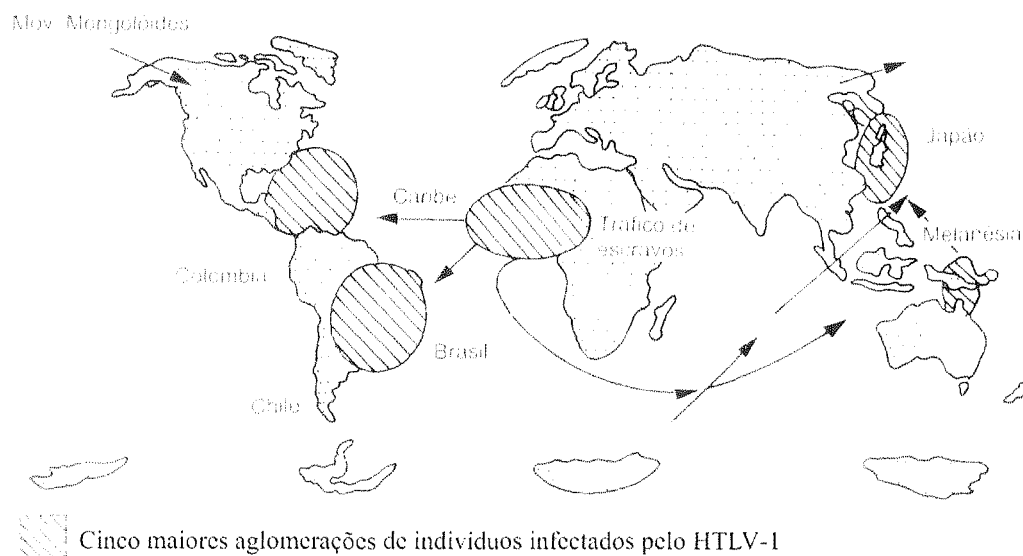


Fig. 4 - Origem e distribuição do HTLV nos cinco continentes

Na Melanésia foi relatada soroprevalência cerca de 14% para HTLV-I e II (YANAGIHARA, 1990).

Vários países da África apresentaram taxas elevadas de soropositividade. No entanto, importantes falhas em testes de triagem e confirmatórios falso-positivos têm dificultado a quantificação precisa, pois outras infecções, como a malária, apresentam reações cruzadas com o HTLV-I e II (FLEMING, 1983; LEVINE, 1988; DELAPORTE, 1988).

Na Europa, a infecção pelo HTLV-I e II aparenta ser rara e restrita a imigrantes de áreas endêmicas, hemofílicos, homossexuais e bissexuais. Em estudos realizados com doadores, observou-se que as maiores prevalências foram encontradas na França 0,39/10.000 (COUROUCÉ, 1993), na Holanda 0,2/10.000 (ZAAIJER, 1994), na Alemanha 2,1/10.000 (SCHATZL, 1994), na Suécia 1/50.000 (ANDERSON, 1995) e na Espanha 4/150.000 (SORIANO, 1995).

Nos EUA, a epidemiologia do HTLV-I é caracterizada pela ocorrência paralela de infecção por HTLV-I e II. Os doadores apresentam taxas de soroprevalência de 0,43/1 000, sendo que a metade é de positividade ao HTLV-II (LANGHORN, 2000). Há uma maior freqüência em pessoas de origem caribenha, do sexo feminino e idade mais elevada

(BIANCO, 1990). Vários estudos epidemiológicos foram realizados também em outros países (tabela-2).

Tabela 2 – Prevalência mundial para o HTLV-I e II

LOCAL	GRUPO ESTUDADO	PREVALÊNCIA (%)	AUTOR
Gabão	Habitantes de área rural	9,1	Delaporte, 1988
Gabão	Habitantes de área urbana	5,0	Delaporte, 1988
Venezuela	População geral	6,8	Merino, 1984
Baltimore	UDIV*	7,6	Proietti, 1992
Peru	Prostitutas	7,0	Gotuzzo, 1994
Chile	Doadores	0,73	Vasquez, 1991
Paraguai	Homossexuais	3,4	Zoulek, 1992
Uruguai	UDIV	5,0	Muchinik, 1992
Argentina	UDIV	5,0	Biglione, 1996

UDIV: usuários de drogas intravenosas.

O HTLV II tem sido encontrado entre UDIV nos EUA e na Europa em maior frequência (LEE, 1989; ZELLA, 1990) e entre populações nativas das Américas: índios Seminole, na Flórida; Navajo e Pueblo, no Novo México; Guaymi, no Panamá; no Brasil, Caiapós e Krahos; Wayuus, Guahibo e Tunebo, na Colômbia; Tobas e Mataco, na Argentina, e ainda entre pigmeus na África (GOUBAU, 1992; FROMENT, 1993). O interessante achado de alta prevalência de infecção em comunidades indígenas isoladas de várias regiões do continente americano parece indicar que o HTLV-II convive com a espécie humana desde tempos ancestrais (SEGURADO, 1999).

No Brasil, o HTLV-I e II está presente em todas as regiões, sendo encontrado na população geral, em doadores de sangue e em pacientes com doenças neurológicas e hematológicas. Todos HTLV-I isolados por técnicas moleculares, pertencem ao grupo Cosmopolita, o qual se subdivide: Transcontinental (A), de distribuição mundial, Japonês (B), Oeste africano (C) prevalece na África Ocidental, Caribe e Norte Africano (D). Na população geral foi encontrado o subgrupo Transcontinental (A) e, dentre os imigrantes japoneses, o subgrupo Transcontinental (A) e Japonês (B) (VERONESI, 2000). Poucos isolados

brasileiros, até o momento, tiveram suas moléculas caracterizadas e nenhum teve o seu genoma completamente seqüenciado (COVAS, 2001).

A soroprevalência média entre doadores de sangue do país é de cerca de 0,46% (GALVÃO, 1994; SOARES, 2000) (tabela-3), o que representa um número cerca de 20 a 100 vezes maior do que o relatado para os Estados Unidos e Europa. É provável que a extensão territorial e o número de habitantes da população brasileira justifiquem o maior número absoluto de casos de infecção por HTLV-I e II observado no Brasil (SOARES, 2000).

Tabela 3 – Prevalência do HTLV-I e II em doadores de sangue no Brasil

LOCAL	PREVALÊNCIA (%)	AUTOR
Belo Horizonte	0,32	Proietti, 1994
Belém	1,61	Saraiva, 1989
Fortaleza	0,40	De Castro-Costa, 1996
Florianópolis	0,08	Galvão, 1994
Manaus	0,08	Galvão, 1994
Porto Alegre	0,30 - 0,42	Menna-Barreto, 1995
Recife	0,33	Galvão, 1994
Recife	0,82	Loureiro, 1995
Rio de Janeiro	0,40	Lee, 1989
Rio de Janeiro	0,33	Galvão, 1994
Salvador	1,35	Galvão, 1994
São Paulo	0,40	Gabbai, 1993
São Paulo	0,18	Ferreira, 1995

Em estudo realizado no hemocentro do Ceará (HEMOCE), no período de maio a dezembro de 1994, observou-se soropositividade para HTLV-I e II pelo método ELISA e Western Blot em 61 doadores de sangue. Desses, 13,11% (08/61) apresentaram positividade para HTLV-I, 47,54% (29/61) obtiveram resultado inconclusivo e 39,34% (24/61) obtiveram resultado negativo para o HTLV-I e II (LIMA, 1994).

No hemocentro do Amazonas (HEMOAM), foi realizado estudo, no período de janeiro de 1995 a dezembro de 2001, com doadores de sangue. Foram reativas 1218 (0,57%) bolsas de sangue na triagem sorológica para HTLV-I e II, em um total de 212.589 doações (SILVA, 2002).

HTLV: PATOLOGIAS ASSOCIADAS

Doenças induzidas pelo HTLV-I e II ocorrem após longo período de latência e podem estar relacionadas com o modo de transmissão. Estudos epidemiológicos apontam que o risco de indivíduos infectados por HTLV-I desenvolverem algum tipo de doença em decorrência da infecção é cerca de 1 a 4% ao longo da vida (KAPLAN, 1993).

Embora a maior parte dos indivíduos permaneça assintomática por toda a vida, reconhece-se hoje associação entre o HTLV-I e: 1) alterações hematológicas: síndrome de Sézary, leucemia linfocítica de células B, linfoma não-Hodgkin de células T, leucemia linfocítica granular (ZANINOVIC, 1999); 2) não hematológicas: paraparesia espástica tropical ou mielopatia associada ao HTLV-I (TSP/HAM) (OSAME, 1986; GESSAIN, 1985); 3) síndromes inflamatórias: uveítes (SUGIMOTO, 1993), polimiosite, artrite de grandes articulações, síndrome de Sjögren e dermatopatias, como a dermatite infecciosa e a ictiose adquirida (CHEN, 1996).

A leucemia/linfoma de células T do adulto (ATL) foi primeiramente descrita no Brasil em 1990, por Pombo de Oliveira e colaboradores. É uma doença linfoproliferativa de células T pós-tímicas maduras de curso agressivo (POMBO DE OLIVEIRA, 1996). Desenvolve-se como uma complicação tardia em menos de 2% dos pacientes infectados, o que sugere que o vírus HTLV-I é necessário, mas insuficiente, para o desenvolvimento do fenótipo maligno (SPECTOR, 2001).

A ATL surge a partir da transformação maligna de uma célula previamente infectada pelo HTLV-I. Provavelmente, o clone surge devido a mutações oncogênicas adicionadas a co-fatores extrínsecos. Essas expansões clonais frequentemente apresentam mutações dos genes supressores como p53, P16, P15, (YAMADA, 1997; HATTA, 1997; CERESETO, 1996). A hipótese de que lesões nos cromossomos 9 e 17, onde se encontram os segmentos codificadores e reguladores de diferenciação, crescimento, ativação e supressão celulares (STRANKS, 1995), assim como, a instabilidade genômica, está envolvida na evolução do clone de células T infectadas, até o desenvolvimento da ATL (KAMADA, 1992).

A incorporação do vírus ao genoma das células T ativadas resulta na perpetuação da produção, por estas células, de quantidades aumentadas de interleucina 2 e do seu receptor de superfície (CD25), o que configura um excelente modelo de estimulação celular autócrina como mecanismo leucemogênico (SPECTOR, 2001).

A associação etiológica entre a ATL e o HTLV-I baseou-se em:

1) Relação das áreas de alta incidência da doença àquelas de alta prevalência da infecção.

2) Perpetuação do HTLV-I nos linfócitos T CD4+ humanos.

3) Demonstração do DNA pró-viral do HTLV-I em células neoplásicas de ATL.

4) Detecção em todos os pacientes com ATL de anticorpos anti HTLV-I.

O diagnóstico definitivo da ATL requer a detecção do DNA pró-viral do HTLV-I integrado em sítios variados no DNA das células tumorais (YAMAGUCHI; 1988; YAMAGUCHI, 2000).

As células da ATL denominadas de *flower cells*, apresentam-se com chanfradura nuclear característica e uma tendência a lobulação. Essas células expressam CD2, CD3 e CD4, mas são negativas para CD7 e CD8. Expressam também grande quantidade de CD25 (receptor de IL-2) (CHIATTONE, 2001).

A ATL pode ser classificada clinicamente em: crônica, latente, linfomatosa e aguda. As formas crônica e latente têm um curso clínico arrastado e assintomático, muitas vezes com progressão para aguda. A forma linfomatosa tem um prognóstico melhor, e a aguda se apresenta agressiva, com prognóstico sombrio, tendo sobrevida média menor que dois anos.

A associação entre a soropositividade para o HTLV-I e o quadro de mielopatia progressiva crônica (HAM/TSP) foi primeiramente descrita em 1985 (GESSAIN, 1985; OSAME, 1986). A HAM/TSP é uma mielopatia crônica e progressiva que acomete 1/2000 portadores (SONODA, 1989). Predomina em regiões tropicais e subtropicais, respondendo por cerca de 40 a 60% das mielopatias crônicas (GESSAIN, 1992; OSAME, 1992). Casos de TSP/HAM foram pela primeira vez descritos no Ceará e em São Paulo em 1989 (DE CASTRO-COSTA, 1989; MARTINS-CASTRO, 1989), e posteriormente em outras regiões do país (DE CASTRO-COSTA, 1991; ARAUJO, 1992; LESSA, 1993; ANDRADE-FILHO, 1996; MENNA-BARRETO, 1995).

Duas teorias tentam explicar o desenvolvimento da TSP/HAM:

1) TEORIA AUTO-IMUNE: a infecção pelo HTLV-I provocaria a ativação de células T auto-reativas, estas migrariam para o sistema nervoso central (SNC), onde reconheceriam antígenos presentes nas células gliais resultando na secreção de citocinas, inflamação e destruição tecidual (MENNA-BARRETO, 2000; TAKAYANAGUI, 2000).

2) TEORIA CITOTÓXICA: haveria um ataque citolítico mediado por células T CD8+ contra células do SNC. Os linfócitos T CD4+ infectados penetrariam no SNC, interagindo com células T imunocompetentes. Um processo de destruição de axônio e de mielina seria

desencadeado através da atividade citotóxica ou por liberação de citocinas (HÖLLSBERG, 1995; IJICHI, 1996).

TSP/HAM está associada a um grau variável de disfunções esfíncterianas e sensitivas. Geralmente acomete indivíduos de meia-idade, predomina em mulheres e manifesta-se através de fraqueza espástica progressiva associada à parestesia dos membros inferiores.

A uveíte foi a terceira condição associada à infecção pelo HTLV-I, através de estudos soropidemiológicos e virológicos. É um processo inflamatório da úvea e, dependendo das características anatômicas, pode ser classificado em anterior (íris e no corpo ciliar), intermediária (vítreo e retina periférica), posterior (acomete a coróide) e difusa (acomete o tecido uveal de modo difuso) (YAMAMOTO, 2000). As manifestações oculares da uveíte associada ao HTLV-I foram caracterizadas por opacidades vítreas de grau moderado a grave.

HTLV: DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico sorológico da infecção pelo HTLV-I e II baseia-se na detecção de anticorpos dirigidos contra os antígenos virais. Para investigação laboratorial, podem ser utilizadas metodologias de triagem sorológica como: *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) e aglutinação de partículas de látex ou gelatina (PA). Esses testes não discriminam a infecção pelo HTLV-I ou II. Os métodos específicos servem para confirmação de diagnóstico e são: *Western Blot* (WB), radioimunoprecipitação em gel de poliacrilamida (RIPA/PAGE), *Innogenetics Line Immune Assay* (INNO-LIA). A identificação do antígeno viral é estudo complementar. É utilizada a cultura de células de linfócitos do sangue, órgãos linfóides e líquor e a análise, por biologia molecular, de produtos do seu genoma. Os métodos empregados são: reação em cadeia de polimerase (PCR), amplificação baseada na sequência do ácido nucléico (*NASBA*) e amplificação do sinal do DNA ramificado (*bdNA*).

O teste de ELISA baseia-se na imobilização de um dos reagentes em fase sólida, constituída por antígenos virais, enquanto, outro reagente pode ser ligado a uma enzima com preservação tanto da atividade enzimática como imunológica. Apresenta alta sensibilidade, em torno de 97,3 a 100% e especificidade entre 99,8 a 99,9%. Pode ocorrer reação cruzada entre anticorpos contra HTLV-I e II, mas não contra o HIV. A limitação da técnica de ELISA está na fase de soroconversão, quando pode ocorrer um nível de anticorpos anti-HTLV-I abaixo do limite de detecção, gerando resultados falso-negativos.

O método ELISA de terceira geração utiliza como antígeno o lisado viral e proteínas virais obtidas por tecnologia recombinante ou por síntese de peptídeos. Através desse método, são detectados anticorpos contra as regiões *core* (p24, p19) e envelope (gp21, gp46 e/ou gp61/68) (COUROUCÉ, 1998).

A aglutinação de partículas detecta a presença do anti-HTLV em gelatina ou látex sensibilizados com vírus inativado. A base do teste é a imobilização do antígeno HTLV-I à partícula. A fonte e o tipo de antígeno são os mesmos daqueles utilizados para o ELISA. A reatividade cruzada entre HTLV-I e II é inferior à observada nos testes de ELISA. Uma grande vantagem dessa metodologia reside no fato de que equipamentos caros não são necessários. Esses testes também necessitam de confirmação.

A reação de imunofluorescência indireta (IFI) possui alta sensibilidade e especificidade. O princípio do teste é semelhante ao ELISA. As principais diferenças são os antígenos presentes no suporte sólido e o sistema indicador, que é um fluorocromo. O suporte sólido é constituído por uma lâmina contendo células infectadas com os vírus HTLV. Uma reação positiva indica a presença de anticorpos dirigidos contra o vírus. Ao contrário do teste WB, não identifica anticorpos contra antígenos específicos. Trata-se de teste de triagem rápido, simples e de baixo custo.

A amostra reativa ao teste de triagem é submetida a testes específicos confirmatórios. O mais utilizado para HTLV é o Western Blot (WB). É recurso valioso no diagnóstico de doenças infecciosas, principalmente para detectar a presença de antígeno ou anticorpo. Para o HTLV-I utiliza antígenos obtidos a partir da lise de linfócitos T humanos infectados e pode conter ainda proteínas recombinantes do envelope, específicas para o HTLV-I ou II, além de uma outra proteína recombinante da região transmembrana (rgp 21), contendo epítomos comuns ao HTLV-I e II.

O princípio do teste consiste na incubação de fitas individuais de nitrocelulose, que são extremamente eficientes na adsorção de proteínas, recobertas com antígenos individuais do HTLV em bandas isoladas. Se anticorpos específicos para HTLV-I ou II estiverem presentes nas amostras, estes se ligarão às proteínas aplicadas à fita. Essas proteínas são separadas pelo tamanho por eletroforese e transferidas para uma membrana, onde ficam imobilizadas. Após a lavagem da fita para remoção do excesso do material, os anticorpos ligados especificamente às proteínas do HTLV podem ser visualizados com a adição de IgG anti-humana conjugada com a enzima e o substrato (cromógeno).

Os primeiros testes de WB requeriam com freqüência, a utilização de métodos complementares para confirmação da presença de anticorpos anti-HTLV-I e II. Entretanto, nos últimos anos, foi desenvolvido um novo clone que produz uma proteína mais específica, denominada GD21. Essa proteína, juntamente com uma proteína recombinante de envelope exclusiva do HTLV-I (rgp 46-I) e uma proteína recombinante de envelope específica para HTLV-II (rgp 46II) foram incorporadas ao lisado viral, permitindo diferenciação entre o HTLV-I e II.

Alguns autores sugerem que no WB podem ocorrer reações falso-negativas e que grande número de indivíduos classificados como indeterminados podem, realmente, estar infectados com o vírus HTLV-I ou II. Nesses casos, para confirmação, são utilizadas técnicas moleculares de detecção de ácidos nucléicos (HJELLE, 1991).

A radioimunoprecipitação (RIPA) também é utilizada para a confirmação da infecção. Apresenta melhor sensibilidade, especificidade e capacidade de distinção entre HTLV-I e II. Permite identificar anticorpos contra proteínas de alto peso molecular, especialmente glicoproteínas frágeis, que nem sempre são detectadas pelo WB. Esse método se torna menos difundido e aplicado por usar materiais radioativos de acesso limitado.

A reação baseia-se em incubar o vírus purificado e desintegrado, que tenha crescido em meio de cultura contendo aminoácido radioativo, com a amostra de soro a ser testada. Quando existem anticorpos contra as proteínas virais, são formados complexos que são precipitados e separados eletroforéticamente em gel de poliacrilamida com SDS e, então, submetidos à auto-radiografia, que permite visualizar as bandas radioativas, as quais correspondem à reatividade dos anticorpos presentes no soro (FERREIRA, 2000).

O teste confirmatório com o INNO-LIA é uma técnica recente, semelhante ao WB, que também utiliza antígenos recombinantes e peptídeos derivados de proteínas dos vírus HTLV-I e II (SABINO, 1999).

A cultura celular é um método sensível de identificação de antígeno viral. É utilizada para isolamento do HTLV-I e II nas células mononucleares do sangue periférico, no líquido, ou nas células de órgãos linfóides infectados. O princípio baseia-se na análise do sobrenadante da cultura de células específicas, estimuladas quanto à presença de antígeno p24. Essa metodologia requer mais tempo, por isso é indicada em menor proporção (KITAMURA, 1993).

Em casos de reações indeterminadas ou inconclusivas nos testes de triagem ou confirmatórios, outras metodologias baseadas em técnicas moleculares de detecção de ácidos

nucléicos (DNA ou RNA) tornam-se necessárias. Essas tecnologias utilizam sondas específicas (*primers* ou iniciadores) durante a fase de amplificação enzimática do DNA/RNA, atribuindo-lhes alta sensibilidade e especificidade na detecção e discriminação da infecção pelo HTLV-I e II. Essas técnicas não dependem da formação de anticorpos e permitem que uma pequena quantidade de material genômico viral seja multiplicada antes de ser detectada.

O PCR é uma metodologia baseada na amplificação de ácidos nucléicos. Tornou-se amplamente utilizada não apenas no diagnóstico da infecção pelo HTLV, mas também no diagnóstico de outros agentes infecciosos (DEBIASI, 1999). É capaz de amplificar uma sequência específica de DNA a partir de uma única cópia desta molécula original ou alvo.

O PCR é uma reação cíclica. Na conclusão de cada reação, o sistema retorna automaticamente ao primeiro passo e se repete. O ciclo continua até que um substrato seja totalmente usado ou a reação seja interrompida. Ao final dos ciclos, o segmento de DNA amplificado existe em grande quantidade no tubo de reação e é passível de visualização através da coloração por brometo de etídio, seguida de iluminação com luz ultravioleta. Os produtos finais de um ciclo tornam-se os substratos ou moldes para o próximo ciclo da síntese de DNA. É a única metodologia de ácidos nucléicos, disponível sob a forma de *kit*, para a detecção do HTLV-I e II (FERREIRA, 2000 ; REIS, 1998).

O NASBA é um teste confirmatório que difere do PCR. É uma tecnologia de amplificação de RNA e gera um produto amplificado final que também é um RNA, além do que, todo o processo de amplificação é contínuo e isotérmico (FERREIRA, 2000 ; REIS, 1998).

O bDNA é outra tecnologia disponível para detecção do genoma viral. Ao contrário do PCR e do NASBA, não há amplificação enzimática do DNA/RNA viral. Esta técnica permite apenas a detecção de fragmentos do material genômico (DNA/RNA) viral, mediante um artifício de amplificação do sinal que revela a reação para detecção do ácido nucléico de modo semelhante ao PCR e ao NASBA. A alta sensibilidade é assegurada pelo sistema de amplificação do sinal que revela a reação, e a alta especificidade é garantida pelo uso do conjunto de sondas (FERREIRA, 2000 ; REIS, 1998).

O TECIDO LINFÓIDE

O tecido linfóide é composto por órgãos primários e órgãos secundários ou periféricos. Os primários são os tecidos onde os linfócitos expressam, pela primeira vez, os receptores antigênicos e onde adquirem a maturidade fenotípica e funcional. Nos mamíferos, são a medula óssea, sítio de maturação de linfócitos B, e o timo, onde ocorre a diferenciação dos linfócitos T. Nesses órgãos, a maturação é contínua e independe da exposição prévia a antígenos. Os órgãos linfóides secundários incluem os linfonodos, baço, o tecido linfóide associado às mucosas e à pele, nos quais, ocorrem as respostas imunes aos antígenos.

Os linfócitos incluem três diferentes subpopulações: o linfócito B, o linfócito T e o *natural killer* (NK). Os linfócitos T e B têm como função principal a defesa contra infecções e podem ser diferenciados pela presença de moléculas de glicoproteínas altamente especializadas em sua superfície. São encontrados no sangue, nos órgãos linfóides, nos tecidos e também em locais de inflamação crônica. Caracteristicamente recirculam com um tempo que varia de célula a célula. A vida média de um linfócito em circulação é bastante variada e gira em torno de duas semanas (FALCÃO, 2001).

As células B atuam na produção de imunoglobulinas e correspondem a 5-15% dos linfócitos circulantes. A sua característica principal é possuir moléculas de imunoglobulinas, produzidas endogenamente, inseridas na membrana plasmática, que funcionam como receptores para antígenos específicos.

Os linfócitos T são células efetoras da imunidade celular. Apresentam uma subpopulação que se transforma em linfócitos citotóxicos, capazes de destruir células estranhas ou infectadas por vírus. São células reguladoras da função dos linfócitos B. Sinalizam para a proliferação da célula B, induzindo a produção de anticorpos e diferenciação em plasmócitos ou células de memória. Secretam citocinas responsáveis pela proliferação e diferenciação de macrófagos, eosinófilos e outras células T. Correspondem a 65-80% dos linfócitos circulantes. São subdivididos em T8 ou citotóxicos e em células T4 ou auxiliares. Estas últimas são subdivididas em T auxiliar 1 (Th1) e T auxiliar 2 (Th2), por secretarem diferentes citocinas em resposta à estimulação por IL-2 e IFN- γ ou IL-4, respectivamente (FALCÃO, 2001).

Os linfócitos NK têm a característica de destruir células-alvo sem a participação da molécula do complexo de histocompatibilidade principal (MHC). É um componente do

sistema imune importante na vigilância contra tumores e no controle da resposta linfóide e na hematopoiese (DELVES, 2000).

ONTOGENIA DAS CÉLULAS T

Os linfócitos T sofrem um processo específico de seleção no timo ao longo da vida, apesar da atrofia parcial na adolescência. Os precursores T deixam a medula óssea e entram no timo onde ocorre o rearranjo dos genes responsáveis pelos receptores de células T (TCR). Os TCRs são polipeptídios heterodímeros ligados por pontes dissulfeto e compostos por cadeias α e β , expressos em 90 a 95% dos linfócitos circulantes, e por cadeias γ e δ , expressos em 5 a 10% dos linfócitos. Os TCRs não reconhecem antígenos solúveis e interagem com antígenos ligados a moléculas de apresentação antigênica (MHC). Eles co-existem na membrana em associação com o CD3 e quando entram em contato com o antígeno específico emitem sinal para o interior da célula, desencadeando uma seqüência de mecanismos os quais culminam com a síntese de DNA e a proliferação dos linfócitos (FALCÃO, 2001 ; SOARES, 2001 ; DELVES, 2000).

O primeiro antígeno que tem expressão é o CD7 e está presente mesmo antes do TCR estar completamente formado. A presença da enzima transferase do deoxinucleotidil terminal (Tdt) e CD7, sem outros antígenos, é característica de pró-timócitos, que correspondem a cerca de 10% da população linfóide tímica. Esses precursores Tdt e CD7+ sofrem um processo de maturação que resulta na formação de um repertório de linfócitos T funcionais. A ligação de um antígeno específico com uma célula T leva à transformação blástica e a sua expansão clonal (SOARES, 2001 ; FALCÃO, 2001).

A expressão e perda de marcadores permitem caracterizar diferentes etapas de maturação. O precursor CD34+/CD7+ migra para a camada subcapsular do córtex tímico, iniciando a formação dos timócitos subcapsulares ou estágio II, que correspondem a 75-80% das células e são caracterizados pela expressão de marcadores CD7, CD2, CD1 e CD5 e co-expressão ou ausência de CD4 e CD8. Nesta fase o CD3 é intracitoplasmático (FALCÃO, 2001 ; SOARES, 2001 ; DELVES, 2000).

Os timócitos medulares ou estágio III expressam CD7, CD2, CD5, CD3 de superfície e CD4 ou CD8, caracterizando o imunofenótipo maduro. O CD4 estabiliza a interação entre o linfócito T e as células apresentadoras de antígeno, através da ligação específica com a

molécula de classe II do MHC. Funciona como células auxiliares na regulação de outras respostas celulares e desempenha um papel crítico no desenvolvimento tímico das células T. É o marcador de superfície celular que facilita a identificação imunocitoquímica dos linfócitos T auxiliares na maioria dos linfomas não Hodgkin, na leucemia de células T do adulto, nos linfomas T periféricos, bem como, na micose fungóide. É o receptor celular para o vírus da imunodeficiência adquirida. O CD8 atua como receptor para moléculas de classe I do MHC, estabilizando as interações da célula T com as células apresentadoras de antígenos. Medeia a citotoxicidade contra vírus (ABBAS, 1998; PEAKMAN, 1999; SPECTOR, 2001). O CD8 é capaz de destruir alvos que expressam antígenos específicos, células infectadas por vírus, na rejeição de enxertos de tecido estranho e em resposta imunológica a antígenos de tumores. Nas infecções virais como citomegalovírus e Epstein Bar existe um progressivo aumento dessa população CD8+, também observado no HIV. O decréscimo dessas células ativadas ocorre concomitantemente ao declínio da infecção, porém, no HIV, a linfocitose CD8+ não diminui, refletindo uma persistente estimulação imune por este vírus.

Diversas moléculas da superfície celular, que não estão expressas caracteristicamente sobre as células em repouso, têm sua expressão induzida após ativação pelo antígeno ou um estímulo artificial. Essas moléculas são o receptor para a interleucina-2 (IL-2R), a principal citocina responsável pela ativação e proliferação do linfócito T, o receptor da transferrina e moléculas da classe II do MHC (PEAKMAN, 1999).

Em indivíduos sadios, aproximadamente 65% dos linfócitos T periféricos expressam CD4+, e 35% expressam CD8+. A identificação dessas moléculas, através de anticorpos monoclonais, é de importância na evolução e tratamento de uma série de doenças inflamatórias, especialmente infecções pelo HIV. A quantificação das células T CD4+ na síndrome da imunodeficiência adquirida está diretamente relacionada com a progressão da doença. É um instrumento útil na avaliação do prognóstico e da sobrevivência dos pacientes.

A relação das células CD4+/CD8+ é um importante recurso para avaliar imunodeficiências, como também, para se determinar se um infiltrado de células T é reacional. São aceitos valores de 1,2 a 3,1 para essa relação em indivíduos sadios imunocompetentes (OLIVEIRA POMBO, 1993). Quocientes alterados dessa relação costumam ser usados como parâmetros clínicos para disfunção imune celular (ABBAS, 1998).

Nos portadores do HTLV-I assintomáticos, existem evidências de comprometimento funcional da resposta imune celular. Esse fato pode favorecer a infecções oportunistas por

fungos, *P. carinii*, herpes zoster, meningite criptocócica e por *Strongyloides stercoralis* (NAKADA, 1984; YAMAGUCHI, 1988; HAYASHI, 1997; SOARES, 2000). Este parasita estimula a proliferação oligoclonal das células infectadas pelo HTLV-I e essa proliferação é responsável pelo menor período de incubação, observado em pacientes com ATL (LOUREIRO, 2001).

Considerando que o perfil imunofenotípico de células linfóides no sangue periférico reflete o desempenho do sistema imune de um indivíduo, que o vírus HTLV tem tropismo pelo linfócito T e o papel desta célula na regulação das respostas imunes, buscou-se com esse estudo, avaliar, através da análise laboratorial, o comportamento dos linfócitos T em indivíduos infectados pelo HTLV-I, sintomáticos e assintomáticos.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

GERAIS

- 1) Definir a prevalência da infecção pelo Vírus Linfotrófico de Célula T Humana (HTLV) na população de candidatos a doação de sangue nos últimos cinco anos (1997 a 2001).
- 2) Definir o percentual de casos confirmados para o Vírus Linfotrófico de Célula T humana tipo I (HTLV-I) na população de candidatos a doação de sangue no ano de 2001.
- 3) Caracterizar o perfil imunofenotípico das subpopulações dos linfócitos T circulantes em indivíduos soropositivos para HTLV-I sintomáticos e assintomáticos.

ESPECÍFICOS

- 1) Verificar a distribuição por sexo, faixa etária e parâmetros hematológicos nos indivíduos sadios, portadores sintomáticos e assintomáticos.
- 2) Quantificar as células CD3+, CD4+ e CD8+ nos três grupos estudados.
- 3) Calcular a relação CD4+/CD8+ nos três grupos avaliados.
- 4) Avaliar possível associação entre distribuição da faixa etária, parâmetros hematológicos e perfil imunofenotípico nos grupos estudados.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL

O projeto foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da UFC. O estudo de prevalência para infecção pelo HTLV-I e II na população de doadores do Centro de Hematologia e Hemoterapia (HEMOCE), unidade pertencente a Hemorrede do Estado do Ceará, no período compreendido entre 1997 a 2001, foi realizado a partir de dados colhidos no setor de sorologia.

O candidato à doação soropositivo no teste de triagem para HTLV é, habitualmente, convocado pelo serviço social do HEMOCE para nova coleta. A nova amostra é processada em duplicata pela metodologia do ELISA e confirmada pelo WB, caso permaneça positiva. Os indivíduos soropositivos são encaminhados ao ambulatório de HTLV do HEMOCE e, posteriormente, aos ambulatórios de neurologia, dermatologia e oftalmologia do Hospital das Clínicas para acompanhamento clínico laboratorial.

A distribuição por faixa etária, parâmetros hematológicos e perfil imunofenotípico foram realizados em 35 pacientes, 24 assintomáticos e 11 sintomáticos, encaminhados para atendimento no ambulatório de HTLV do HEMOCE. O diagnóstico sorológico para HTLV-I, nos testes de ELISA e WB, foi definido nos meses que antecederam à pesquisa, bem como no ano do estudo. Como controles, foram analisados 26 doadores clínica e laboratorialmente aptos para doação. As amostras desse grupo foram obtidas aleatoriamente no setor de imunohematologia.

Após entrevista e consentimento prévio, foram coletados dos casos dados relativos à história familiar, amamentação, história patológica pregressa, doenças sexualmente transmissíveis, transfusão sanguínea, uso de drogas injetáveis e tatuagens. Os dados de interesse foram registrados em protocolo específico (**Anexo 1**).

METODOLOGIA

TESTE DE ELISA

Amostra:

Através de punção venosa efetuada assepticamente, utilizando sistema fechado de bolsas plásticas contendo anticoagulante, foram colhidos aproximadamente 450mL de sangue. Duas amostras adicionais foram colhidas: uma, sem anticoagulante, para realização dos testes sorológicos obrigatórios; outra, com o anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), para o setor de imunohematologia.

Anticorpos anti- HTLV-I ou II, quando presentes nas amostras, formam complexos imunológicos, com antígenos do lisado viral purificado de HTLV-I, de HTLV-II e um antígeno recombinante p21 de HTLV-I e II. Os complexos são detectados mediante uma reação enzimática frente a um cromógeno. Ocorre desenvolvimento de cor e essa alteração é monitorada visualmente. A quantificação é realizada por espectrofotometria, através de equipamentos devidamente padronizados. A quantidade de conjugado formado é diretamente proporcional à concentração de anticorpo para HTLV presente na amostra.

O teste de ELISA utilizado foi o ABBOTT MUREX HTLV-I e II (ABBOTT-Laboratórios do Brasil LTDA, 2001). Um ensaio tipo “sanduíche,” com seqüência de antígenos baseado em proteínas transmembrânicas recombinantes e peptídeos sintéticos de proteínas da membrana externa do HTLV-I e HTLV-II, foi utilizado. O conjugado é uma mistura dos mesmos peptídeos de antígenos marcados com peroxidase de rabanete. Os antígenos são selecionados para permitir a detecção de anticorpos IgA, IgG e IgM e otimizar a especificidade e sensibilidade (**figura 5**).

Técnica:

Foram realizadas as seguintes etapas:

- 1) Adição nas cavidades da placa de 50 microlitros da amostra do indivíduo e dos soros controles.
- 2) Incubação das placas por 30 minutos a 37° C.
- 3) Lavagem com solução de glicina/borato, contendo 0,2% de conservante bronidox para retirada dos excessos de anticorpos.

- 4) Adição de 50 microlitros do conjugado a cada cavidade.
- 5) Incubação por 30 minutos a 37°C em condições de umidade.
- 6) Lavagem com solução de glicina/borato, contendo 0,2% de conservante bronidox para retirada dos excessos.
- 7) Adição de 100 microlitros de solução de substrato, contendo 3,3', 5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) e peróxido de hidrogênio.
- 8) Incubação das placas a 37°C por 30 minutos, mantidas ao abrigo da luz solar.
- 9) Adição de 50 microlitros de ácido sulfúrico 0,5M (solução de parada).
- 10) Quantificação da absorbância nos equipamentos.
- 11) Cálculo da absorbância média dos controles negativos.
- 12) Definição do valor do *cut-off*, adicionando 0,2 à média do controle negativo.

Foram consideradas amostras negativas as que apresentaram absorbância inferior ao valor do *cut-off* e amostras reativas as que apresentaram absorbância igual ou maior que o valor do *cut-off*.

As amostras reativas foram re-testadas em nova coleta, em duplicata, usando também a amostra inicial. As amostras repetidamente reativas ao teste de triagem ELISA foram submetidas ao WB (Genelabs Diagnostics), teste de confirmação.

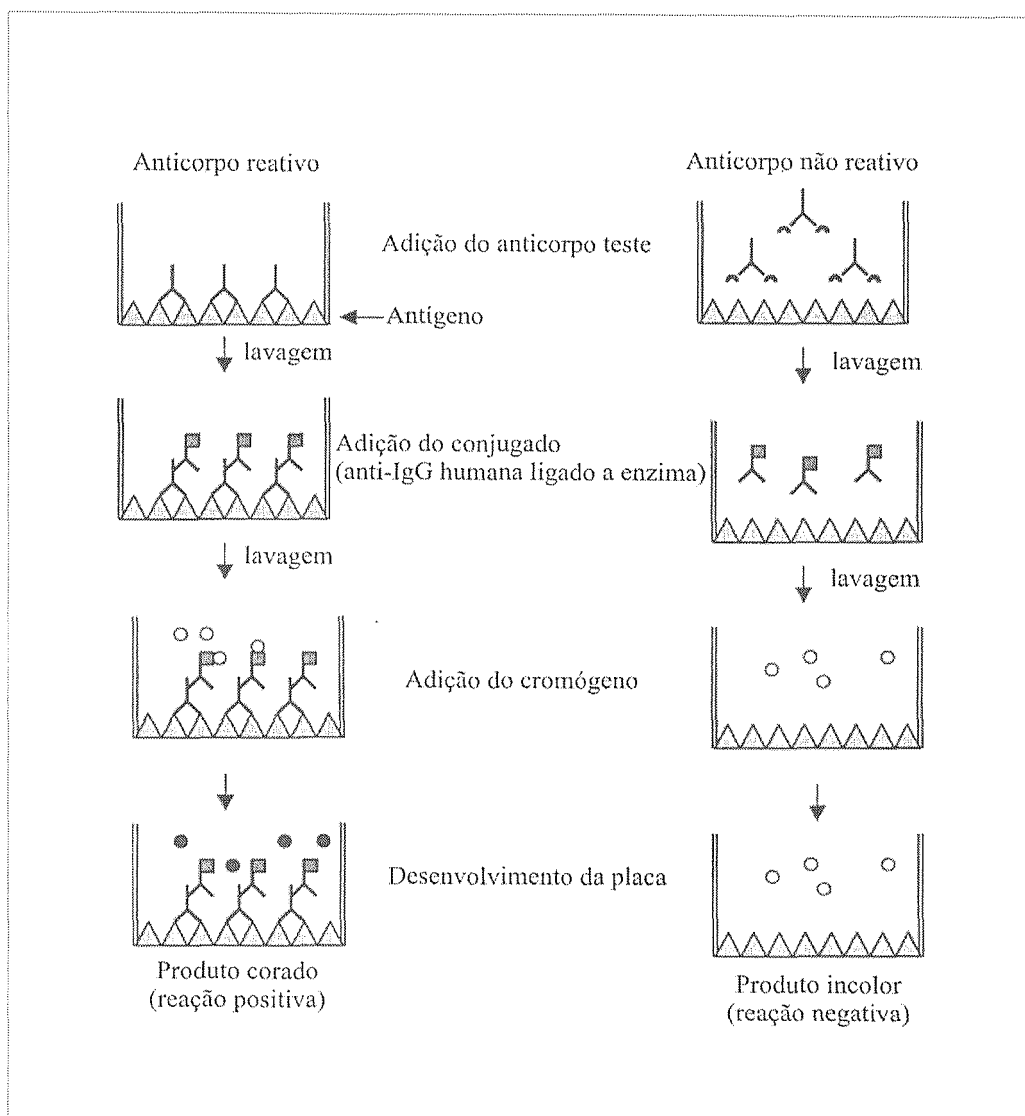


Fig. 5 – Desenho esquemático da reação de ELISA

TESTE DE WESTERN BLOT(WB)

Amostra:

Soro coletado em tubo sem anticoagulante, proveniente de sangue venoso dos indivíduos.

A eletroforese em gel de poliacrilamida em um detergente aniônico é que permite a separação analítica de proteínas por eletroforese pelo tamanho. A mobilidade eletroforética de cada peptídeo é inversamente proporcional ao seu peso molecular. Os peptídeos de alto peso molecular migram mais lentamente do ponto de aplicação da amostra.

Uma vez separadas por eletroforese, a posição das proteínas é determinada por comparação com a migração do padrão de peso molecular, colocado em linha paralela no mesmo gel. As proteínas podem ser transferidas do gel para membranas de nitrocelulose, para obter maior estabilidade e permitir sua posterior extração (REIS, 1998 ; DE CASTRO-COSTA, 1995) (figura 6).

A definição do critério de interpretação é o principal problema com o teste WB e deve obedecer a critérios pré-estabelecidos. O critério de positividade requer reatividade para proteínas gag (p19 e ou p24) e também para antígenos do envelope (rgp21, gp46 ou gp68) ou para antígenos recombinantes (WENDEL, 2000) (tabela 4). Apresentação de reatividades para GD21, p19 e p24 demonstra soropositividade para HTLV. Entretanto, requer investigação pela PCR para distinguir os dois tipos de vírus. Quando ocorre reatividade para GD21, pode-se tratar de uma soroconversão precoce e deve ser posteriormente investigada (MANNIS, 1991)

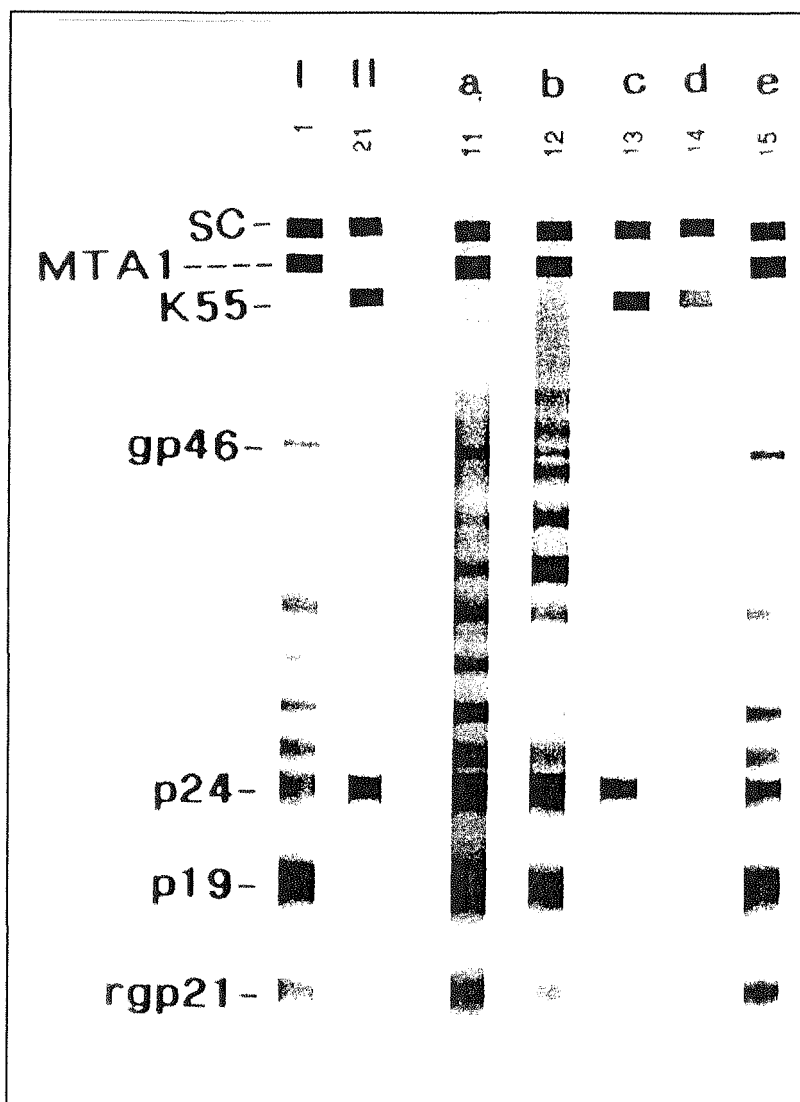


Fig. 6 - Análise do HTLV pelo teste de Western blot. SC: soro controle; MTA1 (rgp 46I) e K55 (rgp 46II), proteínas recombinantes específicas de HTLV-I e HTLV-II, respectivamente, derivadas da glicoproteína do envelope, rgp21, proteína recombinante do envelope de membrana do HTLV-I reagindo com anticorpos contra ambos os tipos; as proteínas virais gp46, p24 e p19 são indicadas por sua massa molecular. Faixas I e II são controles soropositivos para HTLV-I e HTLV-II. Faixas a, b, e, são casos soropositivos para HTLV-I; Faixas c e d são casos soropositivos para HTLV-II (*apud De Castro-Costa, 1995*)

Tabela 4 – Critérios de interpretação dos resultados dos testes de WB

ANTÍGENOS					
GD21	P19	P24	Rgp46-I (MTA1)	Rgp46-II (K55)	RESULTADO
+	+	+/-	+	-	HTLV-I
+	+/-	+	-	+	HTLV-II
+	+	+	-	-	HTLV-I e II (não tipável)
+	-	+	-	-	HTLV ou falso positivo
+	+	-	-	-	Indeterminado
+	-	-	-	-	Soroconversão
-	+	+	-	-	Falso-positivo
-	+	-	-	-	Indeterminado
-	-	+	-	-	Indeterminado

Técnica:

Foram realizadas as seguintes etapas:

- 1) Hidratação das fitas de nitrocelulose contendo as bandas antigênicas do HTLV-I e II com solução Tris-NaCl.
- 2) Incubação das fitas com os soros em estudo.
- 3) Lavagem das tiras de nitrocelulose para retirada do excesso.
- 4) Incubação com anti-IgG humana marcada com enzima (conjugado).
- 5) Lavagem para retirada do excesso do conjugado.
- 6) Adição do substrato 5-Br-4-Cl-3-Indol-fosfato (BCIP) e nitroblue tetrazolium (NBT).
- 7) Visualização da interação antígeno-anticorpo através de bandas coloridas.

A interpretação do resultado para HTLV-I foi baseada na reatividade para duas proteínas env (GD21 e rgp 46-I) e para proteínas gag (p19 com ou sem p24). A reatividade para duas proteínas do env (GD21 e rgp 46-II) e para proteína gag (p24 com ou sem p19) permitiu confirmar o resultado para HTLV-II. O resultado para HTLV soropositivo foi constatado com reatividade para gag (p19 e p24) e env (GD21). O padrão de soroindeterminado é interpretado quando se detectam bandas específicas de HTLV, mas não preenchem os critérios de soropositividade para HTLV-I, HTLV-II ou HTLV e soronegativos quando nenhuma reatividade foi observada.

PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS

Amostra:

Sangue venoso colhido com EDTA.

O hemograma foi realizado no equipamento CELL-DYN 3200 da ABBOTT. Os princípios de operação utilizados consistem na análise óptica multi-angular de raios *laser* hélio néon, na focalização hidrodinâmica e na hemoglobimetria livre de cianeto. Os reagentes utilizados foram: Diluente/Sheath, CN-Free HGB/Noc Lyse, WBC Lyse, todos da ABBOTT.

Técnica:

As amostras foram analisadas da seguinte maneira:

- 1) Homogeneização automática do sangue total, colhido com anticoagulante EDTA, pelo carregador de amostras.
- 2) Aspiração de 220 microlitros da amostra.
- 3) Análise do sangue em 60 segundos.
- 4) Apresentação e impressão do resultado.

Para os parâmetros hematológicos foram considerados os seguintes valores de normalidades:

- 1) Dosagem da concentração de hemoglobina: homens de 13,5 - 18g/dL; mulheres de 11,5 - 16,4 g/dL.
- 2) Valores absolutos de linfócitos de 1000 - 4500 por milímetro cúbico de sangue.
- 3) Valores absolutos de neutrófilos de 2.000 - 7800 por milímetro cúbico de sangue.
- 4) Valores de plaquetas: 150.000-450.000 por milímetro cúbico de sangue.

ANÁLISE IMUNOFENOTÍPICA

A citometria de fluxo permite avaliar quantitativamente a expressão de antígenos em um grande número de células em suspensão num curto período de tempo. É possível detectar a presença de vários antígenos numa mesma célula. Pode ser aplicada na caracterização de subpopulações linfocitárias, determinação de perfil imunofenotípico de populações tumorais,

avaliação do índice de DNA e índice mitótico de células malignas, avaliação enzimática, alterações de pH intracelular, osmolaridade ou concentração iônica e fluxo de cálcio.

O sistema é composto por uma unidade ou câmara de fluxo, um conjunto óptico luminoso, um amplificador e processador de sinais luminosos, além de um sistema integrado de computador. Dispõe de um sistema que gera um fluxo laminar de células de tal maneira que estas passam uma a uma frente a um feixe de *laser* (figura 7). O raio luminoso sofre desvio de acordo com as características da célula e é captado por detectores situados diretamente à frente do emissor de raios *laser* ou a 90° deste. Os sinais captados pelo detector diretamente à frente do feixe luminoso são chamados de *forward light scatter* (FSC) e refletem o tamanho celular, enquanto os gerados pelo detector a 90° (SSC) refletem a granularidade ou a complexidade citoplasmática da célula.

Na citometria de fluxo, os anticorpos estão conjugados a fluorocromos que, ao serem excitados por um feixe luminoso, produzem ondas de comprimento diverso e luminescência de cores diversas. A célula, quando expressa o antígeno em estudo, é marcada com o anticorpo conjugado ao fluorocromo, e a incidência do feixe de *laser* sobre o fluorocromo causa sua excitação e conseqüente emissão de ondas luminosas de diferentes cores e comprimentos. Estas ondas luminosas são filtradas por um sistema óptico e detectadas por células fotomultiplicadoras. Após a aquisição, faz-se a análise dos sinais em computador. São incluídos controles negativos e positivos. Nos controles negativos as amostras são incubadas com imunoglobulina de camundongo de especificidade irrelevante, e nos controles positivos usam-se geralmente anticorpos contra um antígeno sabidamente expresso pelas células estudadas.

É necessário o bloqueio dos receptores Fc da imunoglobulina que são expressos por vários tipos celulares e podem gerar sinais inespecíficos. Isso decorreria da ligação do anticorpo monoclonal à célula por sua porção Fc e não pela Fab, a qual determina a especificidade do anticorpo.

Os anticorpos monoclonais usados são derivados da hibridização de células de mieloma de rato com células de baço de camundongo imunizados com linfócitos T do sangue periférico humano. O clone SK3 de linfócitos T helper - CD4+ e o clone de SK1 de linfócitos T citotóxico - CD8+ são marcados de amarelo laranja e o clone SK7 de linfócitos T CD3+ é marcado de vermelho.

Para contagem das células T no aparelho FACS Count da Becton Dickinson (BD) adicionou-se sangue total aos tubos de reagentes. Anticorpos marcados com fluorocromos se

ligaram ao antígeno de superfície do linfócito. Logo após, uma solução fixadora foi adicionada aos reagentes e estes processados no equipamento. As células passam frente a um feixe de *laser* e, quando marcadas, apresentavam-se fluorescentes. Essa luz é que fornece a informação necessária para o instrumento contar as células.

O sistema requer tubos reagentes aos pares. O primeiro tubo é usado para determinar a contagem absoluta do número de linfócitos T helper/indutor (CD4+/CD3+) e o outro tubo para determinação absoluta do número de linfócitos T supressor/citotóxico (CD8+/CD3+). Ambos quantificam o número total de linfócitos CD3+. A relação CD4+/CD8+ é calculada automaticamente.

O limite de medição do aparelho FACS Count para CD4+ é de 1 - 2000 células por microlitros de sangue, para o CD8+ é de 1 - 2000 e para o CD3+ de 1 - 3500 células por microlitros (FACS COUNT system user's guide, 1995).

Os valores estimados em milímetros cúbicos para subpopulações linfocitárias em indivíduos considerados imunocompetentes foram de 657 a 2010 para CD3+, para o CD4+ de 430 a 1367, para o CD8+ de 205 a 717 e para relação CD4+/CD8+ de 1,2 a 3,1 (OLIVEIRA POMBO,1993).

MARCADOR CD3 (FACS Count reagents – BD)

O complexo CD3, marcador de todas as células T é formado de cinco diferentes cadeias de proteínas transmembranares γ (25-28 kDa), δ (20kDa), ϵ (25kDa), ξ (16kDa) e η (22kDa). A grande maioria dos anticorpos monoclonais reage contra a cadeia épsilon (ϵ). O CD3 é expresso pela maioria das neoplasias de células T e completamente negativo em tumores de outras células.

MARCADOR CD4 (FACS Count reagents – BD)

O CD4+ é uma glicoproteína de 59 kDa que caracteriza as células T auxiliares. Macrófagos também podem expressar esse antígeno.

MARCADOR CD8 (FACS Count reagents – BD)

O CD8 é uma molécula de 32 kDa e que caracteriza as células T supressoras/citotóxicas. Regula a função do complexo CD3/TCR.

Todos os anticorpos são conjugados com fluorocromos em 0,4 de solução tampão e 0,1 de azida sódica (conservante) (FACS Count reagents – catálogo nº 340167). O controle apresenta-se em quatro concentrações (zero, baixo, médio e alto) e contém microesferas embebidas em solução tampão (FACS Count controls –catálogo nº 340166).

Técnica :

As amostras foram analisadas da seguinte maneira:

- 1) Agitação no vortex dos reagentes CD4+/CD3+ e CD8+/CD3+.
- 2) Abertura da tampa do par de reagentes no *coring station*.
- 3) Adição de 50 microlitros de sangue total nos tubos, usando a FACS Count *eletronic pipette*.
- 4) Agitação dos tubos por 5 segundos no vortex.
- 5) Incubação dos tubos por 60 - 120 minutos.
- 6) Pipetagem de 50 microlitros da solução fixadora nos tubos.
- 7) Agitação dos tubos por 5 segundos.
- 8) Contagem imediata das células no FACS Count instrumento.

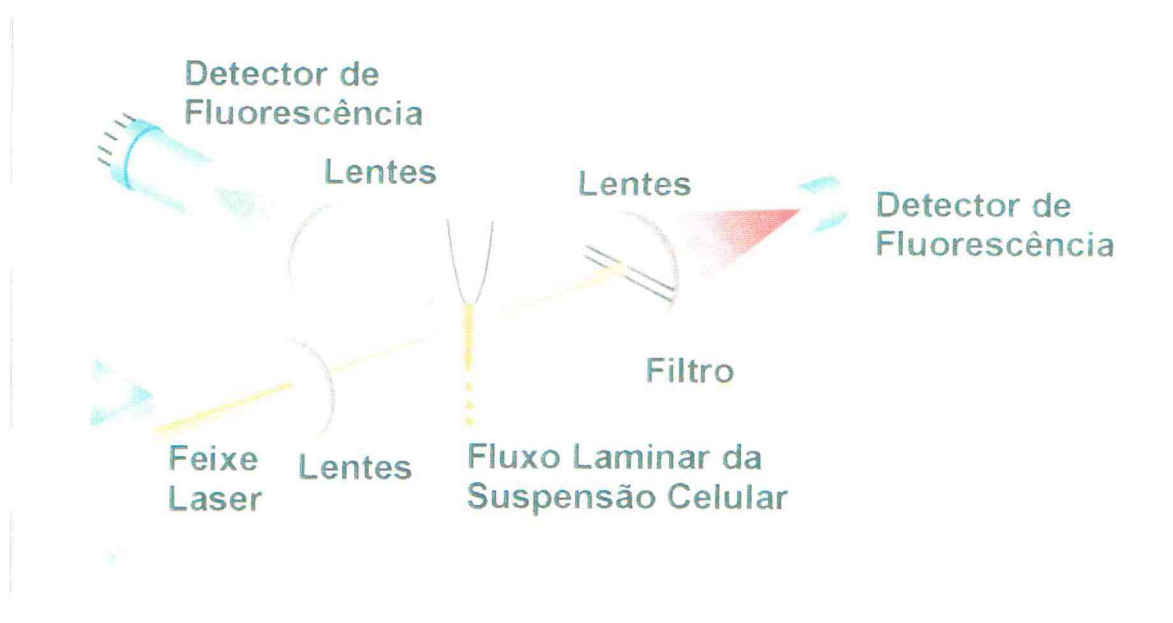


Fig. 7 - Esquema de funcionamento do citômetro de fluxo. O feixe de laser incide sobre um fluxo laminar de células. Aquelas marcadas pelos anticorpos conjugados a fluorocromos emitirão ondas luminosas de diferentes comprimentos, de acordo com o tipo de fluorocromo. Detectores de fluorescência captam as ondas, que serão convertidas a impulsos elétricos, analisáveis por computador (FALCÃO, 2001)

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na análise estatística, realizada no laboratório de Estatística do Departamento de Matemática e Estatística da Universidade Federal do Ceará, utilizaram-se a avaliação descritiva dos dados e o teste exato de Fisher para avaliar a significância de associações entre as variáveis categorizadas. Para avaliar a normalidade da distribuição de variáveis contínuas foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov. A análise de variância no modelo com um fator (grupo) fixo, foi utilizada para testar a igualdade das médias de variáveis contínuas entre os grupos. Nos casos de diferença significativa, o teste de contrastes independentes foi utilizado para comparar os grupos dois a dois.

Como programas de computação, foram usados o Microsoft Word 2000, Microsoft Excel 2000, Word for Windows 7.0 e SPSS for Windows 8, Photoshop 6, Corel Draw 9, FreeHand 8.

O nível de significância (p) máximo de 0,05 foi considerado para definir associações significativas nas análises.

RESULTADOS

RESULTADOS

A prevalência da soropositividade para HTLV-I/II pelo teste ELISA na população geral de doadores (n=264.593) variou de 0,45 a 0,74%, com um valor total de 0,66%, no período de 1997 a 2001 (tabela 5; figura 8):

Tabela 5 - Prevalência da reatividade para o HTLV-I/II pelo teste de triagem ELISA na população geral de doadores do HEMOCE (Hemorrede do Estado do Ceará) no período de 1997 a 2001

ANO	DOADORES	ELISA REATIVOS	PREVALÊNCIA (%)
1997	59.473	349	0,58
1998	61.106	296	0,48
1999	62.326	459	0,74
2000	67.421	324	0,48
2001	73.740	330	0,45
TOTAL	264.593	1.758	0,66

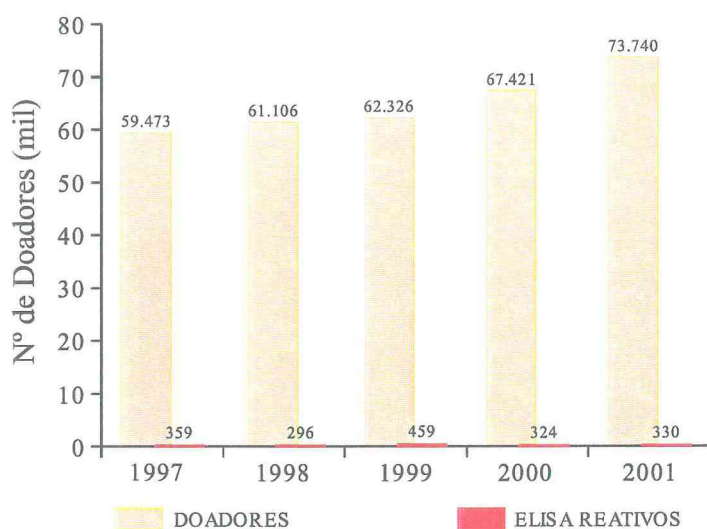


Fig. 8 – Número de doadores reativos para o HTLV-I/II pelo teste ELISA no período entre 1997 a 2001

Dentre os 1.758 casos reativos pelo teste ELISA, 777 (44,2%) foram testados também pelo WB. Desses, 317 (40,8%) evidenciaram resultados positivos, 334 (43,0%) resultados indeterminados e 126 (16,2%) negativos. Observou-se um decréscimo no percentual de casos confirmados nos anos 2000 e 2001 (tabela 6; figura 9)

Tabela 6- Resultados dos testes WB realizados, no período de 1997 a 2001, em indivíduos reativos pelo teste ELISA, provenientes da população geral de doadores do HEMOCE (Hemorrede do Estado do Ceará).

ANO	ELISA Reativos	WB realizados	WB positivos n (%)	WB indeterminados n(%)	WB negativos n(%)
1997	349	178	68 (38,2)	72 (40,5)	38 (21,3)
1998	296	160	87 (54,4)	32 (20,0)	41 (25,6)
1999	459	184	64 (34,8)	112 (60,9)	8 (4,3)
2000	324	158	42 (26,6)	97 (61,4)	19 (12,0)
2001	330	97	56 (57,7)	21 (21,6)	20 (20,6)
TOTAL	1.758	777	317 (40,8)	334 (43,0)	126 (16,2)

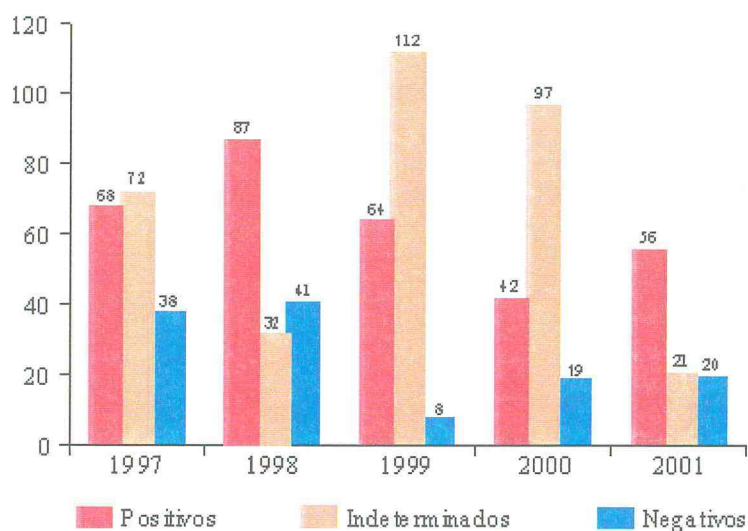


Fig. 9 – Distribuição dos resultados dos testes de WB realizados no período entre 1997 a 2001

Em 2001, ano em que foi realizado o estudo de imunofenotipagem da subpopulação linfocitária, a prevalência para o HTLV-I/II pelo teste de triagem ELISA foi de 0,45%. Dos 330 indivíduos com teste ELISA reativo, 185 (56,1%) corresponderam a doadores provenientes da capital e 145 (43,9%) doadores provenientes do interior (Sobral, Crato e Iguatu).

Noventa e sete pacientes realizaram teste confirmatório WB. Desses, 56 (57,7%) foram positivos. Quarenta e três (76,8%) exibiram perfil eletroforético compatível com o tipo HTLV-I, 7 (12,5%) exibiram perfil característico do tipo HTLV-II. Em 6 casos (10,7%) a definição do tipo não foi possível com os dados analisados (**figura 10**).

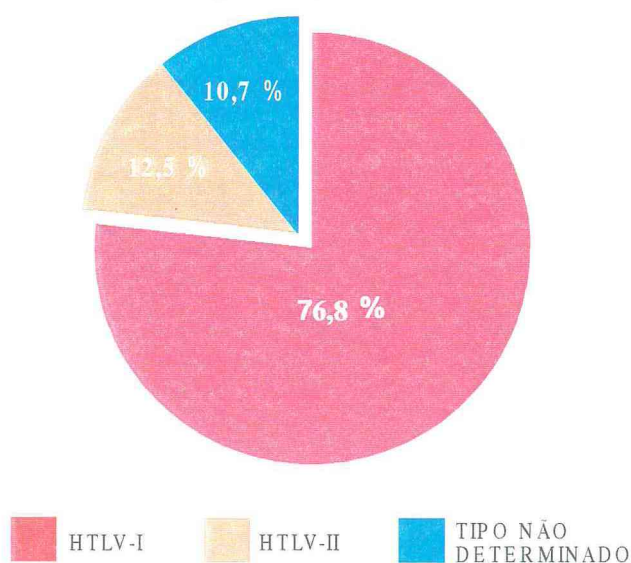


Fig. 10 - Distribuição dos resultados dos testes confirmatórios de WB realizados no ano de 2001

Para a caracterização imunofenotípica das subpopulações de linfócitos T circulantes foram avaliados 35 pacientes com sorologia positiva confirmada para HTLV-I. Dentre esses pacientes, 24 eram assintomáticos e 11 apresentavam sintomas e sinais clínicos neurológicos.

No grupo de pacientes sintomáticos, 6 (54,5%) eram do sexo feminino e 5 (45,5%) do sexo masculino (**tabela 7, figura 11, anexo 2**). A faixa etária variou de 28 a 76 anos, com média de 53,1 anos e desvio padrão de 15,7 anos. O tempo decorrido da detecção da infecção até a realização do presente estudo, foi em média 4 anos. O estadió clínico da doença não foi objeto deste estudo (**tabela 8**).

No grupo de pacientes assintomáticos, 14 (58,3%) eram do sexo feminino e 10 (41,7%) do sexo masculino (tabela 7, figura 11, anexo 3). A faixa etária variou de 19 a 68 anos, com média de 43,7 anos e desvio padrão de 12,9 anos. O tempo decorrido entre a realização do teste de triagem sorológica e a coleta da amostra para o estudo imunofenotípico, variou de seis meses a quatro anos (tabela 8).

O grupo controle era composto por 24 (92,3%) indivíduos do sexo masculino e 2 (7,7%) do sexo feminino (tabela 7, figura 11, anexo 4). A faixa etária variou de 19 a 58 anos, com média de 32,9 anos e desvio padrão de 10,7 anos (tabela 8)

Tabela 7 - Distribuição dos pacientes por grupo em função do sexo.

Sexo	controle		Grupos Positivo assintomático		positivo sintomático	
	n	%	N	%	N	%
Feminino	2	7,7	14	58,3	6	54,5
Masculino	24	92,3	10	41,7	5	45,5
Total	26	100,0	24	100,0	11	100,0

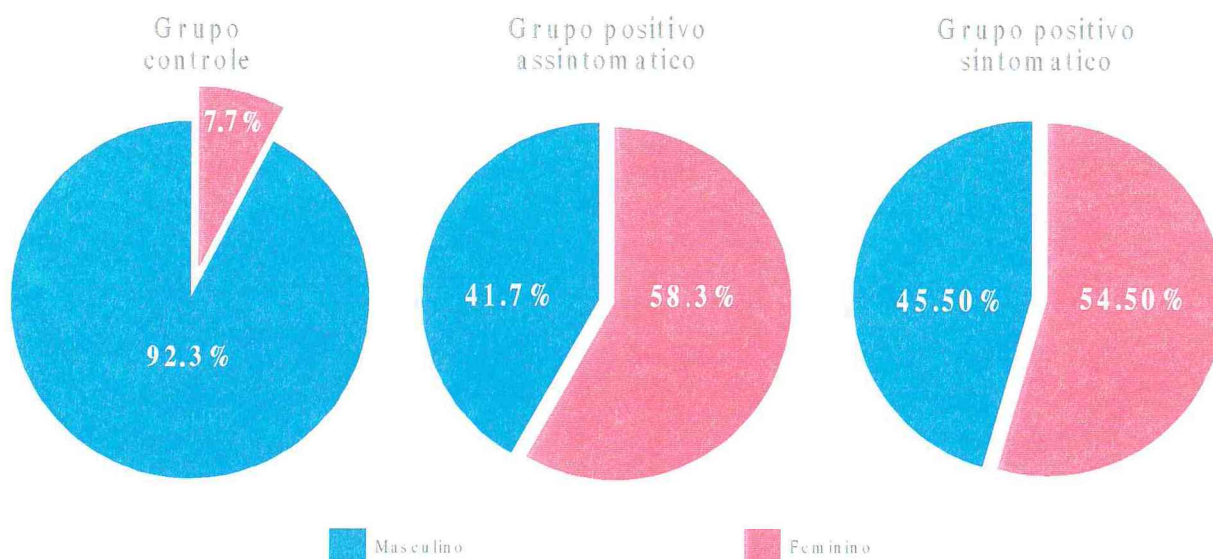


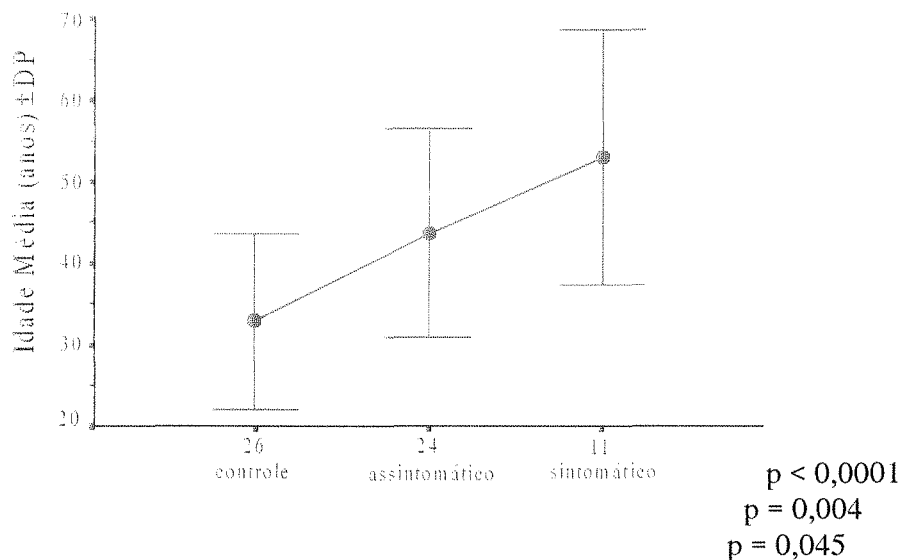
Fig. 11 - Percentagem de indivíduos distribuídos por grupo em função do sexo

Tabela 8 - Distribuição da idade dos indivíduos analisados nos três grupos estudados

	Grupo controle	grupo assintomático	grupo sintomático
Número	26	24	11
Média (anos)	32,9	43,7	53,1
Desvio padrão (anos)	10,7	12,9	15,7
Mínimo (anos)	19	19	28
Máximo (anos)	58	68	76

A análise da distribuição dos casos em função do sexo mostrou um maior percentual do sexo feminino no grupo de pacientes soropositivos quando comparado com o grupo controle ($p < 0,0001$).

A análise dos casos em função da média de idade evidenciou diferenças estatisticamente significativas. O grupo que apresentou menor média de idade foi o grupo controle (32,9). A maior média foi do grupo soropositivo sintomático (53,1). Quando comparados os grupos dois a dois, observou-se $p < 0,0001$ entre o grupo controle e o grupo sintomático. Com o grupo controle e o grupo assintomático evidenciou-se $p = 0,004$. Já com o grupo assintomático e o grupo sintomático observou-se $p = 0,045$ (figura 12 ; anexo 5).

**Fig. 12 - Idade média dos indivíduos nos diferentes grupos estudados**

Na análise dos parâmetros hematológicos, observou-se que todos os casos dos três grupos estudados apresentaram contagem absoluta de linfócitos entre 1.000 e 4.500/mm³. No grupo controle, o valor médio foi de 2.117 com desvio padrão 0,71. No grupo de pacientes assintomáticos a média foi 2.305 e desvio padrão de 0,74. No grupo sintomático a média obtida foi de 2.158 com desvio padrão de 0,64 (tabela 9). A análise de variância dos valores médios da contagem absoluta de linfócitos evidenciou que não existe diferença significativa entre os grupos (p=0,63) (figura 13, anexo 5).

Tabela 9 - Distribuição dos parâmetros hematológicos no sangue periférico de indivíduos do grupo controle e dos grupos soropositivos assintomáticos e sintomáticos.

Grupos	Análise	Linfócitos	Neutrófilos	Plaquetas	Hemoglobina
Controle	Média	2.117	4.015	201.850	15,29
	DP	0,71	1,52	75,70	2,54
Assintomático	Média	2.305	3.848	238.920	13,97
	DP	0,74	1,86	78,28	1,21
Sintomático	Média	2.158	5.350	250.090	13,70
	DP	0,64	1,45	49,32	1,89

linfócitos/mm³; neutrófilos/mm³; plaquetas/mm³; hemoglobina (g/dL)

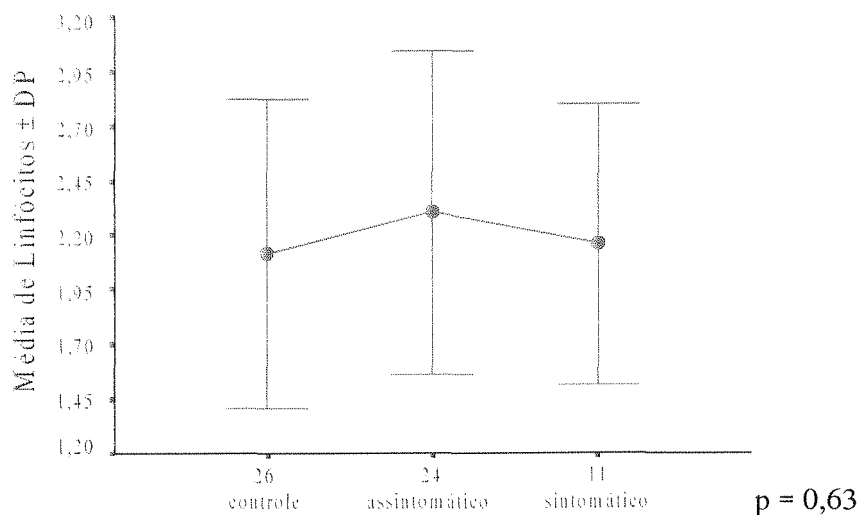


Fig. 13 – Contagem média do número de linfócitos nos diferentes grupos estudados

Vinte e quatro (92,3%) indivíduos do grupo controle, 19 do grupo assintomático (79,2%) e 11 (100%) do grupo sintomático apresentaram o número absoluto de neutrófilos entre 2.000 e 7.800/mm³ (tabela 10) A média observada no grupo controle foi de 4.015 e desvio padrão 1,52. No grupo assintomático, a média foi de 3.848 e desvio padrão 1,86. No grupo soropositivo sintomático a média observada foi de 5.350 com desvio padrão de 1,45 (tabela 9).

Tabela 10- Distribuição dos pacientes por grupo em função do número absoluto de neutrófilos

Neutrófilos (mm ³)	Grupos					
	Controle		positivo assintomático		positivo sintomático	
	N	%	n	%	n	%
< 2.000	1	3,8%	4	16,7%		
2.000 a 7.800	24	92,3%	19	79,2%	11	100,0%
> 7.800	1	3,8%	1	4,2%		
Total	26	100,0%	24	100,0%	11	100,0%

A análise de variância dos valores médios da contagem absoluta de neutrófilos entre o grupo controle e sintomático mostrou diferença significativa ($p=0,02$) e entre o grupo soropositivo assintomático e sintomático ($p=0,01$). Em ambos os casos o grupo soropositivo sintomático apresentou, em média, um número absoluto maior de neutrófilos (figura 14; anexo 5).

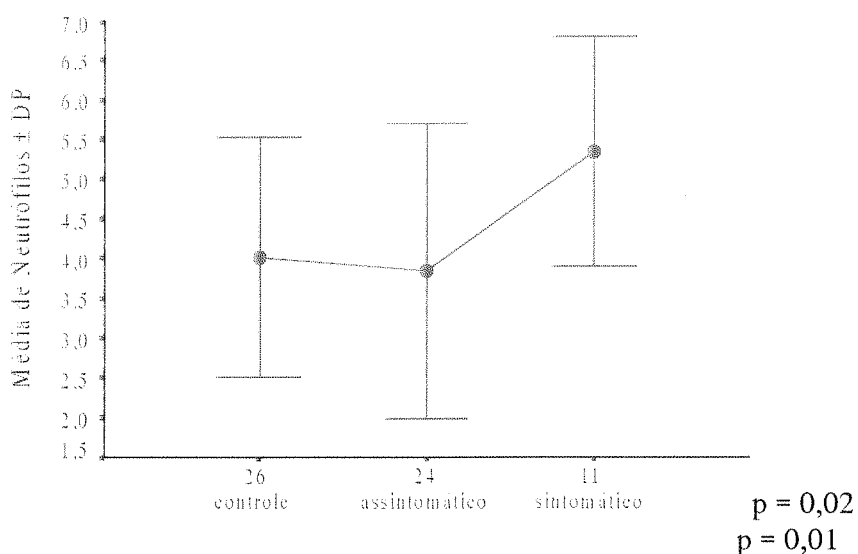


Fig. 14 – Contagem média do número de neutrófilos nos diferentes grupos estudados

No grupo controle, 20 indivíduos (76,9%) apresentaram o número absoluto de plaquetas entre 150.000 e 450.000/mm³ e 6 (23,1%) revelaram contagem de plaquetas abaixo de 150.000/mm³. A média obtida nesse grupo foi de 201.850 com desvio padrão 75,70. Vinte e dois pacientes soropositivos assintomáticos (91,75%) e 10 pacientes soropositivos sintomáticos (90,9%) apresentaram a contagem de plaquetas dentro do limite considerado normal. De todos os pacientes soropositivos, apenas 3 (8,6%) apresentaram o número de plaquetas abaixo de 150.000/mm³. O grupo assintomático revelou um valor médio de plaquetas de 238.920 com desvio padrão de 78,28. A média obtida no grupo sintomático foi de 250.090 plaquetas com desvio padrão de 49,32 (tabela 9; tabela 11). De acordo com os dados observados não foi observada diferença estatisticamente significativa quando se comparou o valor médio do número de plaquetas entre os grupos (p=0,09) (figura 15; anexo 5).

Tabela 11 - Distribuição dos pacientes por grupo em função do número absoluto de plaquetas.

Plaquetas (mm ³)	Grupos					
	Controle		positivo assintomático		positivo sintomático	
	n	%	n	%	n	%
< 150.000	6	23,1%	2	8,3%	1	9,1%
150.000 a 450.000	20	76,9%	22	91,7%	10	90,9%
Total	26	100,0%	24	100,0%	11	100,0%

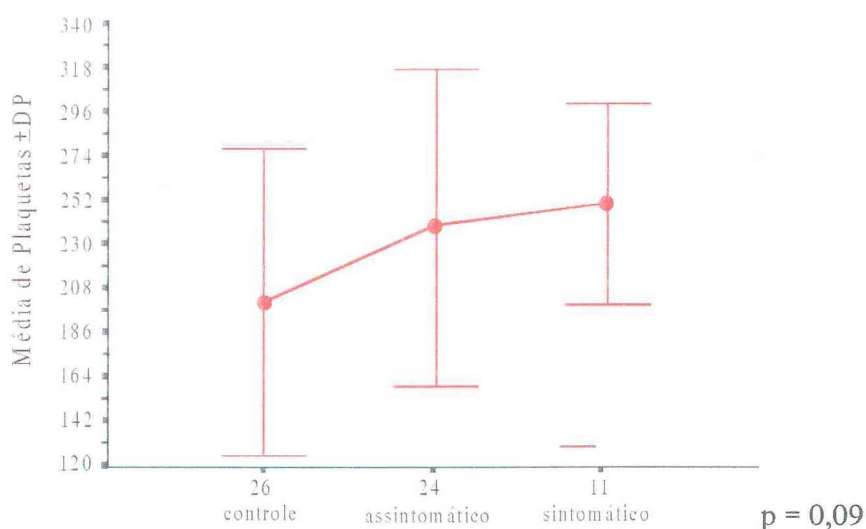


Fig. 15 - Contagem média do número de plaquetas nos diferentes grupos estudados

No grupo controle, 20 indivíduos (76,9%) apresentaram o número absoluto de plaquetas entre 150.000 e 450.000/mm³ e 6 (23,1%) revelaram contagem de plaquetas abaixo de 150.000/mm³. A média obtida nesse grupo foi de 201.850 com desvio padrão 75,70. Vinte e dois pacientes soropositivos assintomáticos (91,75%) e 10 pacientes soropositivos sintomáticos (90,9%) apresentaram a contagem de plaquetas dentro do limite considerado normal. De todos os pacientes soropositivos, apenas 3 (8,6%) apresentaram o número de plaquetas abaixo de 150.000/mm³. O grupo assintomático revelou um valor médio de plaquetas de 238.920 com desvio padrão de 78,28. A média obtida no grupo sintomático foi de 250.090 plaquetas com desvio padrão de 49,32 (tabela 9; tabela 11). De acordo com os dados observados não foi observada diferença estatisticamente significativa quando se comparou o valor médio do número de plaquetas entre os grupos (p=0,09) (figura 15; anexo 5).

Tabela 11 - Distribuição dos pacientes por grupo em função do número absoluto de plaquetas.

Plaquetas (mm ³)	Grupos					
	Controle		positivo assintomático		positivo sintomático	
	n	%	n	%	n	%
< 150.000	6	23,1%	2	8,3%	1	9,1%
150.000 a 450.000	20	76,9%	22	91,7%	10	90,9%
Total	26	100,0%	24	100,0%	11	100,0%

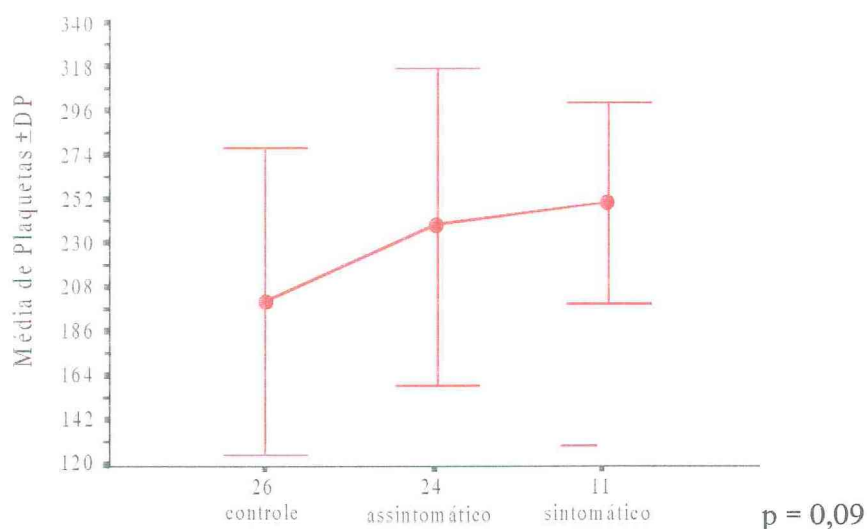


Fig. 15 - Contagem média do número de plaquetas nos diferentes grupos estudados

Na dosagem de hemoglobina observou-se que 15 (57,7%) indivíduos do grupo controle apresentaram os valores da concentração de hemoglobina entre 11,5 e 16,4g/dL para o sexo feminino e entre 13,5 e 18,0g/dL para o sexo masculino e 7 (26,9%) apresentaram valores abaixo do limite. A média observada foi de 15,29 g/dL com desvio padrão 2,54. Todos os pacientes do grupo assintomático apresentaram os valores da concentração de hemoglobina dentro da normalidade. A média observada foi de 13,97g/dL com desvio padrão de 1,21. No grupo sintomático, 9 (81,8%) apresentaram resultados dentro da normalidade e 2 (18,2%) dos pacientes demonstraram valores abaixo do limite. A média foi de 13,7g/dL com desvio padrão de 1,89 (tabela 12; tabela 9).

A análise de variância dos valores médios da hemoglobina entre os grupos mostrou que existe diferença significativa quando se compara o grupo controle e soropositivo assintomático ($p=0,02$), assim como, o grupo controle com soropositivo sintomático ($p=0,03$). Em ambos os casos o grupo controle apresenta, em média, maior valor de hemoglobina (figura 16; anexo 5).

Tabela 12 - Distribuição dos pacientes por grupo em função da concentração da hemoglobina

Hemoglobina (g/dL)	Grupos					
	controle		positivo assintomático		positivo sintomático	
	N	%	n	%	n	%
F- 11,5 - 16,4	7	26,9%			2	18,2%
M- 13,5 - 18,0	15	57,7%	24	100,0%	9	81,8%
Total	26	100,0%	24	100,0%	11	100,0%

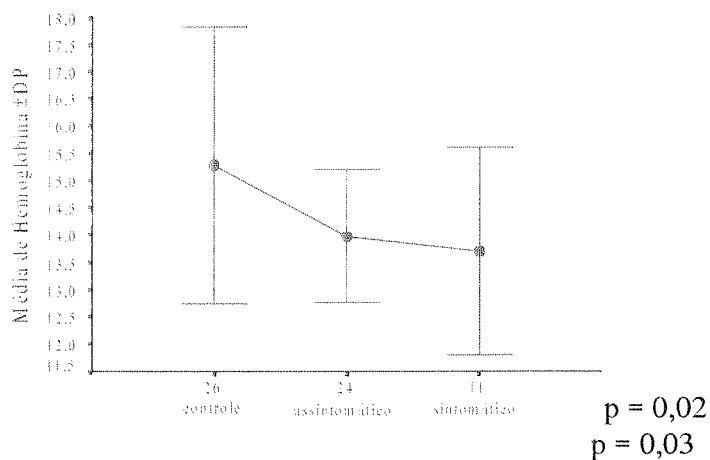


Fig. 16 – Valor médio de hemoglobina nos diferentes grupos estudados

Quando realizada análise do perfil imunofenotípico, verificou-se que 24 indivíduos do grupo controle (92,3%), 20 pacientes soropositivos assintomáticos (83,3%) e 10 (90,9%) pacientes soropositivos sintomáticos apresentaram contagem de células CD3+ entre 657 e 2.010/mm³. Um indivíduo do grupo controle teve resultado de CD3+ abaixo de 657. Nos grupos soropositivos, 4 assintomáticos (16,7%) e 1 paciente sintomático (9,1%) apresentaram os resultados superiores a 2.010/mm³ (tabela 14). No grupo controle a média observada para o CD3+ foi de 1.379 com desvio padrão de 397,40. No grupo assintomático a média observada foi de 1.616 e desvio padrão de 586,73. No grupo sintomático a média observada foi de 1.440 e desvio padrão de 433,06 (tabela 13). A análise de variância dos valores médios de células CD3+ entre os grupos não mostrou diferença significativa (p=0,22) (figura 17; anexo 6).

Tabela 13 - Caracterização imunofenotípica da subpopulação linfocitária no sangue periférico de indivíduos do grupo controle, soropositivo assintomático e soropositivo sintomático.

Grupos	Análise	CD3+	CD4+	CD8+	CD4+/CD8+
Controle	Média	1.379	799,19	494,27	1,73
	DP	397,40	266,40	190,00	0,53
Assintomático	Média	1.616	950,75	607,79	1,71
	DP	586,73	335,28	292,36	0,52
Sintomático	Média	1.440	770,36	621,91	1,43
	DP	433,06	245,77	294,71	0,72

CD3/mm³; CD4/mm³; CD8/mm³

Tabela 14 - Distribuição dos pacientes por grupo em função da contagem de células CD3+ no sangue periférico

CD3/mm ³	Controle		Grupos			
	N	%	positivo assintomático		positivo sintomático	
			n	%	n	%
< 657	1	3,8%				
657 a 2010	24	92,3%	20	83,3%	10	90,9%
> 2010	1	3,8%	4	16,7%	1	9,1%
Total	26	100,0%	24	100,0%	11	100,0%

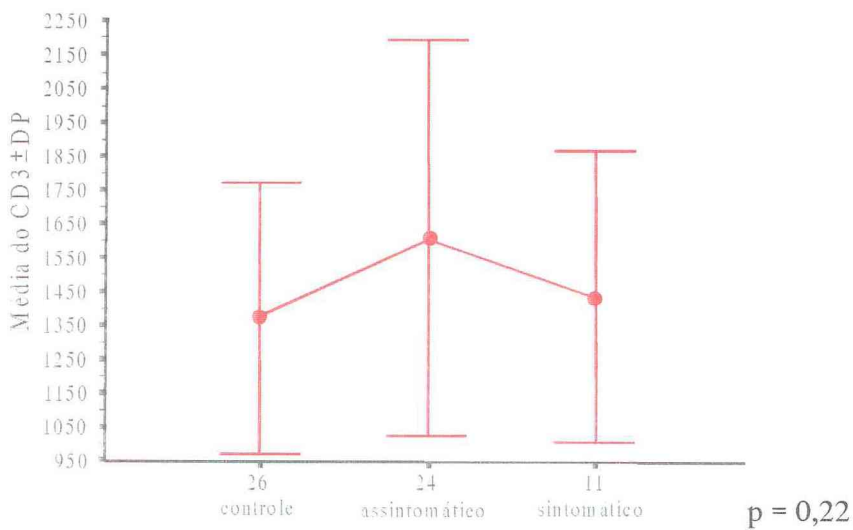


Fig. 17 - Contagem média de células CD3 + nos grupos estudados

No grupo controle, 23 indivíduos (88,5%) e 32 pacientes soropositivos (91,4%) apresentaram contagem de células CD4+ entre 430 e 1.367/mm³. Um caso controle apresentou resultado inferior a 430/mm³ e 2 pacientes soropositivos apresentaram valores superiores a 1.367/mm³ (**tabela 15**). No grupo controle a média observada foi de 799,19 com desvio padrão de 266,40. No grupo assintomático a média observada foi de 950,75 e desvio padrão de 335,28 e no grupo sintomático a média apresentada foi de 770,36 e desvio padrão de 245,77 (**tabela 13**). A análise de variância entre os valores médios de células CD4+ entre os grupos não evidenciou diferença significativa (p=0,11) (**figura 18; anexo 6**)

Tabela 15- Distribuição dos pacientes por grupo em função da contagem de células CD4+ no sangue periférico.

CD4/mm ³	Grupos			
	controle		Positivos	
	N	%	n	%
< 430	1	3,8%		
430 a 1367	23	88,5%	32	91,4%
> 1367	2	7,7%	3	8,6%
Total	26	100,0%	35	100,0%

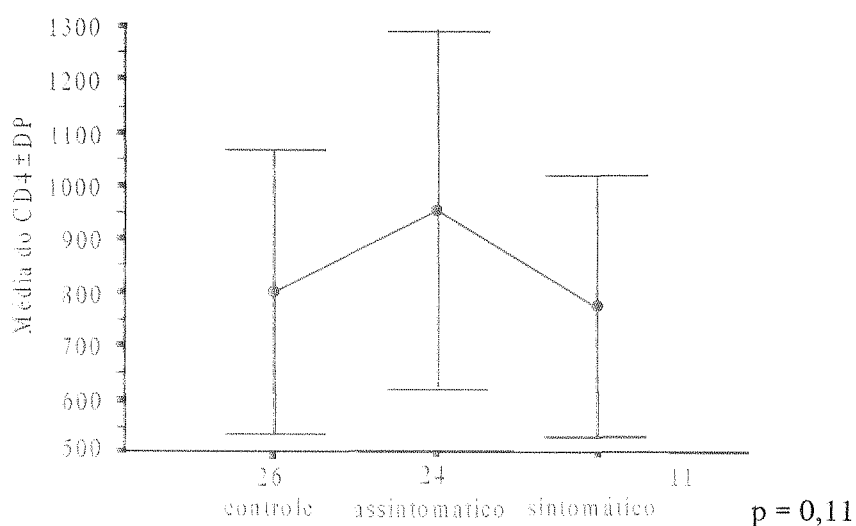


Fig.18 – Contagem média de células CD4+ nos grupos estudados

Vinte e dois indivíduos do grupo controle (84,6%) e 24 pacientes soropositivos (68,6%) apresentaram contagem de células CD8+ entre 205 e 717/mm³. Um indivíduo do grupo controle teve resultado inferior a 205/mm³. Esse caso também apresentou valor de células CD4+ abaixo do normal. Onze casos soropositivos e 3 casos do grupo controle apresentaram valores superiores a 717/mm³ (tabela 16). No grupo controle o valor médio da contagem de células CD8+ foi de 494,27 com desvio padrão de 190,00. Para o grupo assintomático a média obtida foi de 607,79 com desvio padrão de 292,36. Para o grupo sintomático a média observada foi de 621,91 e desvio padrão de 294,71 (tabela 13). Verificando a variância na contagem média de células CD8+ observou-se que não existe diferença significativa (p=0,20) (figura 19; anexo 6).

Tabela 16 - Distribuição dos pacientes por grupo em função da contagem de células CD8+ no sangue periférico

CD8/ mm ³	Grupos			
	controle		Positivos	
	N	%	n	%
< 205	1	3,8%		
205 a 717	22	84,6%	24	68,6%
> 717	3	11,5%	11	31,4%
Total	26	100,0%	35	100,0%

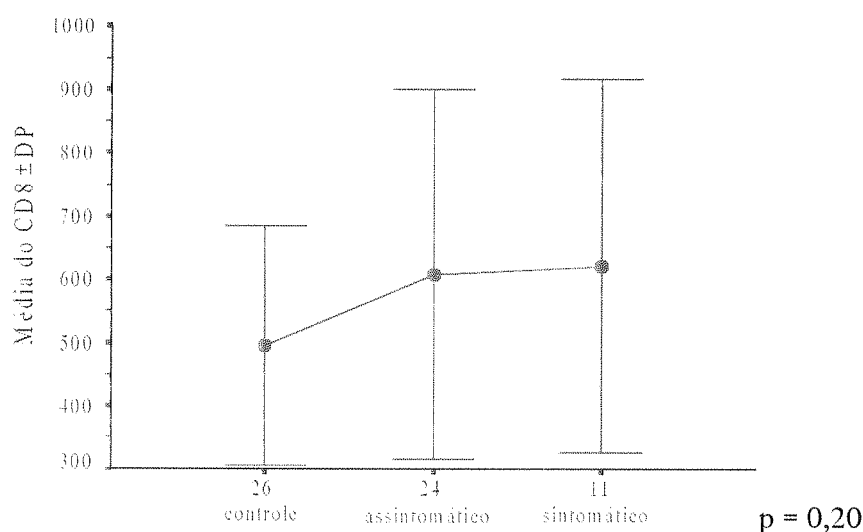


Fig.19 - Contagem média de células CD8+ nos grupos estudados

Vinte e dois indivíduos do grupo controle (84,6%) e 25 pacientes soropositivos (71,4%) apresentaram relação CD4+/CD8+ entre 1,2 e 3,1. Quatro indivíduos do grupo controle (15,4%) e 10 pacientes soropositivos (28,6%) apresentaram relação CD4+/CD8+ inferior a 1,2 (**tabela 17**). No grupo controle a média obtida para a relação CD4+/CD8+ foi de 1,73 com desvio padrão de 0,53. No grupo assintomático a média observada foi de 1,71 e desvio padrão de 0,52. Para o grupo sintomático a média observada para relação CD4+/CD8+ foi de 1,43 com desvio padrão de 0,73 (**tabela 13 ; anexo 6**). A análise de variância dos valores médios da relação CD4/CD8 entre os grupos evidenciou que não existe significância estatística (p=0,32) (**figura 20**).

Tabela 17- Distribuição dos pacientes por grupo em função da relação CD4+/CD8+

CD4/CD8	Grupos			
	controle		Positivos	
	n	%	N	%
< 1,2	4	15,4%	10	28,6%
1,2 a 3,1	22	84,6%	25	71,4%
Total	26	100,0%	35	100,0%

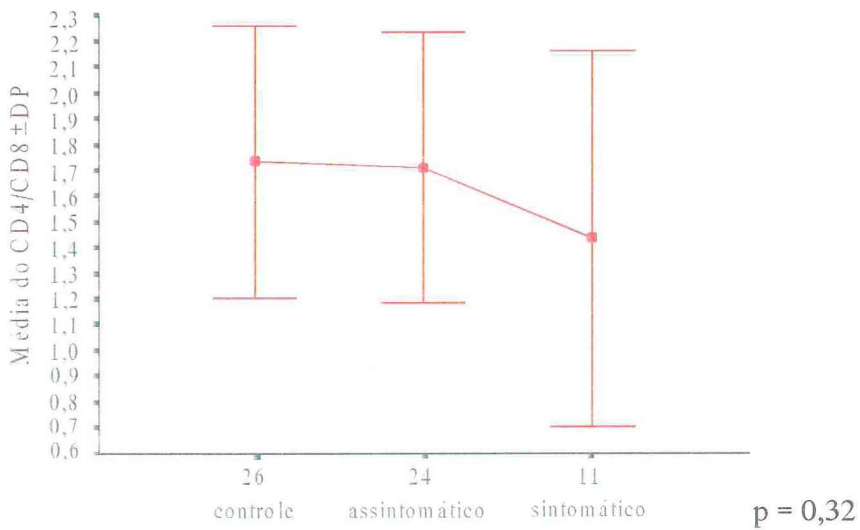


Fig. 20 - Valor médio da relação CD4/CD8 nos grupos estudados

DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

A partir da obrigatoriedade da triagem sorológica de candidatos à doação de sangue para a pesquisa dos vírus linfotrópicos de células T humanas (HTLV-I/II) tem-se identificado um número crescente de indivíduos soropositivos assintomáticos, que são fonte potencial de infecção pelas vias reconhecidas de transmissão inter-humana. Cerca de 95% dos indivíduos infectados pelo vírus HTLV-I permanecem assintomáticos e um percentual variável de 0,2 a 5,0%, desenvolve manifestações clínicas num período que pode variar de 3,3 a 30 anos (KAPLAN, 1993 ; OSAME, 1990 ; POMBO DE OLIVEIRA, 2001).

A prevalência da positividade para HTLV-I/II entre doadores de sangue no Brasil varia de 0,08 a 1,35% (LEE, 1989 ; GABBAI, 1993 ; MOREIRA, 1993 ; PROIETTI, 1994; GALVÃO, 1994 ; LOUREIRO, 1994 ; SARAIVA, 1994 ; DE CASTRO-COSTA, 1996 ; SEGURADO, 1997 ; SILVA, 2002). Pombo de Oliveira relatou que a soroprevalência entre os diferentes grupos etários de doadores de sangue no Brasil depende do estado brasileiro e do tamanho da amostra estudada (POMBO DE OLIVEIRA, 1993). Na região Nordeste foi observada soroprevalência de 1,35% e na região Sul de 0,08% (PROIETTI, 2001).

A prevalência de soropositividade pelo teste ELISA para HTLV-I/II na população geral de doadores de sangue do HEMOCE (Hemorrede do Estado do Ceará) foi de 0,66% nos últimos cinco anos. No ano de 2001, a prevalência observada foi de 0,45%. Esse valor é baixo quando comparado aos valores observados por Galvão em 1994 de 1,35%, num estudo de doadores em estado nordestino, mas é relativamente elevado se comparado a soroprevalência de 0,025% observada na população de doadores de sangue nos Estados Unidos da América.

É provável que a soroprevalência para a população geral, baseada em dados encontrados entre doadores de sangue, esteja ainda subestimada, quando se considera que a maioria dos doadores de sangue é composta por indivíduos jovens, do sexo masculino e a soropositividade para o HTLV-I em zonas endêmicas é sabidamente mais elevada em mulheres com idade superior a 60 anos (MUELLER, 1991).

De Castro-Costa e colaboradores, num estudo com 1.142 pessoas sadias provenientes das cidades mais populosas do estado (Fortaleza e Crato), mostraram soroprevalência para HTLV-I de 0,34% em Fortaleza e 0,44% em Crato, com dois casos de

HTLV-II (DE CASTRO-COSTA, 1993). Da mesma maneira, no nosso estudo, quando se comparou a soroprevalência para o HTLV-I entre os doadores provenientes da capital do estado (43.649 - 0,42%) e doadores provenientes do interior (Sobral, Crato e Iguatu) (30.091 - 0,48%), não se observou diferença estatística significativa.

Lal e colaboradores e Mahieux e colaboradores mostraram que o percentual de soroindeviduados eleva-se nas áreas tropicais, enquanto que, nos EUA e Europa tende a diminuir (LAL, 1993 ; MAHIEUX, 2000). Na presente análise pelo teste WB observou-se, nos últimos cinco anos, que dos 777 indivíduos submetidos ao teste confirmatório, 43,0% eram soroindeviduados. Esse resultado também é compatível com aquele realizado no HEMOCE de Fortaleza, no período de maio a dezembro de 1994, que mostrou teste confirmatório de WB indeviduado em 49,1% dos 61 doadores ELISA reativos examinados (LIMA, 1994).

A infecção pelo retrovírus HTLV do tipo I é a mais freqüente na população geral. Entre doadores de sangue soropositivos para HTLV em São Paulo, provas sorológicas discriminatórias e testes moleculares demonstraram predomínio da infecção pelo HTLV-I (84,0%) em relação ao HTLV-II (16,0%) (SEGURADO, 1999). Gabbai e colaboradores, usando o teste de WB ou radioimunoprecipitação para diferenciação dos subtipos em 1148 amostras de doadores, mostraram que 100% das amostras soropositivos apresentaram padrão para o tipo I, com ausência de soropositividade para o tipo II (GABBAI, 1993). Nos casos aqui apresentados, a distribuição dos indivíduos soropositivos pelo teste WB no ano de 2001 mostrou que 43 (76,6%) eram HTLV-I, 7 (12,5%) mostraram perfil característico de HTLV-II, e em 6 (10,7%) não foi possível à definição do subtipo.

A infecção pelo HTLV-II é restrita a alguns grupos indígenas e usuários de drogas intravenosas. Estudo realizado na população indígena de tribos da Região Amazônica, que compreende os estados Amapá, Roraima, Amazonas, Pará e Maranhão, mostrou que entre 1.280 amostras coletadas de índios, testadas pelo ELISA e confirmadas pelo WB, 77 (13,8%) foram positivas para o HTLV-I/II. Dentre esses, 22 casos apresentaram WB com padrão de bandas sugestivo de HTLV-II: ausência de p19, presença forte de p24, além da rpg21 (NAGAUCHI, 1993). Esses dados estão em acordo com os resultados apresentados por Maloney e colaboradores, que encontraram uma alta prevalência de positividade para o HTLV-II entre os índios Kaiapós (33,80%) e Krahos (12,20%) (MALONEY, 1992).

Uma tendência de maior positividade nas mulheres tem sido observada mundialmente. Andrade Filho e colaboradores mostraram, num estudo realizado em 62 pacientes com diagnóstico de neuropatia de origem obscura, 36 do sexo feminino e 26 do sexo masculino, que a positividade foi significativamente maior nas mulheres. Dezesesseis (44,4%) pacientes soropositivos para o HTLV-I/II foram do sexo feminino, enquanto apenas 1 (3,8%) paciente do sexo masculino foi soropositivo (ANDRADE-FILHO, 1996).

O presente estudo mostrou um predomínio do sexo feminino. Vinte (57,1%) dos casos do grupo soropositivo, com ou sem sintomas, eram mulheres.

Uma justificativa provável para o predomínio da soropositividade em mulheres é sua maior vulnerabilidade à transmissão da infecção pelo homem (MAUCLÈRE, 1997 ; ROUET, 2001). Estudos de coorte vertical em casais heterossexuais mostraram um grande número de concordância entre os parceiros quanto à infecção pelo HTLV-I. Dentre os casais discordantes, a mulher era mais comumente soropositiva que o homem. Este padrão demonstra uma transmissão homem-mulher mais eficiente. A baixa eficácia da transmissão mulher-homem, exceto na presença de co-fatores que rompem as barreiras mucosas normais, provavelmente resulta na diferença observada entre homens e mulheres para a prevalência do HTLV-I (LANGHORN, 2000 ; KAJIYAMA, 1986 ; TAJIMA, 1982 ; MANNIS, 1991 ; MURPHY, 1987 ; SARIM, 1990). Outra possível explicação para o predomínio da infecção no sexo feminino é a maior frequência de transfusões sanguíneas em mulheres (KAPLAN, 1996).

Indivíduos soronegativos são, em geral, mais jovens que aqueles soropositivos (CÈSARIE, 1999). Um resultado diferente foi observado por Andrade Filho e colaboradores em estudo realizado na Bahia. A idade média dos casos analisados foi similar nos pacientes soropositivos, bem como, nos indivíduos controles (ANDRADE-FILHO, 1996). Nos casos aqui estudados, observou-se uma diferença estatisticamente significativa entre as médias das idades. Os indivíduos do grupo controle eram mais jovens que aqueles soropositivos assintomáticos e esses, mais jovens que aqueles soropositivos sintomáticos.

Essa inclinação ascendente em relação à idade decorre do longo período que transcorre entre a infecção e as manifestações de doença (POMBO DE OLIVEIRA, 2001; LANGGHORN, 2001), como também de um efeito de coorte, quando taxas decrescentes de

infecção em coortes de pacientes mais jovens dão a impressão de taxas ascendentes nas coortes de pacientes mais velhos (MOROFUJI, 1993).

O risco relativo de um indivíduo ser infectado pelo HTLV-I é maior no sexo feminino, porém entre as pessoas infectadas, a chance de desenvolver leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL) é maior nos homens. A razão entre o sexo masculino e feminino é de 1,4:1,0 e a média de idade de 58 anos (YAMAGUCHI, 2000 ; POMBO DE OLIVEIRA, 2001). A TSP, no entanto, é mais freqüente no sexo feminino no Japão e em estados brasileiros (KAJIYAMA, 1986 ; CASTRO, 1989 ; OSAME, 1992 ; MORENO CARVALHO, 1992 ; ZANINOVIC, 1992 ; DE CASTRO COSTA, 1994 ; SEGURADO, 2001).

Os retrovírus HTLV-I/II apresentam grande similaridade biológica e tropismo pelos linfócitos T. Estudos com PCR têm demonstrado que o HTLV-I tem tropismo preferencial por linfócitos T CD4+, enquanto o HTLV-II tem tropismo pelo linfócito T CD8+ (RICHARDSON, 1990 ; IJICHI, 1992).

A infecção pelo HTLV-I está associada com ATL e a TSP/HAM. Essas doenças são caracterizadas por diferentes eventos imunológicos e ocorrem independentemente entre indivíduos de famílias portadoras do HTLV-I, o que sugere a existência de alguns fatores do hospedeiro que contribuam para o desenvolvimento dessas patologias (SONODA, 1992).

A ATL é uma desordem linfoproliferativa com freqüente comprometimento da imunidade celular, enquanto a TSP/HAM é uma desordem neurológica crônica que apresenta estado de hiperimunidade, com elevação do nível de anticorpo anti HTLV-I no soro e líquido cefalorraquidiano, assim como aumento da resposta dos linfócitos T ao HTLV-I (OSAME, 1987 ; IJICHI, 1989 ; JACOBSON, 1988 ; JACOBSON, 1990).

Tem sido proposto que a resposta imune ao HTLV-I está associada com o acúmulo da carga viral e que a resposta celular e humoral varia consideravelmente entre os grupos com sinais clínicos (JACOBSON, 1988 ; NAGAI, 2001 ; ITOYAMA, 1988 ; KLIMAS, 1991). A variação da resposta imune, acredita-se, é a responsável pelo grande número de manifestações clínicas apresentadas na infecção pelo HTLV-I (LAL, 1991).

A presença do genoma proviral foi correlacionada à proliferação espontânea dos linfócitos no sangue periférico. Verificou-se, em cultura in vitro, que aproximadamente

50% dos indivíduos infectados com HTLV-I ou HTLV-II assintomáticos apresentaram proliferação espontânea dos linfócitos e que todos os indivíduos com TSP/HAM avaliados também apresentaram aumento da proliferação espontânea (ITOYAMA, 1988 ; JACOBSON, 1988 ; JACOBSON, 1990 ; PRINCE, 1995).

A presença de elevado nível de DNA viral nas células mononucleares periféricas de pacientes assintomáticos foi, ainda, associada à anormalidade morfológica dos linfócitos do sangue periférico (TACHIBANA, 1992).

No nosso estudo o valor médio da contagem de linfócitos no sangue periférico não diferiu significativamente entre os grupos. A avaliação de proliferação espontânea e anormalidades morfológicas dessas células não foi objeto desse estudo.

Poucos autores investigaram a contagem de neutrófilos em pacientes infectados pelo vírus HTLV-I. Brito Melo e colaboradores não observaram diferença estatística significativa na contagem de neutrófilos entre indivíduos infectados e não infectados (BRITO-MELO, 2002).

No nosso estudo a quantificação do número de neutrófilos evidenciou que 54 (88,5%) de todos indivíduos analisados apresentaram a contagem dentro do limite de normalidade considerado. Um indivíduo do grupo controle (caso nº 24) apresentou neutropenia e simultaneamente uma relação CD4+/CD8+ inferior a 1,2. Por conta dessa relação diminuída os resultados foram confirmados em segunda amostra. A causa da neutropenia não foi investigada, uma vez que esse parâmetro não é rotineiramente investigado em doadores. O sangue doado, portanto, foi liberado para transfusão.

Quando os valores das médias dos neutrófilos foram comparados entre os grupos, observou-se que o grupo soropositivo sintomático apresentou, em média, um número absoluto maior de neutrófilos. Esse achado é preliminar e requer confirmação posterior em um número maior de pacientes sintomáticos, não podendo no momento ser atribuído à doença.

A verificação da contagem de plaquetas não é rotineiramente realizada em doadores de sangue. Em nosso estudo, 6 (9,8%) indivíduos do grupo controle apresentaram plaquetas abaixo de $150.000/\text{mm}^3$. Como a alteração era discreta a moderada e não se acompanhava de manifestações clínicas, passou despercebida pelo exame clínico e o sangue doado foi

liberado para transfusão. Quando se comparou o valor médio do número de plaquetas entre os grupos estudados não foi observada diferença significativa.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define anemia, quando se verifica dosagem de hemoglobina inferior a 12,0g/dL para mulheres e 13,0g/dL para homens. Conti e colaboradores demonstraram em estudos com doadores de sangue que a dosagem de hemoglobina variou entre 11,0 e 16,6 g/dL (CONTI, 2002).

Poucos estudos investigaram a dosagem de hemoglobina em indivíduos infectados pelo HTLV-I. Nos casos aqui analisados, observou-se que de todos os indivíduos, 48 (78,7%) apresentaram a concentração de hemoglobina dentro do limite considerado normal. Daqueles com valores inferiores, 7 (11,5%) era do grupo controle. Valores de hemoglobina, quando dosada através de punção digital, são superiores àqueles obtidos através de venopunção. É possível que esses doadores tenham apresentado um valor superior na avaliação da hemoglobina por ocasião do teste de triagem, realizado através de punção digital. Esses valores foram considerados normais pelo teste de sulfato de cobre realizado na avaliação clínica do doador.

Quando se comparou o valor médio da hemoglobina entre os grupos, houve diferença estatística significativa. O grupo controle apresentou, em média, maior valor na dosagem de hemoglobina.

É parte do processo de diferenciação das células linfóides, a partir de uma célula pluripotente, o aparecimento, na membrana da célula, de diferentes antígenos que são constituídos fundamentalmente por glicoproteínas. Esses antígenos, detectados por anticorpos monoclonais, definem cada subpopulação e participam do reconhecimento, proliferação e diferenciação celular (RAMIREZ, 1992).

As alterações imunológicas decorrentes da infecção pelo HTLV-I estão relacionadas com a regulação das células T. Resultados conflitantes de análise imunofenotípica de pacientes soropositivos para HTLV-I/II têm sido relatados por diferentes autores.

Lal e colaboradores realizaram análise imunofenotípica da subpopulação linfocitária em pacientes portadores de HTLV-I e II e observaram que a percentagem de linfócitos B, células *natural killer* e células CD4+ e CD8+ no grupo soropositivo não diferiu daquela mostrada pelo grupo controle. Apesar de valores quantitativos comparáveis, alteração

significativa na função imunoregulatória de células T foram observadas nos pacientes soropositivos (LAL, 1992).

Blank e colaboradores mostraram que soropositivos com TSP/HAM apresentavam na avaliação imunofenotípica por citometria de fluxo a contagem de células CD3+, CD4+ e CD8+ dentro dos limites normais (BLANK, 1992)

Gessain e colaboradores encontraram na TSP/HAM percentagem alta de células com antígeno DR (15 a 40%) que é observada nas células B maduras, imaturas e também nas células T ativadas, assim como, relação CD4+/CD8+ aumentada (GESSAIN, 1990).

Ruiz e colaboradores realizaram contagem de linfócitos T no sangue e no líquido cefalorraquidiano (LCR) de 21 pacientes com diagnóstico de TSP/HAM. Observaram um aumento de linfócitos CD2+ no sangue e LCR e elevação do número das células CD4+ no sangue (RUIZ, 1990).

Brito Melo e colaboradores analisaram o perfil imunofenotípico de pacientes soropositivos assintomáticos, sintomáticos com TSP/HAM e oligossintomáticos comparando a um grupo de doadores não infectados. Verificaram que a média das contagens de CD3+, CD4+ e CD8+ foi significativamente maior no grupo de soropositivos com TSP/HAM e que, de todos os grupos analisados, somente o grupo com TSP/HAM apresentou a média da contagem de CD4+ maior, quando comparado ao grupo soropositivo assintomático. Constataram que a relação CD4+/CD8+ nos grupos variou dentro da normalidade. Observaram-se também que houve uma diminuição na percentagem das células B e NK circulantes no grupo com TSP/HAM (BRITO-MELO, 2002).

Yasuda e colaboradores mostraram um total de linfócitos CD2 elevado em pacientes infectados com o HTLV-I/II (YASUDA, 1986). Tanaka e colaboradores apresentaram em indivíduos infectados uma percentagem baixa de células CD3+ e CD4+ e a população de CD8+ não diferente do apresentado pelos indivíduos não infectados (TANAKA, 1989).

Os resultados do presente estudo estão de acordo com aqueles cujos autores relataram haver similaridade no valor médio da análise imunofenotípica dos indivíduos soropositivos para o HTLV-I, quando comparados a doadores soronegativos (PRINCE, 1990 ; LAL, 1991 ; KLIMAS, 1991).

Foi observado que não houve significância estatística nos valores médios da análise do CD3+, CD4+ e CD8+, bem como na relação CD4+/CD8+ entre os grupos. Entretanto,

11 (31,4%) indivíduos do grupo de pacientes soropositivos, sendo 8 (33,3%) assintomáticos e 3 (27,3%) sintomáticos apresentaram a contagem de CD8+ acima do valor considerado normal. O fato do linfócito CD8+ está envolvido na patogênese da TSP/HAM já foi relatado por vários autores e talvez esse aumento verificado nesse grupo represente manifestações de ativação de resposta imune e início do desenvolvimento da doença. Esse achado requer estudos posteriores, com um maior número de casos, para melhor compreensão dos mecanismos imunológicos envolvidos e, portanto, definir seu valor preditivo para TSP/HAM.

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

- 1) A prevalência da reatividade para o HTLV-I/II pelo teste de triagem ELISA na população geral de doadores do HEMOCE foi de 0,66% no período de 1997 a 2001.
- 2) A Prevalência da soropositividade para o HTLV-I/II pelo método de ELISA na população geral de doadores do HEMOCE foi de 0,45% no ano de 2001.
- 3) Foram confirmados pelo teste de WB, vinte e nove por cento dos resultados obtidos a partir da reatividade na triagem pelo teste ELISA no ano de 2001.
- 4) No ano de 2001, quarenta e três indivíduos exibiram perfil eletroforético compatível com o tipo HTLV-I.
- 5) A análise demográfica revelou predomínio do sexo feminino e maior média de idade entre os pacientes soropositivos em relação ao grupo de doadores não infectados.
- 6) Os valores médios dos linfócitos e plaquetas não diferiram significativamente entre os grupos estudados. O valor médio do número de neutrófilos apresentou-se significativamente superior no grupo soropositivo sintomático.
- 7) A dosagem de hemoglobina no grupo soropositivo apresentou-se, em média, menor quando comparada ao grupo controle.
- 8) A análise do perfil imunofenotípico mostrou que os valores médios do CD3+, CD4+ e CD8+, assim como a relação CD4+/CD8+ não diferiram significativamente entre os grupos estudados.
- 9) Verificou-se uma elevação do número de células CD8+ no grupo soropositivo embora essa diferença não alcançasse significância estatística. Estudos posteriores, com um número maior de casos, são necessários para definir o valor preditivo da análise imunofenotípica de subpopulações linfocitárias para as patologias associadas a esse retrovírus.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J. S. **Imunologia celular e molecular**. 2. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1998.

ABBOTT LABORATÓRIOS DO BRASIL LTDA. HTLV I + II. Enzimaimunoensaio qualitativo para detecção de anticorpo contra o vírus T-linfotrópico humano tipos I e II (HTLV-I e HTLV-II) em soro ou plasma humano. São Paulo, 2001.

ALEXANDERSEN, S.; CARPENTER, S.; VIUFF, B.; ROTH, J. A. Identification of alternatively spliced mRNAs encoding potential new regulatory proteins in cattle infected with bovine leukemia virus. **J. Virol.** v. 67, p. 39-52, 1993.

ALQUÉZAR, A. S.; SABINO, E. C. HTLV/II em bancos de sangue. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Retroviroses humanas: doenças associadas ao HTLV**. São Paulo: Atheneu, 2000. p. 47-53.

ANDERSON, S.; TYNELL, E.; LITHANDER, E.; BIBERFELD, G.; BLOMBERG, J.; ARNEBORN, M. Results of one year screening of Swedish blood donors for HTLV. **J. Acquir. Immune. Defic. Syndr. Hum. Retrov.**, v. 10, n. 2, p. 251, 1995.

ANDO, Y.; NAKANO, S.; SAITO, K. Transmission of adult T-cell leukemia retrovirus (HTLV-I) from mother to child comparison of bottle with breast fed babies. **Jpn. J. Cancer Res.** v. 78, p. 322-324, 1987.

ANDO, Y.; TANIGAWA, T.; EKUNI, Y. Family study of women showing development of antibody to human T-cell leukemia virus type I and assessment of the risk of vertical transmission of the virus to their children. **J. Infec.** 37:151-155, 1993.

ANDRADE FILHO, A. S.; BRITES, C.; SANTOS, S. R. S.; HARRINGTON Jr., W.; REINHARDT, I. C. B.; FREITAS, F. M. S.; SILVA, M. C.; BADARÓ, R. HTLV-I/II as a

common etiology of myelopathies in Bahia, Brazil. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 29, p. 757-761, 1996.

ARAÚJO, A. Q. C.; ALI, A.; NEWELL, A.; DALGLEISH, A. G.; RUDGE, P. HTLV-I infection and neurological disease in Rio de Janeiro. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**, v. 55, p. 153-155, 1992.

ASHER, D. M.; GOUDSMIT, J.; POMEROY, K. L.; GARRUTO, R. M.; BAKKER, M.; ONO, S. G.; ELLIOT, N.; HARRIS, K.; ASKINS, H.; ELDADAH, Z.; GOLDSTEIN, A. D.; GAJDUSEK, D. C. Antibodies to HTLV-I in populations of Southwestern Pacific. **J. Med. Virol.**, v. 26, p. 339-351, 1988.

BARTOE, J. T.; ALBRECHT, B.; COLLINS, N. D.; LAIRMORE, M. D. Functional role of pX open reading frame II of human T-lymphotropic virus type I in maintenance of viral loads in vivo. **J. Virol.** v. 74, p. 1094-1100, 2000.

BIANCO, C.; KESSLER, D.; VALINSK, J. E. Serologic and demographic profile of blood donors positive for HTLV-I/II. In: ANNUAL RETROVIROLOGY MEETING, 3., Hawaii, 1990.

BIGGAR, R. J.; BUSHELL-BALES, Z.; YAKSHE, P. N.; CAUSSY, D.; GRIDLEY, G.; SEEFF, L. Antibody to human retroviruses among drug users in three East coast American cities, 1972-1976. **J. Infect. Dis.**, v. 163, p. 57-63, 1991.

BLANK, C. M. Aspectos Inmunologicos en la Infeccion por HTLV-I. In: ZANINOVIC, V.; GALINDO, J.; BLANK, A. **Enfermedades asociadas con el virus HTLV-I**. Cali: Fundacion MAR, 1992. p. 59-70.

BLATTNER, W. A.; NOMURA, A.; CLARK, J. W.; HO, G. Y. F.; NAKAO, Y.; GALLO, R. Modes of transmission and evidence for viral latency from studies of human T-cell lymphotropic virus type I in Japanese migrant populations in Hawaii. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 83, p. 4895-4898, 1986.

BRITO-MELO, G. E. A.; MARTINS FILHO, O. A.; CARNEIRO-PROIETTI, A. B. F.; CATALAN-SOARES, B.; RIBAS, J. G.; THORUM, G. W.; BARBOSA-STANCIOLI, E. F. Phenotypic study of peripheral blood leucocytes in HTLV-I infected individuals from Minas Gerais, Brazil. **Scand. J. Immunol.**, v. 55, p. 621-628, 2002.

CASTRO, L. H. M.; CAVES, C. J.; CALLEGARO, D.; NOBREGA, J. P. S.; SCAFF, M. HTLV associated myelopathy in Brazil: a preliminary report. **Arq. Neuropsiquiatr.**, v. 47, p. 501-502, 1989.

CERESETO, A.; DICILA, F.; MULLOY, J. C.; FRANCHINI, G. p53 functional impairment and high p21^{wacp} expression in human T-cell lymphotropic leukemia virus type-I transformed T cells. **Blood**, v. 88, p. 1551-1560, 1996.

CÉSAIRE, R.; BERA, O.; MAIER, H.; LEZIN, A.; MARTIAL, J.; OUKA, M.; KEROB-BAUCHET, B.; OULD AMAR, A. K.; VERNANT, J. C. Seroindeterminate patterns and seroconversions to human T-lymphotropic virus type I positivity in blood donors from Martinique, French West Indies. **Transfusion**, v. 39, p. 1145-1149, 1999.

CHEN, Y. M.; LINC, H. C.; CHOU, P. A population- based epidemiological study of human T-cell Leukemia Virus type-I infection in Kin- Hu, Kinmen. **Int. J. Cancer**, v. 65, p. 569-573, 1996.

CHEN, Y. M. A.; OKAYAMA, A.; LEE, T. H. Sexual transmission of human T-cell leukemia virus type I associated with the presence of anti-tax antibody. **Proc. Natl. Acad. Sci USA**, v. 88, p. 1182-1186, 1991.

CHIATTONE, C. S. Linfomas não-Hodgkin. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2001. cap. 58, p. 645 – 673.

CIMARELLI, A.; DUCLOS, C. A.; GESSAIN, A.; CASOLI, C.; BERTAZONNI, U. Clonal expansion of human T-cell leukemia virus type II in patients with high proviral load. **Virology**, v. 223, p. 362-364, 1996.

CIMINALE, V.; D'AGOSTINO, D. M.; ZOTTI, L.; FRANCHINI, G.; FELBER, B. K. Expression and characterization of proteins produced by mRNAs spliced into the X region of the human T-cell leukemia/lymphotropic virus type II. **Virology**, v. 209, p. 445-456, 1995.

COFFIN, J. M. Retroviridae and their replications. In: FIELDS, B. N.; KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. **Fields virology**. 2nd ed. New York: Raven, 1990. P. 1437-1500.

COFFIN, J. M. Retroviridae: the viruses and their replication. In: FIELDS, B. N.; KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. **Fields virology**. 3th ed. Philadelphia: Raven, 1996. v. 2, p. 1767-1847.

CONTI, F. M.; SILVA, V. L. D.; SIMÕES, M. L.; URAGO, C. P.; NOGUEIRA, C. M. Obtenção de concentrados plaquetários unitários obtidos por aférese com a separadora Haemonetics MCS+ Européia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA, 25., Salvador, 2002. **Aférese**. p. 34.

COUROUCÉ, A. M.; PILLONEL, . ; LEMAIRE, J. M.; MANIEZ, M.; BRUNET, J. B. Seroepidemiology of HTLV-III in universal screening of blood donations in France. **AIDS**, v. 7, p. 841-847, 1993.

COUROUCÉ, A. M. et al. HTLV testing in Blood Transfusion. **Vox Sang.**, v. 74, suppl. 2, p. 165-169, 1998

COVAS, D. T. Retrovírus. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia : fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2001. cap. 60, p. 691 – 701.

DE CASTRO- COSTA, C. M. A preliminary analysis of an experimental long-term study of motor behavior and clinical aspects of Wistar rats inoculated with blood from HTLV-I

positive TSP patients from Ceará (northeastern Brazil). In: ZANINOVIC, V. **HTLV, Truths and Questions**. Cali: Fundacion MAR, 1996. P. 89-95.

DE CASTRO-COSTA, C. M.; CARTON, H.; GOUBAU, P.; D'ALMEIDA, J. A. C. Brazilian studies on tropical spastic paraparesis. **Arq. Neuropsiquiatr.**, v. 52, n. 4, p. 585-591, 1994.

DE CASTRO-COSTA, C. M.; GOUBAU, O.; LIU, H. F.; VANDAMME, A. M.; CUNHA, F. M. B.; SANTOS, T. J. T.; DESMYTER, J.; CARTON, H. HTLV-negative and HTLV-positive tropical spastic paraparesis in Northeastern Brazil. **AIDS. Res. Hum. Retroviruses**, v. 11, p. 315-318, 1995.

DE CASTRO-COSTA, C. M.; SALGUEIRO, M. R.; CARTON, H.; VALE, O. C.; ARRUDA, A. M. Tropical spastic paraparesis in Northeastern Brazil. **Arq. Neuropsiquiatr.** v. 47, p. 134-138, 1989.

DE CASTRO-COSTA, C. M.; VALE, O. C.; GOUBAU, P.; DESMYTER, J.; CARTON, H. HTLV-I and tropical spastic paraparesis in Fortaleza (Northeastern Brazil). **J. Trop. Geogr. Neurol.** v. 1, p. 45-48, 1991.

DE CASTRO-COSTA, C. M. apud POMBO de OLIVEIRA, M. S. Simpósio Internacional Sobre HTLV no Brasil, 2. : Relatório Científico. **Bol. Soc. Bras. Dermatol. Hemoter.**, v. 15, n. 164, p. 85-91, 1993.

DEBIASI, R. L.; TYLER, K. L. Polymerase chain reaction in the diagnosis and management of central nervous system infections. **Arch. Neurol.** v. 56, p. 1215-1219, 1999.

DELAMARRE, L.; ROSENBERG, A. R.; PIQUE, C.; PHAM, D.; CALLEBAUT, I. The HTLV-I envelope glycoproteins: structure and functions. **J. Acquir. Immune. Defic. Syndr. Hum. Retrovirol**, v. 13, p. S85-S91, 1996.

DELAPORTE, E.; DUPONT, A.; PEETERS, M.; JESSE, R.; MERLIN, M.; SCHRIJYERS, D.; HAMONO, B.; BEDJABAGA, L.; CHERINGOU, H.; BOYER, F.; BRUN-VEZINET, F.; LAROUZE, B. Epidemiology of HTLV-I in a Gabon (Western Equatorial Africa). **Int. J. Cancer**, v. 42, p. 687-689, 1988.

DELVES, P. J.; ROITT, I. M. The immune system. In: MACKAY, I.; ROSEN, F. S. Advances in immunology. **Massachusetts Med. Soc.**, v. 343. n. 1, p. 37-49, 2000a.

DELVES, P. J.; ROITT, I. M. The immune system. In: MACKAY, I.; ROSEN, F. S. **Engl. J. Med.**, v. 343, n. 2, p. 108-117, 2000b.

EDLICH, R. F.; ARNETTE, J. A.; WILLIAMS, F. M. Global epidemic of human T-cell lymphotropic virus type-I (HTLV-I). **J. Emerg. Med.**, v. 18, n. 1, p. 109-119, 2000.

FACSCCount system user's guide. San Jose, CA: Becton Dickinson, 1995.

FALCÃO, R. P.; CALADO, R. T. Heterogeneidade das células do sangue. Órgãos hematopoéticos e linfopoéticos. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2001. cap. 1, p. 3-13.

FALCÃO, R. P.; REGO, E. M. Classificação das neoplasias hematológicas. Marcadores imunofenotipagem. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2001. cap. 38, p. 383-400.

FALCÃO, R. P.; VOLTARELLI, J. C. Ontogênese e diferenciação do tecido linfóide. Dinâmica dos linfócitos. Imunidade humoral e celular. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2001. cap. 6, p. 51-67.

FANG, C. T.; WILLIAMS, E.; SANDLER, S. G. American Red Cross HTLV-I/II Study Group. Seroprevalence and geographical determinants of anti-HTLV among blood donors in the United States. In: ANNUAL RETROVIROLOGY MEETING, 3., 1990, Hawaii.

FERREIRA, O.; MARTINS, M. V. C. L. Diagnóstico laboratorial do HTLV. In: PROIETTI, A. B. F. C. *Cad. Hemominas- HTLV-I/HTLV- II.*, v. 11, p. 37-51, 2000.

FERREIRA, O. C.; VAZ, R. S.; CARVALHO, M. B.; GUERRA, C.; FABRON, A. L.; ROSEMBLIT, J.; HAMERSCHLAK, N. Human T- lymphotropic vírus type I and type II infections and correlation with risk factors in blood donors from São Paulo, Brasil. *Transfusion*, v. 35, p. 258-263, 1995.

FLEMING, A. F.; YAMAMOTO, N.; BHUSNURMATH, S. R.; NAHARAJAN, R.; SCHNEIDER, J.; HUNSMANN, G. Antibodies to ATL (HTLV) in Nigerian blood donors and patients with chronic lymphatic leukaemia or lymphoma. *Lancet*, v. 2, p. 334-335, 1983.

FROMENT, A ; DELAPORTE, R ; DAZZA, M ; LAROUZÉ, B. HTLV-II among Pygmies from Cameroon. *Aids Research Human Retroviruses*, 9(8):707, 1993.

FRANCHINI, G. Molecular mechanisms of human T-cell leukemia/lymphotropic virus type I infection. *Blood*, v. 86, p. 3619-3639, 1995.

GABBAI, A. A.; BORDIN, J. O.; VIEIRA FILHO, J. P.; KURODA, A.; OLIVEIRA, A. S. B.; CRUZ, M. V.; RIBEIRO, A. A. F.; DELANEY, S. R.; HENRARD, D. R.; ROSARIO, J.; ROMAN, G. C. Selectivity of human T lymphotropic vírus type-I (HTKV-I) and HTLV-II infection among different populations in Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* v. 49, n. 6, p. 664-671, 1993.

GALLO, R. C.; SLISKI, A.; WONG-STAAAL, F. Origin of human T-cell leukemia-lymphoma virus. *Lancet*, v. 2, p. 962-963, 1983.

GALLO, R. C. The human T-cell leukemia/lymphoma retroviruses (HTLV) family: past, present and future. **Cancer Res.**, v. 45, p. 4524-4533, 1985.

GALVÃO, B.; PROIETTI, F.; RODRIGUES, L.; FRANCO, F.; SANTANA, A.; LOURES, L. HTLV-I/II differential geographic distribution in Brazil. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON AIDS, 10., 1994.

GESSAIN, A.; BARIN, F.; VERNANT, J. C.; GOUT, O.; MAURS, L.; CALENDER, A.; DE THÉ, G. Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. **Lancet**, v. 2, p. 407-410, 1985.

GESSAIN, A.; GOUT, O.; SAAL, F. et al. Epidemiology and immunovirology of human T-cell leukemia lymphoma virus type I associated adult T-cell leukemia and chronic myelopathies as seen in France. **Cancer Res.**, v. 50, p. 569, 1990.

GESSAIN, A.; GOUT, O. Chronic myelopathy associated with human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I). **Ann. Intern. Med.** v. 117, p. 933-946, 1992.

GOUBAU, P.; DESMYTER, J.; GHESQUIERE, J. HTLV-II among pygmies (Letter). **Nature**, v. 35, p. 201, 1992.

GROSS, L. **Oncogenic Viruses**. New York: Pergamon Press, 1993. v. 1, 2.

HATTA, Y.; YAMADA, Y.; TOMONAGA, M.; KOEFFLER, H. P. Extensive analysis of the retinoblastoma gene in adult T cell leukemia/lymphoma (LLcTA). **Leukemia**, v. 11, p. 984-989, 1997.

HAYASHI, J.; KISHIHARA, Y.; YOSHIMURA, E.; FUROSYO, N.; YAMAJI, K.; KAWAMI, Y. Correlation between human T-cell lymphotropic virus type-I and *Strongyloides stercoralis* infections and serum immunoglobulin E responses in residents of Okinawa, Japan. **Am J. Trop. Med. Hyg.**, v. 56, n. 1, p. 71-75, 1997.

HINO, S.; YAMAGUSHI, K.; KATAMINE, S.; SUGIYAMA, H.; AMAGASAKI, T.; YOSHIDA, Y.; DOI, H.; TSUJI, Y.; MIYAMOTO, T. Mother to child transmission of human T-cell leukemia virus type I. **Jap. J. Cancer Res.**, v. 76, p. 474, 1985.

HINUMA, Y.; CHOSA, T.; KOMODA, H.; MORI, M.; TAJIMA, K.; PAN, I. H.; LEE, M. Sporadic retrovirus (ATLV)-seropositive individuals outside Japan. **Lancet**, v. 1, p. 824-825, 1983.

HJELLE, B.; CYRUS, S.; SWENSON, S.; MILLS, R. Serologic distinction between human T lymphotropic virus (HTLV) type I and HTLV type II. **Transfusion**, v. 31, p. 731-736, 1991.

HÖLLSBERG, P.; HAFLER, D. A. What is the pathogenesis of HAM/TSP? **Ann. Neurol.**, v. 37, p. 143-145, 1995.

IJICHI, S.; EIRAKU, N.; OSAME, M. Activated T lymphocytes in cerebrospinal fluid of patients with HTLV-I associated myelopathy (HAM/PET). **J. Neuroimmunol.**, v. 25, p. 251-254, 1989.

IJICHI, S.; NAKAGAWA, M.; UMEHARA, F.; HIGUCHI, I.; ARIMURA, K.; IZUMO, S.; OSAME, M. HAM/TSP: recent perspectives in Japan. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol**, v. 13, suppl. 1, p. S26-S32, 1996.

IJICHI, S.; RAMUNDO, M. B.; TAKAHASHI, H.; HALL, W. W. In Vivo Cellular Tropism of human T cell leukemia virus type II (HTLV-II). **J. Exp. Med.** v. 176, p. 293-296, 1992.

SHIDA, T.; YAMAMOTO, K.; OMOTO, K.; IWANAGA, M.; OSATO, T.; HINUMA, Y. Prevalence of a human retrovirus in native Japanese: evidence for a possible ancient origin. **J. Infect.**, v. 11, p. 153-157, 1985.

ITOYAMA, Y.; MINATO, S.; KIRA, J.; GOTO, I.; SATO, H.; OKOCHI, K.; YAMAMOTO, N. Altered subsets of peripheral blood lymphocytes in patients with HTLV-I associated myelopathy (HAM). **Neurology**, v. 38, p. 816-818, 1988

_____. Spontaneous proliferation of peripheral blood lymphocytes increased in patients with HTLV-I associated myelopathy. **Neurology**, v. 38, p. 1302-1307, 1988.

JACOBSON, S.; SHIDA, H.; McFARLIN, D. E. et al. Circulating CD8+ cytotoxic T lymphocytes specific for HTLV-I pX in patients with HTLV-I associated neurological disease. **Nature**, v. 348, p. 245-248, 1990.

JACOBSON, S.; ZANINOVIC, V.; MORA, C.; RODGERS-JOHNSON, P.; SHEREMATA, W. A.; GIBBS, C. J.; GAJDUSEK, C.; McFARLIN, D. E. Immunological finding in neurological diseases; activated lymphocytes in tropical spastic paraparesis. **Ann. Neurol.**, v. 23, p. S196, 1988.

KAJIYAMA, W.; KASHWAGIS, S.; IKEMATSU, H.; HAYASHI, J.; NOMURA, H.; OKOCHI, K. Intrafamilial transmission of adult T cell leukemia virus. **J. Infect. Dis.**, v. 154, p. 851-857, 1986.

KALYANARAMAN, V. S.; SARNGADHARAN, M. G.; ROBERT-GUROFF, M. A. A new subtype of human T cell leukemia virus (HTLV II) associated with a T cell variant of hairy cell leukemia. **Science**, v. 218, n. 5, p. 571-573, 1982.

KAMADA, N.; SAKURAI, M.; MIYAMOTO, K.; SANADA, L.; SADAMORI, N.; FUKUHARA, S. Chromosome abnormalities in adult T-cell leukemia/lymphoma: a karyotype review committee report. **Cancer Res.**, v. 52, p. 1481-1493, 1992.

KAPLAN, J. E.; KHABBAZ, R. F.; MURPHY, E. L.; HERMANSEN, S.; ROBERTS, C.; LAL, R.; HENEINE, W.; WRIGTH, D.; MATIJAS, L.; THOMPSON, R. Male to

female transmission of human T-cell lymphotropic virus types I and II: associated with viral load. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.**, v. 12, p. 193-201, 1996.

KAPLAN, J. E.; KHABBAZ, R. F. The epidemiology of human T- lymphotropic virus types I and II. **Med. Virol.**, v. 33, p. 137-148, 1993.

KITAMURA, K. et al. Isolation, characterization, and transmission of human T- lymphotropic virus types I and II in culture. **Curr. Microbiol.**, v. 27, p. 355-360, 1993.

KLIMAS, N. G.; BLANEY, N. T.; MORGAN, R. O.; CHITWOOD, D.; MILLES, K.; LEE, H.; FLETCHER, M. A. Immune function and anti-HTLV-I/II status in anti-HIV-negative intravenous drug users receiving methadone. **Am. J. Med.**, v. 90, p. 163-170, 1991.

KOMURO, A.; HAYAMI, M.; FUJI, M.; MIYAHARA, S.; HIRAYAMA, M. Vertical transmission of adult T-cell leukemia virus. **Lancet**, v. 1, p. 240, 1983.

LAL, R. B.; LIPKA, J. J.; FOUNG, S. K.; HADLOCK, K. G.; REYES, G. R.; CARNEY, W. P. Human T lymphotropic virus type I/II in Lake Lindu Valley, Central Sulawesi, Indonesia. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.** v. 6, p. 1067-1068, 1993.

LAL, R. B.; RUDOLPH, D. L.; SCHMID, D. S.; LAIRMORE, M. D. Concomitant augmentation of CD4+ CD29+ helper inducer and diminution of CD4+ CD44RA+ suppressor inducer subset in patients infected with human T cell lymphotropic virus types I or II. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 87, p. 293-297, 1992.

LAL, R. B.; RUDOLPH, D. L.; ROBERTS, C.; HONDA, M. Elevated levels of CD8 and CD25 in patients with HTLV-I associated myelopathy and adult T cell leukemia. **J. Infect. Dis.**, v. 164, p. 429-430, 1991.

female transmission of human T-cell lymphotropic virus types I and II: associated with viral load. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.**, v. 12, p. 193-201, 1996.

KAPLAN, J. E.; KHABBAZ, R. F. The epidemiology of human T- lymphotropic virus types I and II. **Med. Virol.**, v. 33, p. 137-148, 1993.

KITAMURA, K. et al. Isolation, characterization, and transmission of human T- lymphotropic virus types I and II in culture. **Curr. Microbiol.**, v. 27, p. 355-360, 1993.

KLIMAS, N. G.; BLANEY, N. T.; MORGAN, R. O.; CHITWOOD, D.; MILLES, K.; LEE, H.; FLETCHER, M. A. Immune function and anti-HTLV-I/II status in anti-HIV-negative intravenous drug users receiving methadone. **Am. J. Med.**, v. 90, p. 163-170, 1991.

KOMURO, A.; HAYAMI, M.; FUJI, M.; MIYAHARA, S.; HIRAYAMA, M. Vertical transmission of adult T-cell leukemia virus. **Lancet**, v. 1, p. 240, 1983.

LAL, R. B.; LIPKA, J. J.; FOUNG, S. K.; HADLOCK, K. G.; REYES, G. R.; CARNEY, W. P. Human T lymphotropic virus type I/II in Lake Lindu Valley, Central Sulawesi, Indonesia. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.** v. 6, p. 1067-1068, 1993.

LAL, R. B.; RUDOLPH, D. L.; SCHMID, D. S.; LAIRMORE, M. D. Concomitant augmentation of CD4+ CD29+ helper inducer and diminution of CD4+ CD44RA+ suppressor inducer subset in patients infected with human T cell lymphotropic virus types I or II. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 87, p. 293-297, 1992.

LAL, R. B.; RUDOLPH, D. L.; ROBERTS, C.; HONDA, M. Elevated levels of CD8 and CD25 in patients with HTLV-I associated myelopathy and adult T cell leukemia. **J. Infect. Dis.**, v. 164, p. 429-430, 1991.

LANGHORN, F. R. Epidemiologia. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Retrovíroses humanas - doenças associadas ao HTLV**. São Paulo: Atheneu, 2000. p. 11-17.

LEE, H.; SWANSON, P.; SHORTY, V. S.; ZACK, J. A.; ROSENBLATT, J. D.; CHEN, S. Y. High rate of HTLV-II infection in seropositive IV drug abusers in New Orleans. **Science**, v. 244, p. 471-475, 1989.

LESSA, I.; MORAES, D.; MOURA, L.; MELO, A. HTLV-I and myelopathy in Salvador (Northeastern Brazil). **Arq. Neuropsiquiatr.**, v. 51, p. 447-451, 1993.

LEVINE, P. H.; BLATTNER, W. A.; CLARK, J.; TARONE, R.; MALONEY, E. M.; MURPHY, E. M.; GALLO, R. C.; ROBERT-GUROFF, M.; SAXINGER, W. C. Geografic distribution of HTLV-I and identification of a new higt-risk population. **Int. J. Cancer**, v. 42, p. 7-12, 1988.

LIMA, M S. HTLV em doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará- Estudos sorológicos e hematológicos.1994. 32 pág. Monografia (Especialização em Hematologia e Hemoterapia) – Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1994.

LOUREIRO, P.; CAETANO, A.; ARRUDA, B. Strongyloides stercoralis em indivíduos positivos e indeterminados para o Vírus Linfotrópicos de Células T humanas do tipo I (HTLV-I). In: CONGRESSO NACIONAL DO COLÉGIO BRASILEIRO DE HEMATOLOGIA, 18., 2001, Fortaleza. **Hemoterapia**. Série de Monografias da Escola Brasileira de Hematologia. v.8, p. 187.

MAHIEUX, R.; HORAL, P.; MAUCLÈRE, P.; MERCERAU-PUJALON, O.; GUILLOTTE, M.; MEERTENS, L.; MURPHY, E.; GESSAIN, A. Human T-cell lymphotropic virus type I gag indeterminate Western blot patterns in Central Africa: relationship to Plasmodium falciparum infection. **J. Clin. Microbiol**, v. 38, n. 11, p. 4049-4057, 2000.

MALONEY, E. M.; RAMIREZ, H.; LEVINE, A.; BLATTNER, W. A. A survey of the human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) in South-Western Colombia. **Int. J. Cancer**, v. 44, p. 419-423, 1989.

MANNS, A.; BLATTNER, W. A. The epidemiology of the T-cell lymphotropic virus type I and type II: etiologic role in human disease. **Transfusion**. 1991; v. 31, p. 67-75, 1991.

MANNS, A.; WILKS, R. J.; MURPHY, E. L. A prospective study of transmission by transfusion of HTLV-I and risk factors associated with seroconversion. **Int. J. Cancer**, v. 51, p. 886-891, 1992.

MARRIOT, S. J. Human T-lymphotropic virus-I (HTLV-I). In: MCKENDALL, R. R.; STROOP, W. G. **Handbook of virology**. New York: Marcel Dekker, 1994. p. 723-736.

MARTINS, M. L.; PROIETTI, A. B. F. C. Características biológicas dos vírus HTLV-I/II. In: PROIETTI, A. B. F. C. **Cad. Hemominas – HTLV-I/HTLV-II** v. 11, p. 11-20, 2000.

MARTINS-CASTRO, L. H.; CHAVES, C. J.; CALLEGARO, D.; NÓBREGA, J. P. S.; SCAFF, M. HTLV-I associated myelopathy in Brazil: a preliminary report. **Arq. Neuropsiquiatr**, v. 47, p. 501-502, 1989.

MAUCLÈRE, P.; LE HESRAN, J. Y.; MAHIEUX, R.; SALLA, R.; MILLAN, J.; DE THÉ, G.; ABADA, E. T.; GESSAIN, A. Demographic, ethnic, and geographic differences between human T-cell lymphotropic virus (HTLV) type-I seropositive carriers and persons with HTLV-I gag-indeterminate Western blots in Central Africa. **J. Infect. Dis.** v. 176, p. 505-509, 1997.

MENNA BARRETO, M.; RABOLINI, G.; DOVAL, A.; BIANCHINI, O.; JARDIM, C. Paraparesia espástica tropical (HAM). In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Retrovíruses humanas: doenças associadas ao HTLV**. São Paulo: Atheneu, 2000. p. 71-88.

MENNA-BARRETO, M.; DOVAL, A.; RABOLINI, G.; BIANCHINI, O. HTLV-I associated myelopathy in Porto Alegre (Southern Brazil). *Arq. Neuropsiquiatr.*, v. 53, p. 771-776, 1995.

MILLER, G. J.; PEGRAM, S. M.; KIRKWOOD, B. R.; BECKELES, G. L. A.; CLAYDEN, S. A.; KINLEN, L. J.; CARSON, D. C.; GREAVES, M. F. Ethnic composition, age and sex, together with location and standard of housing as determinants of HTLV-I infection in an urban Trinidadian community. *Int. J. Cancer*, v. 38, p. 801-808, 1986.

MOREIRA, E. D.; RIBEIRO, T. P.; SWANSON, P.; SAMPAIO, C.; MEIO, A.; BRITES, C.; BADARO, R.; TOEDTER, G.; LEC, H.; HARRINGTON, W. Seroepidemiology of human T-cell lymphotropic virus type I/II in Northeastern Brazil. *J. Acq. Immune Defic. Syndr*, v. 6, p. 959-963, 1993.

MORENO CARVALHO, O. A.; SANTOS, J. I.; Di CREDICO, G.; GALVÃO-CASTRO, B. Evidence of preferential female prevalence of HTLV-I associated tropical spastic paraparesis in Bahia-Brazil. *Arq. Neuropsiquiatr.*, v. 50, n. 2, p. 183-188, 1992.

MORI, M.; BAN, N.; KINOSHITA, K. Familial occurrence of human T-cell leukemia/lymphoma virus type I associated myelopathy. *Ann. Neurol.*, v. 23, p. 100, 1988.

MOROFUJI-HIRATA, M.; KAJIYAMA, W.; NAKASHIMA, K. Prevalence of antibody to human T-cell lymphotropic virus type I in Okinawa, Japan, after an intervals of 9 years. *Am. J. Epidemiol.*, v. 137, n. 1, p. 43-48, 1993.

MUELLER, N. The epidemiology of HTLV-I infection. *Cancer Causes Cont.*, v. 2, p. 37-52, 1991.

MURPHY, E. L.; BLATTNER, W. A. HTLV-I associated leukemia: a model for chronic retroviral diseases. *Ann. Neurol.*, v. 23, p. S174-S180, 1987.

MURPHY, E. L.; FIGUEROA, P.; GIBBS, W. N.; BRATHWAITE, A.; WATERS, D.; CRANSTON, B.; HANCHARD, B.; BLATTNER, W. A. Sexual transmission of human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I). **An Intern. Med.**, v. 111, p. 555-560, 1989.

NAGAI, M.; JACOBSON, S. Immunopathogenesis of human T-cell lymphotropic virus type I-associated myelopathy. **Curr. Opin. Neurol.**, v. 14, p. 381-386, 2001.

NAGAUCHI, V. apud POMBO DE OLIVEIRA, M. S. Simpósio Internacional Sobre HTLV no Brasil, 2. : Relatório Científico. **Bol. Soc. Bras. Dermatol. Hemoter.**, v. 15, n. 164, p. 85-91, 1993.

NAKADA, K.; KOHAKURA, M.; KOMODA, H.; HINUMA, Y. High incidence of HTLV antibody in carriers of *Strongyloides stercoralis*. **Lancet**, v. 1, p. 633, 1984.

NAM, S. H.; KIDOKORO, M.; SHIDA, H.; HATANAKA, M. Processing of gag precursor polyprotein of human T-cell leukemia virus type I by virus-encoded protease. **J. Virol.**, v. 62, p. 3718-3728, 1988.

NOGUEIRA, C. M.; CAVALCANTI, M.; SCHECHTER, M.; FERREIRA, O. C. Human T lymphotropic virus type I and II infections in healthy blood donors from Rio de Janeiro, Brazil (letter). **Vox Sang.**, v. 70, p. 47-48, 1996.

OKOCHI, K.; SATO, H.; HINUMA, Y. A retrospective study on transmission of adult T cell leukemia virus by blood transfusion: seroconversion in recipients. **Vox Sang.**, v. 46, p. 245-253, 1984.

OROSZLAN, S.; COPELAND, T. D.; KALYANARAMAN, V. S.; GALLO, R. C. Chemical analysis of human T-cell leukemia virus structural protein. In: GALLO, R. C.; ESSEX, M. E.; GROSS, L. **Human T-cell leukemia/lymphoma viruses**. New York: Cold Spring Harbor, 1984, p. 101-110.

OSAME, M.; IGATA, A.; MATSUMOTO, M. HTLV-I associated myelopathy (HAM), treatment trials, retrospective survey and clinical and laboratory findings. **Hematol. Rev.**, v. 3, p. 271-284, 1990.

OSAME, M.; IZUMA, S.; IGATA, A.; MATSUMOTO, M.; MATSUMOTO, T.; SONODA, S.; TARA, M.; SHIBATA, Y. Blood transfusion and HTLV-I associated myelopathy. **Lancet**, v. 2, p. 104-105, 1986.

OSAME, M.; MATSUMOTO, M.; USUKU, K. Chronic progressive myelopathy associated with elevated antibodies to human T-lymphotropic virus type I and adult T-cell leukemia like cells. **Ann. Neurol.**, v. 21, p. 117-122, 1987.

OSAME, M. Mielopatía asociada con el HTLV-I (HAM/PET) en Japon. In: ZANINOVIC, V.; GALINDO, J.; BLANK, A. **Enfermedades asociadas con el virus HTLV-I**. Cali: Fundacion MAR, 1992. p. 87-96.

PEAKMAN, M.; VERGANI, D. **Imunología básica e clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 309p.

POIESZ, B. J.; RUSCETTI, F. W.; REITZ, M. S. Isolation of a new type C retrovirus (HTLV) in primary uncultured cells of a patient with Sezary T cell leukemia. **Nature**, v. 294, p. 268-271, 1981.

POIESZ, B. J.; RUSCETTI, F. W.; GAZDAR, A. F.; GALLO, R. C. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 77, p. 7415-7419, 1980.

POMBO DE OLIVEIRA, M. S.; HAMERSCHLACK, N.; CHIATTONE, C. S.; LOUREIRO, P. HTLV-I infection and adult T-cell leukemia in Brazil: an overview. **São Paulo Med. J.**, v. 114, p. 1177-1185, 1996.

POMBO DE OLIVEIRA, M. S. Leucemia/Linfoma de Células T do Adulto. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2001. cap. 63, p. 717 – 727.

_____. Simpósio Internacional Sobre HTLV no Brasil, 2. : Relatório Científico. **Bol. Soc. Bras. Hermatol. Hemoter.**, v. 15, n. 164, p. 85-91, 1993.

POPOVIC, M.; REITZ, M. S.; SARNGADHARAN, M. G. The vírus of Japanese adult T-cell leukemia is a member of the human T-cell leukemia virus group. **Nature**, v. 300, p. 63-66, 1982.

PRINCE, H. E.; YORK, J.; OWEN, S. M.; LAL, R. B. Spontaneous proliferation of memory (CD45RO+) and naive (CD45RO-) subsets of CD4 cells and CD8 cells in human T lymphotropic virus (HTLV) infection: distinctive patterns for HTLV-I versus HTLV-II. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 102, p. 256-261, 1995.

PRINCE, H. E. American blood donors seropositive for human T-lymphotropic vírus types I/II exhibit normal lymphocyte subsets. **Transfusion**, v. 30, p. 787-790, 1990.

PROIETTI, F. A.; SOARES, B. C.; PROIETTI, A. B. C. Seroprevalence correlates of Human T- Cell Lymphotropic vírus (HTLV-I/II) infection among blood donors of hemominas foundation, Belo Horizonte, Minas Gerais states, Brazil, 1994-1999. In: CONGRESSO NACIONAL DO COLÉGIO BRASILEIRO DE HEMATOLOGIA, 28., 2001, Fortaleza. **Hemoterapia**. Série de Monografias da Escola Brasileira de Hematologia. v.8, p. 187.

PROIETTI, F. A. Epidemiologia do HTLV-I/II no Brasil e no mundo. In: PROIETTI, A. B. F. C. **Cad. Hemominas- HTLV-I/HTLV- II**. v. 3, p. 22-34, 1994.

RAMIREZ, H. C. Tipificación de linfócitos. In: ZANINOVIC, V.; GALINDO, J.; BLANK, A. **Enfermedades asociadas con el virus HTLV-I**. Cali: Fundación MAR, 1992. P. 71-75.

REIS, M. M. **Testes Imunológicos**: manual ilustrado para profissionais da saúde. Porto Alegre: AGE, 1998. P. 17-105.

RICHARDSON, J. H.; EDWARDS, A. J.; CRUICKSHANK, J. K.; RUDGE, P.; DALGLEISH, A. G. In vivo cellular tropism of human T-cell leukemia virus type I. **J. Virol.**, v. 64, p. 5682-5687, 1990.

ROUET, F.; MEERTENS, L.; COUROUBLE, G.; HERRMANN-STORCK, C.; CHANCEREL, B.; ABID, A.; STROBEL, M.; MAUCLERE, P.; GESSAIN, A. Serological, epidemiological, and molecular differences between human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) seropositive healthy carriers and persons with HTLV-I gag indeterminate Western blot patterns from the Caribbean. **J. Clin. Microbiol.**, v. 39, n. 4, p. 1247-1253, 2001.

RUIZ, F.; CARTIER, L.; ARAYA, F. et al. apud ZANINOVIC, V.; GALINDO, J.; BLANK, A. **Enfermedades asociadas con el virus HTLV-I**. Cali: Fundación MAR, 1992. p. 59-70.

SABINO, E. C.; ZREIN, M.; TABORDA, C. P.; OTANI, M. M.; RIBEIRO-DOS-ANJOS, G.; SÁEZ-ALQUÉZAR, A. Evaluation of the INNO-LIA HTLV-I/II assay for confirmation of human T-cell leukemia virus-reactive sera in blood bank donations. **J. Clin. Microbiol.**, v. 37, p. 1324-1328, 1999

SALEMI, M. M. **Molecular investigation of the origin and genetic stability of human T-cell lymphotropic viruses**. 1999. 165p. Tese (Doutorado em Ciências) – Departamento de Microbiologia e Imunologia, Katholieke Universiteit Leuven, Bélgica.

SANTOS, T. J. T. **Estudo biomolecular de indivíduos soroindeterminados para o retrovírus HTLV-I/ II.** 2001. p. 203. Tese (Doutorado em Ciências). Departamento de Fisiologia e Farmacologia. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2001.

SARIM, S. G.; FANG, C.; WILLIAMS, A. Retroviral infections transmitted by blood transfusion. **Yale J. Biol. Med.**, v. 82, p. 1100-1106, 1990.

SCHATZL, H.; SCHWARZFISCHER, G.; ROSE, D.; GATHOL, B.; WEISE, W.; DEINHARDT, F.; VON-DER-HELM, K. Prevalence of human T-cell lymphotropic virus infection in Germany. **J. Med. Virol.**, v. 43, p. 159-160, 1994.

SCHATZL, H.; SCHWARZFISCHER, G.; ROSE, D.; GATHOL, B.; WEISE, W.; DEINHARDT, F.; VON-DER-HELM, K. Prevalence of human T-cell lymphotropic virus infections in Germany. **J. Med. Virol.**, v. 43, p. 159-160, 1994.

SCHUPBACH, J. Human retrovirology. Facts and concepts. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.**, v. 142, p. 1-27, 1989.

SCREIBER, G. B.; BUSCH, M. P.; KLEINMAN, S. H.; KORELITZ, J. The risk of transfusion-transmitted viral infections. **N. Engl. J. Med.**, v. 334, n. 26, p. 16-21, 1996.

SEGURADO, A. A. C.; MALAQUE, C. M. S.; SUMITA, L. M.; PANNUTI, C. S.; LAL, R. B. Laboratory characterization of human T-cell lymphotropic virus types I (HTLV-I) and II (HTLV-II) infections in blood donors from São Paulo (Brazil). **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 57, n. 2, p. 142-148, 1997.

SEGURADO, A. A. C. Atualização científica – vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos I (HTLV-I) e II (HTLV-II); **Medicina Conselho Federal**, v. 14, n. 104, p. 17-18, 1999.

SEGURADO, A. A. C. HTLV-I: aspectos virológicos e caracterização de subtipos virais. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Retroviroses humanas - doenças associadas ao HTLV**. São Paulo: Atheneu, 2000. cap 1, p. 3-9.

SEGURADO, A. A. C. Infecção por HTLV-I e HTLV-II. In: FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S. L. M. **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 103-110.

SEIKI, M.; EDDY, R.; SHOWS, T. B.; YOSHIDA, M. Non-specific integration of the HTLV provirus genome into adult T-cell leukemia cells. **Nature**, v. 309, p. 640-642, 1984.

SEIKI, M.; HATTORI, S.; HIRAYAMA, Y.; YOSHIDA, M. Human adult T-cell leukemia vírus: complete nucleotide sequence of the provirus genome integrated in leukemia cell DNA. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 80, p. 3618-3622, 1983.

SEIKI, M.; HIKIKOSHI, A.; TANIGUSHI, T.; YOSHIDA, M. General splicing mechanism in the HTLV family. **Science**, v. 228, p. 1532, 1985.

SEIKI, M.; INOUE, J.; TAKEDA, T.; YOSHIDA, M. Direct evidence that p40x of human T-cell leukemia virus type I is a trans-acting transcriptional activator. **Embo J.**, v. 5, p. 561-565, 1986.

SHIMOTOHNO, K.; TAKAHASHI, Y.; SHIMIZU, N. Complete nucleotide sequence of an infectious clone of human T-cell leukemia virus type II: an open reading frame for the protease gene. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 82, p. 3101-3105, 1985.

SILVA, K. L. T.; MORAIS, M. P. E.; MELO, C. S.; ALVES, L. R. P.; ABRAHIM, C. M.; SILVA, U. G.; GATO, C. M.; CAMPOS, C. Frequência dos vírus linfotrópicos de células T humanas (HTLV-I/II) em doadores de sangue da fundação de hematologia e hemoterapia do Amazonas (HEMOAM). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA, 25., 2002. Salvador. **Doenças Transmissíveis pelo Sangue**. pág 63.

SOARES, A. F. Classificação morfológica e aspectos histológicos principais dos linfomas não-Hodgkin. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2001. cap. 57, p. 627-643.

SOARES, B. C. C.; DE CASTRO, M. S. M.; PROIETTI, F. A. Epidemiologia do HTLV-I/II. In: PROIETTI, A. B. F. C. **Cad. Hemominas – HTLV-I/HTLV-II**. v. 11, p. 53-75, 2000.

SOARES, F. A.; ARIAS, V. E. A. Linfomas não Hodgkin de células T. In: ALVES, V. A. F.; BACCHI, C. E.; VASSALO, J. **Manual de Imunohistoquímica**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Patologia, 1999. p. 141-146.

SODROSKI, J.; ROSEN, C.; GOH, W. C.; HASELTINE, W. A transcriptional activator protein encoded by the X-*lor* region of the human T-cell leukemia virus. **Science**, v. 228, p. 1430-1434, 1985.

SONODA, S.; OSAME, M.; MATSUMOTO, M. Immunological aspects of HTLV-I infections. In: ROMAN, G. C.; VERNANT, J. C.; OSAME, M. HTLV-I and the nervous system. New York: Alan R. Liss, 1989. p. 277-286.

SONODA, S. Determinantes geneticos e inmunologicos de las enfermedades asociadas con el HTLV-I. In: ZANINOVIC, V.; GALINDO, J.; BLANK, A. **Enfermedades asociadas con el virus HTLV-I**. Cali: Fundacion MAR, 1992. p. 167-176.

SORIANO, V.; VALLEJO, A.; GUTIÉRREZ, M.; ADELANTADO, M.; THE HTLV SPANISH STUDY GROUP. Epidemiology of HTLV-I/II infection in Spain. **J. Acq. Immune. Defic. Syndr. Human Retrovirol.**, v. 10, n. 2, p. 251, 1995.

SPECTOR, N. Biologia celular, molecular e imunologia dos linfomas. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2001. cap. 54, p. 589–598.

STRANKS, G.; HEIGHT, S. E.; MITCHEL, P.; JADAYEL, D.; YUILLE, M. A.; DE LORD, C. Deletions and rearrangement of CDKN2 in lymphoid malignancy. **Blood**, v. 85, p. 893-901, 1995.

SUGIMOTO, M.; MITA, S.; TOKUNAGA, M.; YAMAGUCHI, K.; CHO, I.; MATSUMOTO, M.; MOCHIZUKI, M.; ARAKI, S.; TAKATSUKI, T.; ANDO, M. Pulmonary involvement in human T-cell lymphotropic virus type-I: T-lymphocytosis and high proviral DNA load in bronchoalveolar lavage fluid. **Eur. Resp. J.**, v. 6, p. 938-943, 1993.

SUGIYAMA, H.; DOI, H.; YAMAGUCHI, K.; TSUJI, Y.; HINO, S. Significance post-natal mother to child transmission of T-lymphotropic virus type-I on the development of adult T-cell leukemia/lymphoma. **J. Med. Virol.**, v. 20, p. 253-260, 1986.

TACHIBANA, N.; OKAYAMA, A.; ISHIHARA, S.; SHIOIRI, S.; MURAI, K.; TSUDA, K.; GOYA, N.; MATSUO, Y.; ESSEX, M.; STUVER, S.; MUELLER, N. High HTLV-I proviral DNA level associated with abnormal lymphocytes in peripheral blood from asymptomatic carriers. **Int. J. Cancer**, v. 51, p. 593-595, 1992.

TAJIMA, K.; TOMINAGA, S.; SUCHI, T.; KAWAGOE, T.; KONODA, H.; HINUMA, Y.; ODA, T.; FUJITA, K. Epidemiological analysis of the distribution of antibody to adult T-cells leukemia virus-associated antigen: possible horizontal transmission of adult T-cell leukemia virus. **Jpn. J. Cancer Res.**, v. 73, p. 893-901, 1982.

TAKAYANAGUI, O. M. Mielopatia associada ao HTLV-I/ Paraparesia espástica tropical (HAM/TSP). In: PROIETTI, A B F C. **Cad. Hemominas- HTLV-I/HTLV- II.** v. 11, p. 109-129, 2000.

TANAKA, Y.; ODA, S.; NAGATA, K.; MORI, N.; SAKAMOTO, H.; ETO, S.; YAMASHITA, U. Immunological functions and phenotypes of peripheral blood lymphocyte from human T-cell leukemia virus-I carriers. **J. Clin. Immunol.**, v. 9, p. 477-484, 1989.

TANGY, F. Molecular biology of HTLV-I. In: ZANINOVIC, V. **HTLV-Truths and questions**. Cali: Colciencias/Fundación MAR, 1996. p. 1-13.

UCHIYAMA, T.; YODOI, J.; SAGAWA, K. Adult T cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. **Blood**, v. 50, n. 3, p. 481-492, 1977.

UEDA, K.; KUSUHARA, K.; TOKUGAWA, .K.; MYAZAKI, C.; YOSHIDA, C.; TOKUMURA, K.; SONODA, S.; TAKAHASHI, K. Cohort effect on HTLV-I seroprevalence in Southern Japan. **Lancet**, v. 2, p. 979, 1989.

VAN- BRUSSEL, M.; GOUBAU, P.; ROUSSEAU, R.; VANDAMME, A. The genomic structure of a new primate T-lymphotropic virus, STLV – PH969, differs from that of simian T-lymphotropic virus type I and human T-lymphotropic virus type I and II. **J. Gen. Virol.**, v.77, p. 347-358, 1996.

VERONESI, R.; YAMASHITA, M.; HAYAMI, A. Análise Filogenética dos HTLV-I Isolados no Brasil. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Retroviroses humanas: doenças associadas ao HTLV**. São Paulo: Atheneu, 2000. p. 23-31.

VERONESI, R. HTLV no Brasil. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Retroviroses humanas: doenças associadas ao HTLV**. São Paulo: Atheneu, 2000. p. 19-22.

VIDAL, A. U.; GESSAIN, A.; YOSHIDA, M.; GARIN, B.; SCHULZ, T.; THÉ, G. D. Phylogenetic classification of human T cell leukemia/lymphoma virus type I genotypes in five major molecular and geographical subtypes. **J. Gen. Virol.**, v. 75, p. 3655-3666, 1994.

WATANABE, T.; SEIKI, M.; YOSHIDA, M. HTLV type I (U.S. isolate) and ATL (Japanese isolate) are the same species of human retrovirus. **Virology**, v. 133, p. 238-241, 1984.

WENDEL, S.; FACHINI, R.; LEVI, J. E. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo HTLV. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Retroviroses humanas: doenças associadas ao HTLV**. São Paulo: Atheneu, 2000. p. 93-97.

YAMADA, Y.; HATTA, Y.; MURATA, K. Deletions of p15 and/or p16 genes as a poor-prognosis factor in adult T-cell leukemia. **J. Clin Oncol.**, v. 15, p. 1778-1785, 1997.

YAMAGUCHI, K.; KIYOKAWA, T.; NAKADA, K.; YUL, L. S.; ASOU, N.; ISHII, T.; SONADA, I.; SEIKI, M.; YOSHIDA, M.; MATUTES, E.; CATOVSKY, D.; TAKATSUKI, K. Polyclonal integration of HTLV-I proviral DNA in lymphocytes from HTLV-I seropositive individuals: an intermediate state between the healthy carrier state and smoldering ATL. **Brit. J. Hematol.**, v. 68, p. 169-174, 1988.

YAMAGUCHI, K. Leucemia e linfomas de linfócitos T do adulto. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Retroviroses humanas: doenças associadas ao HTLV**. São Paulo: Atheneu, 2000. cap 4, p. 65-69.

YAMAMOTO, J. H. Uveíte associada ao HTLV-I. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Retroviroses humanas: doenças associadas ao HTLV**. São Paulo: Atheneu, 2000. p. 89-92.

YAMASHITA, M.; IDO, E.; MIURA, T.; HAYAMI, M. Molecular epidemiology of HTLV-I in the world. **J. Acq. Immune. Defic. Syndr. Human Retrov.**, v. 13, n. 1, p. S124-S131, 1996.

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. **J. Infect. Dis.**, v. 162, p. 649-654, 1990.

YASUDA, K.; SEI, Y.; YOKOYAMA, M. M.; TANAKA, K.; HARA, A. Healthy HTLV-I carriers in Japan: the hematological and immunological characteristics. **Br. J. Haematol.**, v. 64, p. 195-203, 1986.

YOSHIDA, M.; MIYOSHI, I.; HINUMA, Y. Isolation and characterization of retrovirus from cell lines of human adult T-cell leukemia and its implication in the disease. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 79, p. 2031-2035, 1982.

YOSHIDA, M.; SEIKI, M.; YAMAGUCHI, K. Monoclonal integration of human T-cell leukemia provirus in all primary tumors of adult T-cell leukemia suggests causative role of human T-cell virus in the disease. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 77, p. 7415-7419, 1980.

ZAAIJER, H. L.; CUYPERS, H. T.; DUDOK-DE-WIT, C.; LEITE, P. N. Results of 1-year screening of donors in the Netherlands for human T-lymphotropic virus (HTLV) type I: significance of Western blot patterns for confirmation of HTLV infection. **Transfusion**, v. 34, p. 877-880, 1994.

ZANINOVIC, V. On the etiology of tropical spastic paraparesis and human T-cell lymphotropic virus-I associated myelopathy. **Int. J. Infect. Dis.**, v. 3, n. 3, p. 168-177, 1999.

ZANINOVIC, V. Paraparesia espástica tropical en Colombia. In: ZANINOVIC, V.; GALINDO, J.; BLANK, A. **Enfermedades asociadas con el virus HTLV-I**. Cali: Fundacion MAR, 1992. p. 77-85.

ZELLA, D.; MORI, L.; SALA, M.; FERRANTE, P.; CASOLI, C.; MAGNANI, G.; ACILLI, G.; CATTANEO, E.; LORI, F.; BERTAZONNI, V. HTLV-II infection in Italian drug abusers. **Lancet**, v. 336, p. 575-576. 1990.

ZENG, Y.; XY, L.; FANG, J.; WANG, P. Z.; WANG, Y. R.; SUI, Y. F.; WANG, Z. T.; HINUMA, Y. HTLV antibody in China. **Lancet**, v. 1, p. 799-800, 1984.

ANEXOS

ANEXO - 1

PERFIL IMUNOFENOTÍPICO DE CÉLULAS LINFÓIDES CIRCULANTES EM PACIENTES SOROPOSITIVOS PARA O VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS (HTLV-I)

1- IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE

Nome:----- Sexo: M () F ()
 Endereço:----- Telefone:-----
 Estado civil:----- Naturalidade: -----
 Tempo de residência ----- Já residiu em outras cidades -----

2- HISTÓRIA PATOLÓGICA PREGRESSA

Transfusão sanguínea prévia () Sim () Não

Observação:-----

Já contraiu doenças sexualmente transmissíveis () Sim () Não

Observação:-----

Outras doenças prévias relevantes (lepra, chagas, câncer hepatite e outras): -----

3- HISTÓRIA PESSOAL E FAMILIAR

Amamentação-----

Pais: ----- Irmãos: ----- Filhos: ----- Cônjuge: -----

Acidentes ----- Cirurgias -----

Vida sexual: inativa () heterossexual () bissexual () homossexual ()

Nº de parceiros referidos: -----

Uso de drogas injetáveis () Sim () Não

Observação:-----

Tatuagem () Sim () Não Etilismo () Sim () Não Tabagismo () Sim () Não

4- RESULTADOS DOS EXAMES

ELISA (---/---/---): -----

WESTERN BLOT (---/---/---): -----

IMUNOFENOTIPAGEM (---/---/---): -----

ANEXO – 2

DOADORES SOROPOSITIVOS SINTOMÁTICOS PARA O VÍRUS
LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS (HTLV-I)

CASOS	IDADE	SEXO	HGB	NEU	LIN	PLA	CD3	CD4	CD8	CD4/CD8
1	46A	F	13,7	5,56	1,33	226	1080	626	414	1.51
2	35A	F	13,8	5,61	2,26	232	1589	821	684	1.20
3	28A	M	16,0	7,27	1,61	295	1069	562	446	1.26
4	65A	F	13,9	5,97	2,26	301	1399	1018	343	2.97
5	76A	M	15,4	7,50	1,41	147	1042	522	485	1.08
6	63A	M	15,9	3,43	1,68	227	1118	508	598	0.85
7	66A	M	10,6	6,41	2,19	236	1561	594	945	0.63
8	63A	F	12,3	4,25	2,55	278	1445	1025	395	2.59
9	41A	F	10,5	3,29	2,08	209	1160	620	370	1.68
10	39A	M	14,6	3,94	2,99	300	1964	980	917	1.07
11	62A	F	14,0	5,62	3,38	300	2417	1198	1244	0.96

IDADE: anos; SEXO: M- masculino, F- feminino; HGB: dosagem de hemoglobina em g/dL; NEU: contagem absoluta de neutrófilos em mm^3 ; LIN: contagem absoluta de linfócitos em mm^3 ; PLA: contagem absoluta de plaquetas em mm^3 ; CD3: contagem de linfócitos CD3+ em mm^3 ; CD4: contagem de linfócitos CD4+ em mm^3 ; CD8+: contagem de linfócitos CD8+ em mm^3 e CD4+/CD8+: relação entre CD4+ e CD8+.

ANEXO – 3

DOADORES SOROPOSITIVOS ASSINTOMÁTICOS PARA O VÍRUS
LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS (HTLV-1)

CASOS	IDADE	SEXO	HGB	NEU	LIN	PLA	CD3	CD4	CD8	CD4/CD8
1	49A	F	13,0	4,21	1,77	204	1265	828	424	1.95
2	31A	F	14,1	5,84	2,58	325	2373	1409	842	1.67
3	50A	F	13,0	5,16	2,67	359	1993	1304	644	2.02
4	30A	F	12,4	4,88	1,86	17	1418	649	731	0.89
5	44A	M	13,6	3,00	1,35	218	1255	615	578	1.06
6	59A	M	15,7	3,02	2,40	233	1619	1055	527	2.00
7	68A	F	14,5	7,88	3,84	37	3448	1912	1587	1.20
8	59A	F	13,1	3,17	1,51	255	1085	549	500	1.10
9	19A	M	15,4	7,19	1,75	305	1229	808	364	2.22
10	57A	M	15,1	3,75	3,62	311	2667	1499	1034	1.45
11	34A	M	14,6	4,28	2,04	208	1268	886	330	2.68
12	38A	M	16,1	0,87	3,60	257	1284	829	429	1.93
13	44A	F	12,4	4,03	1,65	268	1103	745	310	2.40
14	59A	M	15,0	3,24	1,44	264	1041	541	307	1.76
15	45A	M	14,4	1,96	1,80	162	1425	736	641	1.15
16	50A	F	13,0	7,64	2,16	255	1708	784	848	0.92
17	44A	F	13,0	3,30	3,07	278	1781	1112	573	1.94
18	20A	F	12,9	3,90	2,95	248	2068	1160	844	1.37
19	50A	F	13,1	3,87	2,19	245	1304	907	388	2.34
20	34A	F	13,1	3,21	2,35	214	1550	921	514	1.79
21	29A	F	14,1	2,33	2,72	308	1798	1042	720	1.45
22	57A	M	15,4	1,52	2,99	230	1971	1202	734	1.64
23	35A	M	16,1	2,88	1,57	266	1226	687	478	1.44
24	44A	F	12,4	1,23	1,45	267	907	638	240	2.66

IDADE: anos; SEXO: M- masculino, F- feminino; HGB: dosagem de hemoglobina em g/dL; NEU: contagem absoluta de neutrófilos em mm^3 ; LIN: contagem absoluta de linfócitos em mm^3 ; PLA: contagem absoluta de plaquetas em mm^3 ; CD3: contagem de linfócitos CD3+ em mm^3 ; CD4: contagem de linfócitos CD4+ em mm^3 ; CD8+: contagem de linfócitos CD8+ em mm^3 e CD4+/CD8+: relação entre CD4+ e CD8+.

ANEXO – 4

DOADORES SORONEGATIVOS

CASOS	IDADE	SEXO	HGB	NEU	LIN	PLA	CD3	CD4	CD8	CD4/CD8
1	27	M	11,7	2,25	0,90	139	555	367	175	2.10
2	41	M	16,1	5,85	2,61	260	1517	789	705	1.12
3	20	M	16,6	3,62	1,60	237	1085	621	406	1.53
4	50	M	11,7	4,18	1,42	177	1100	639	390	1.64
5	34	F	12,0	2,51	1,25	249	1021	565	416	1.36
6	19	M	12,2	3,29	2,03	177	1295	709	435	1.63
7	33	M	18,1	2,67	2,17	113	1595	797	655	1.22
8	38	M	17,8	2,90	2,28	70	1592	866	635	1.36
9	31	F	12,3	2,83	1,10	156	850	466	269	1.73
10	33	M	17,5	4,33	2,21	85	1525	1043	432	2.41
11	37	M	17,1	9,27	3,58	364	1645	842	581	1.45
12	19	M	16,1	3,34	2,32	241	1170	704	340	2.07
13	22	M	19,4	4,33	2,50	193	1853	1224	537	2.28
14	23	M	12,6	3,77	1,85	198	1420	1017	368	2.76
15	36	M	16,5	3,82	2,94	120	2368	1428	786	1.82
16	42	M	14,0	2,18	1,75,	130	1320	848	432	1.96
17	30	M	13,0	3,60	1,52	153	1046	602	388	1.55
18	20	M	16,9	4,86	2,11	327	1354	815	313	2.60
19	21	M	12,0	4,98	1,59	174	1170	733	394	1.86
20	58	M	12,0	4,69	2,10	176	1418	916	497	1.84
21	46	M	17,1	4,48	2,92	285	1809	965	855	1.13
22	32	M	15,9	3,5	2,89	257	1809	726	968	0.75
23	47	M	18,1	5,63	3,80	319	1958	1424	573	2.49
24	27	M	15,3	1,81	1,57	200	1061	559	445	1.26
25	24	M	18,5	5,36	2,23	168	1469	559	606	0.92
26	45	M	17,0	4,34	1,81	280	865	555	250	2.22

IDADE: anos; SEXO: M- masculino, F- feminino; HGB: dosagem de hemoglobina em g/dL; NEU: contagem absoluta de neutrófilos em mm^3 ; LIN: contagem absoluta de linfócitos em mm^3 ; PLA: contagem absoluta de plaquetas em mm^3 ; CD3: contagem de linfócitos CD3+ em mm^3 ; CD4: contagem de linfócitos CD4+ em mm^3 ; CD8+: contagem de linfócitos CD8+ em mm^3 e CD4+/CD8+: relação entre CD4+ e CD8+.

ANEXO – 5

1- Quadro da análise de Variância para testar a igualdade das médias de IDADES entre os grupos.

Fonte de variação	gl	SQ	QM	F	P
Grupos	2	3493,708	1746,854	11,048	<0,0001
Resíduo	58	9170,521	158,112		
Total	60	12664,230		cv=30,8%	

1-1 Quadro do teste da igualdade das médias de IDADES comparando os grupos dois a dois.

(I) Grupos	(J) Grupos	Diferença das médias (I-J)	P
Controle	positivo assintomático	-10,824	0,004
	positivo sintomático	-20,206	0,000
Positivo assintomático	controle	10,824	0,004
	positivo sintomático	-9,383	0,045
Positivo sintomático	controle	20,206	<0,0001
	positivo assintomático	9,383	0,045

2- Quadro da análise de Variância para testar a igualdade das médias dos LINFÓCITOS entre os grupos.

Fonte de variação	gl	SQ	QM	F	P
Grupos	2	0,46	0,23	0,46	0,6367
Resíduo	58	29,55	0,51		
Total	60	30,01		cv=32,46%	

ANEXO – 5

3- Quadro da análise de Variância para testar a igualdade das médias dos NEUTRÓFILOS entre os grupos.

Fonte de variação	gl	SQ	QM	F	P
Grupos	2	18,40	9,20	3,36	0,0415
Resíduo	58	158,73	2,74		
Total	60	177,13		cv=40,26%	

3.1- Quadro do teste da igualdade da média dos NEUTRÓFILOS comparando os grupos dois a dois.

(I) Grupos	(J) Grupos	Diferença das médias (I-J)	P
controle	positivo assintomático	0,17	0,7232
	positivo sintomático	-1,34	0,0287
positivo assintomático	controle	-0,17	0,7232
	positivo sintomático	-1,50	0,0155
positivo sintomático	controle	1,34	0,0287
	positivo assintomático	1,50	0,0155

4- Quadro da análise de Variância para testar a igualdade das médias das PLAQUETAS entre os grupos.

Fonte de variação	gl	SQ	QM	F	p
Grupos	2	25510,82	12755,41	2,40	0,0999
Resíduo	58	308530,13	5319,48		
Total	60	334040,95		cv=32,40%	

ANEXO – 5

5- Quadro da análise de Variância para testar a igualdade das médias da HEMOGLOBINA entre os grupos.

Fonte de variação	gl	SQ	QM	F	P
Grupos	2	29,70	14,85	3,72	0,0303
Resíduo	58	231,87	4,00		
Total	60	261,57		cv=13,80%	

5.1- Quadro do teste de igualdade da média da HEMOGLOBINA comparando os grupos dois a dois.

(I) Grupos	(J) Grupos	Diferença das médias (I-J)	P
controle	positivo assintomático	1,31	0,0243
	positivo sintomático	1,59	0,0312
positivo assintomático	Controle	-1,31	0,0243
	positivo sintomático	0,28	0,7028
positivo sintomático	Controle	-1,59	0,0312
	positivo assintomático	-0,28	0,7028

ANEXO – 6

1- Quadro da análise de Variância para testar a igualdade das médias do CD3+ entre os grupos.

Fonte de variação	gl	SQ	QM	F	P
Grupos	2	722940,02	361470,01	1,5257	0,2261
Resíduo	58	13741336,53	236919,59		
Total	60	14464276,56		cv=32,81%	

2- Quadro da análise de Variância para testar a igualdade das médias do CD4+ entre os grupos.

Fonte de variação	gl	SQ	QM	F	P
Grupos	2	379691,24	189845,62	2,22	0,1179
Resíduo	58	4963677,08	85580,64		
Total	60	5343368,33		cv=34,27%	

3- Quadro da análise de Variância para testar a igualdade das médias do CD8+ entre os grupos.

Fonte de variação	gl	SQ	QM	F	P
Grupos	2	209078,87	104539,43	1,62	0,2062
Resíduo	58	3736993,98	64430,93		
Total	60	3946072,85		cv=45,71%	

4- Quadro da análise de Variância para testar a igualdade das médias do CD4+/CD8+ entre os grupos.

Fonte de variação	gl	SQ	QM	F	P
Grupos	2	0,75	0,37	1,16	0,3215
Resíduo	58	18,68	0,32		
Total	60	19,43		cv=33,97%	