

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
PATRÍCIA CARDOSO PORTELA

**PREVALÊNCIA E DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA
INFECÇÃO PELO VÍRUS HTLV EM GESTANTES DE MATO
GROSSO DO SUL, NO PERÍODO DE 2002 A 2006.**

BRASÍLIA – DF

2008

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
PATRÍCIA CARDOSO PORTELA

**PREVALÊNCIA E DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA
INFECÇÃO PELO VÍRUS HTLV EM GESTANTES DE MATO
GROSSO DO SUL, NO PERÍODO DE 2002 A 2006.**

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção de grau de mestre em Ciências da Saúde, da Universidade de Brasília, DF, sob a orientação do Prof. Dr. Carlos Alberto Bezerra Tomaz.

BRASÍLIA – DF

2008

Portela, Patrícia Cardoso.

Prevalência e Diagnóstico Laboratorial da Infecção pelo Vírus HTLV em Gestantes de Mato Grosso do Sul, no período de 2002 a 2006 / Patrícia Cardoso Portela. Brasília: UnB: 2008.

74p., 297mm.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Bezerra Tomaz.

Dissertação de Mestrado em Ciências da Saúde – Universidade de Brasília.

1. HTLV
2. Gestante
3. Pré-Natal
4. Mato Grosso do Sul.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, que sempre acreditaram em mim. Sei que se orgulham por mais esta etapa vencida.

Ao meu esposo, pelo incentivo, pelo apoio e pela paciência que teve comigo nestes anos de estudo.

E a todos aqueles que torcem pelo meu sucesso.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, o maior mestre de todos, pelas oportunidades a mim apresentadas.

Ao Dr. Carlos Alberto Bezerra Tomaz, meu orientador, pelos ensinamentos, críticas e sugestões, que foram importantes na construção deste trabalho.

Ao Dr. Rivaldo Venâncio da Cunha, um agradecimento muito especial pelos comentários, explicações, e principalmente, pela boa vontade e apoio prestado.

Ao Renato Genaro pela disponibilização dos dados utilizados neste trabalho.

A todos os colegas do IPED-APAE que de alguma forma colaboraram com a realização desta pesquisa.

RESUMO

O Programa Estadual de Proteção à Gestante de Mato Grosso do Sul (PEPG-MS) realizou a triagem para a infecção pelo HTLV1-2 em 155.807 gestantes entre 2002 e 2006, através da técnica de ELISA em papel filtro. Com o objetivo de conhecer o comportamento do HTLV frente aos testes laboratoriais utilizados no PEPG-MS, foi realizado estudo descritivo onde foram encontrados 206 (0,13%) casos de HTLV, que foram confirmados pela técnica de ELISA e Western Blot no soro. Das 206 gestantes, 13,1% foram diagnosticadas como indeterminadas, 76,6% como HTLV-1, 9,7% como HTLV-2 e 1 (0,4%) como infecção mista (HTLV 1 e 2). Em relação aos resultados do Western Blot, 54,0% apresentaram 11 bandas presentes (4 proteínas ENV e 7 proteínas GAG), sendo que, 72,9% destes casos correspondem ao HTLV-1, refletindo uma forte reação do vírus frente às proteínas utilizadas no teste. O HTLV-2 apresentou uma reação mais fraca do que o tipo 1, onde a combinação de maior frequência foi de 2 proteínas ENV com 1 GAG, representando 33,3% do total. Uma reatividade mais fraca ainda, e mais distribuída, pode ser observada nos casos indeterminados, em que 30,7% apresentaram apenas 2 bandas reagentes sendo que, no cruzamento das proteínas ENV e GAG, houve uma distribuição desta maneira: 0 ENV e 2 GAG, 2 ENV e 0 GAG e 1 ENV e 1 GAG. Por se tratar de um caso raro, a infecção mista provavelmente só pode ser detectada em um estudo com uma amostra grande como este. O PEPG-MS segue os critérios de diagnósticos para o HTLV recomendados pelo Ministério da Saúde. A triagem pré-natal é de suma importância na prevenção da transmissão vertical, além de possibilitar a tomada de medidas preventivas para evitar as outras formas de transmissão.

Palavras-chave: HTLV, Gestante, Pré-Natal, Mato Grosso do Sul.

ABSTRACT

The Program for Pregnant Women Protection of Mato Grosso do Sul carried out the initial trial for the HTLV 1-2 infection in 155.807 pregnant women, between 2002 and 2006, by the means of ELISA technique in filter paper. Aiming to get knowledge about the HTLV behavior in face of the laboratorial tests used in the Program, a descriptive study was done in which 206 cases of HTLV were found (0,13%) that had their confirmation by the means of ELISA and Western Blot techniques in serum. From those 206 pregnant women, 13,1% had their diagnosis as indeterminate, 76,6% due to HTLV-1, 9,7% due to HTLV-2 and 1 case (0,4%) of mixed infection (HTLV 1 and 2). Concerning to the results obtained with the Western Blot technique, 54,0% presented 11 bands (4 ENV proteins and 7 GAG proteins), so that 72,9% of these cases refer to HTLV-1, reflecting a strong virus reaction to the proteins used in the test. The HTLV-2 showed an even weaker than that caused by the type 1 that had its most frequent combination as 2 ENV proteins with 1 GAG. Whereas it is a rare case, a mixed infection can probably be detected only in studies with great samples, like this one. The Program for Pregnant Women Protection of Mato Grosso do Sul follows the criteria for HTLV diagnosis recommended by the Ministry of Health. The prenatal initial trial is of great importance for the prevention of vertical transmission, besides the fact of making it possible to take preventive actions in order to avoid other manners of transmission.

Key words: HTLV, Pregnant women, Prenatal, Mato Grosso do Sul.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Taxas de prevalência para a infecção pelo HTLV encontradas em algumas regiões do Brasil. -----	19
Tabela 2 - Taxas de prevalência para a infecção pelo HTLV encontradas em alguns países. --- -----	21
Tabela 3 - Casos não confirmados de infecção por HTLV através do Programa Estadual de Proteção à Gestante de MS (PEPG), no período de novembro 2002 a dezembro 2006. -----	40
Tabela 4 - Exames utilizados na fase confirmatória do Programa de Proteção Estadual à Gestante de MS (PEPG), no período de novembro 2002 a dezembro 2006. -----	41
Tabela 5 - Tipos de HTLV encontrados nas gestantes de Mato Grosso do Sul, através do PEPG-MS, no período de novembro 2002 a dezembro 2006. -----	42
Tabela 6 - Possíveis combinações entre a quantidade de proteínas do tipo “GAG” e a quantidade de proteínas do tipo “ENV” encontradas no teste de Western Blot, através do PEPG-MS, no período de novembro 2002 a dezembro 2006. -----	43
Tabela 7 - Tipos de proteínas encontradas no Western Blot (GAG ou ENV) em relação ao HTLV-1 (PEPG-MS - novembro 2002 a dezembro 2006). -----	44
Tabela 8 - Tipos de proteínas encontradas no Western Blot (GAG ou ENV) em relação ao HTLV-2 (PEPG-MS - novembro 2002 a dezembro 2006). -----	44
Tabela 9 - Tipos de proteínas encontradas no Western Blot (GAG ou ENV) em relação ao HTLV INDETERMINADO (PEPG-MS - novembro 2002 a dezembro 2006). -----	45
Tabela 10 - Quantidade de bandas encontradas no Western Blot em relação aos tipos de HTLV (PEPG-MS - novembro 2002 a dezembro 2006). -----	46

LISTA DE ABREVIATURAS

- APAE:** Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais.
- BCIP/NBT:** Solução de 5-bromo-4-cloro-3-indolil-fosfato (BCIP) e azul de nitrotetrazólio (NBT).
- CAMS:** Complexo de Atendimento Multidisciplinar de Saúde.
- CEDEG:** Centro de Educação Especial Girassol.
- CEP-UFMS:** Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.
- DO:** Densidade Ótica.
- DNA:** Ácido Desoxirribonucleico.
- ELISA:** *Enzyme linked immunosorbent assay* – Enzimaimunoensaio.
- GLUT-1:** Transportador de Glicose tipo 1.
- HBV:** Vírus da Hepatite B.
- HCV:** Vírus da Hepatite C.
- HLA:** Antígeno Leucocitário Humano.
- HIV-1:** Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1.
- HIV-2:** Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 2.
- HTLV-1:** Vírus Linfotrópico de Células T Humanas tipo 1.
- HTLV-2:** Vírus Linfotrópico de Células T Humanas tipo 2.
- HTLV-3:** Vírus Linfotrópico de Células T Humanas tipo 3.
- HTLV-4:** Vírus Linfotrópico de Células T Humanas tipo 4.
- IL-2:** Interleucina 2.
- IL-7:** Interleucina 7.
- IPED-APAE:** Instituto de Pesquisas, Ensino e Diagnósticos da APAE.
- LLTA:** Leucemia/linfoma de células T do adulto.
- LTR:** *Long Terminal Repeat*.
- NCCLS:** *National Committee on Clinical Laboratory Standards*.
- PBMC:** *Peripheral blood-mononuclear cells* – Células mononucleares do sangue periférico.
- PCR:** *Polymerase Chain Reaction* - Reação em Cadeia de Polimerase.
- PET/MAH:** Paraparesia Espástica Tropical ou Mielopatia associada ao HTLV.
- PEPG-MS:** Programa Estadual de Proteção à Gestante de Mato Grosso do Sul.
- PTLV-1:** Vírus Linfotrópico de Células T de Primatas tipo 1.
- PTLV-2:** Vírus Linfotrópico de Células T de Primatas tipo 2.

PTLV-3: Vírus Linfotrópico de Células T de Primatas tipo 3.

RFLP: *Restrict fragment length polymorphism.*

RNA: Ácido Ribonucléico.

RNA_m: RNA mensageiro.

STLV-1: Vírus Linfotrópico de Células T de Símios tipo 1.

STLV-2: Vírus Linfotrópico de Células T de Símios tipo 2.

SES/ MS: Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso do Sul.

TMB: Tetrametilbenzidina.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.1. Objetivo Geral	13
2.2. Objetivos Específicos	13
3. REVISÃO DA LITERATURA	14
3.1. Histórico	14
3.2. Etiologia	15
3.3. Patogenia	16
3.4. Epidemiologia	18
3.4.1. Distribuição geográfica	18
3.4.2. Prevalência	19
3.4.3. Prevenção	22
3.5. Transmissão	23
3.6. Diagnóstico Laboratorial	24
3.7. Manifestações Clínicas	26
3.7.1. Paraparesia Espástica Tropical ou Mielopatia Associada ao HTLV (PET/MAH)	27
3.7.2. Leucemia/Linfoma de Células T do adulto (LLTA)	28
3.7.3. Outras doenças	30
4. MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1. Tipo de Estudo	33
4.2. Local de Estudo	33
4.3. Característica da Amostra	33
4.3.1. Critério de Inclusão	33
4.3.2. Critério de Exclusão	33
4.4. Instrumentos para Coleta de Dados	34
4.5. Descrição das Variáveis	34
4.6. Téc. Utilizadas para Obtenção de Dados Primários e Secundários	34
4.6.1. ELISA	35
4.6.2. Western Blot	35
4.6.3. PCR Qualitativo e Genotipagem - como exames confirmatórios	38
4.7. Aspectos Éticos	38

4.8. Análise dos dados -----	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	40
6. CONCLUSÕES -----	47
7. REFERÊNCIAS -----	48
8. ANEXOS -----	55

1 INTRODUÇÃO

O HTLV 1-2 (Vírus linfotrópico de células T humanas) é um retrovírus que tem como característica a afinidade por linfócitos T. Uma pequena percentagem da população infectada pelo HTLV-1 desenvolve doença (2% a 4%), podendo levar ao óbito em apenas 6 meses como no caso da LLTA (Leucemia/ linfoma de células T do adulto) na sua forma linfomatosa. Além disso, pode causar uma doença incapacitante, que leva o paciente a sentir muita dor, a paraparesia espástica tropical ou mielopatia associada ao HTLV (PET/MAH). Algumas síndromes inflamatórias também estão associadas a este tipo viral.

O HTLV-2 não está claramente relacionado ao desenvolvimento de alterações hematológicas. Apenas alguns autores descreveram o aparecimento de linfomas em portadores do tipo 2. Em contrapartida, o vírus tem sido relacionado com o desenvolvimento de sintomas neurológicos e infecções bacterianas e fúngicas (GABET et al, 2006).

No Brasil, a triagem da infecção pelo HTLV 1-2 em banco de sangue passou a ser obrigatória através da Portaria 1376, de 19 de novembro de 1993 e, desde dezembro do mesmo ano, vem sendo utilizada como forma de evitar a transmissão do vírus a partir de transfusões sanguíneas. A África, que é considerada o maior reservatório do HTLV-1, não possui um serviço de triagem em doadores de sangue para o HTLV, devido ao alto custo dos testes diagnósticos (YAO et al, 2006).

O Instituto de Pesquisas, Ensino e Diagnósticos da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (IPED-APAE), situado em Campo Grande (MS) vem desenvolvendo, juntamente com a Secretaria de Estado de Saúde, um trabalho com as gestantes de Mato Grosso do Sul.

O Programa Estadual de Proteção à Gestante (PEPG) iniciou em novembro de 2002, com a Resolução 459 SES/MS, onde fechou o ano com uma cobertura de 60,8%. No ano seguinte, atingiu 88,1% das gestantes do estado, seguido por 96,9%, 98,7% e 98,5% em 2004, 2005 e 2006 respectivamente.

Através da triagem em papel filtro, são diagnosticadas as gestantes portadoras das seguintes infecções: toxoplasmose, citomegalovírus, rubéola, sífilis, doença de Chagas, hepatite B, hepatite C, HTLV 1-2, HIV 1-2, e clamídia. Também é realizado o diagnóstico de fenilcetonúria materna e hipotireoidismo. Toda suspeita de infecção no papel filtro é posteriormente confirmada em soro.

As gestantes diagnosticadas com algumas dessas doenças são acompanhadas por médicos especializados no IPED-APAE, assim como seus bebês. Os objetivos deste programa são o diagnóstico precoce e a prevenção da transmissão vertical, tanto do HTLV, como das demais doenças.

Qualquer análise feita a partir do sangue total, soro ou plasma, também pode ser realizada através da técnica em papel filtro. Diversas doenças já foram diagnosticadas por este método, entre elas a infecção por HTLV (MEI et al, 2001).

Ainda há muito que se conhecer sobre a infecção pelo HTLV. Com o objetivo de entender melhor o comportamento do HTLV frente aos testes laboratoriais foi desenvolvido este estudo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Demonstrar a prevalência e analisar o diagnóstico laboratorial da infecção por HTLV em gestantes triadas pelo Programa Estadual de Proteção à Gestante de Mato Grosso do Sul, no período de 2002 a 2006.

2.2 Objetivos específicos

2.2.1 Caracterizar os tipos de HTLV encontrados nas gestantes triadas pelo Programa Estadual de Proteção à Gestante de Mato Grosso do Sul.

2.2.2 Caracterizar os padrões de Western Blot para as gestantes HTLV positivas, triadas pelo PPEG-MS/ IPED-APAE.

2.2.3 Relacionar os padrões de Western Blot com os tipos de HTLV encontrados nas gestantes triadas pelo PPEG-MS/ IPED-APAE.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Histórico

Os primeiros vírus a serem descobertos foram os retrovírus, há mais de 80 anos. Inicialmente foram associados ao aparecimento de sarcomas em galinhas. Após muitos anos de esquecimento, os retrovírus despertaram o interesse da comunidade científica com o desenvolvimento de leucemia em camundongos. No final da década de 70, foram descobertos os oncogenes celulares relacionados a estes vírus (CATALAN-SOARES; PROIETTI; CARNEIRO-PROIETTI, 2001).

O HTLV tipo 1 e 2 foram os primeiros retrovírus humanos a serem descobertos (LOWIS; SHEREMATA; MINAGAR, 2002). Em 1979 foi isolado o HTLV-1 em células T de um paciente com linfoma cutâneo. O vírus também foi isolado de uma mulher negra do Caribe e de um comerciante branco que teve contato sexual com pessoas no sul do Japão e do Caribe. Estes e outros isolados subseqüentes do HTLV-1 foram realizados a partir de cultura de células primárias enriquecidas com IL-2. Em seguida, tornou-se claro que o HTLV-1 estava associado à doença maligna das células T (usualmente CD4+), e que os pacientes freqüentemente apresentavam alterações cutâneas e hipercalcemia (GALLO, 2005).

Alguns anos antes, Kiyoshi Takatsuki e seus colaboradores Junji Yodoi e Takashi Uchiyama identificaram focos de leucemias com características clínicas e morfológicas específicas no sudoeste do Japão, o que os levaram, em 1977, a distinguir das outras formas de leucemias, nomeando-as de Leucemia de Células T do adulto. No ano de 1981, foi isolado o HTLV-2 de linfócitos de um paciente com leucemia de células pilosas, mas este tipo viral é menos patogênico do que o tipo 1 (GALLO, 2005).

No Brasil, o HTLV-1 foi primariamente descrito em 1986, em indivíduos oriundos de Okinawa, sul do Japão, e radicados em Campo Grande (MS). Foi observado 10,4% de soropositividade nesta comunidade (SOARES & MORAES JUNIOR, 2000). Muitos indivíduos descobriram que eram portadores do vírus a partir da obrigatoriedade da triagem em bancos de sangue, em 1993 (SEGURADO et al, 2002).

Algumas pesquisas sugerem que o HTLV-1 tenha surgido na África, por transmissão interespecie, a partir de primatas não-humanos, e tenha sido levado a outros países através do tráfico de escravos (GESSAIN et al, 1992). Rego et al (2008) fizeram um estudo na região LTR do HTLV encontrado em populações de Salvador, Brasil. Todos os casos positivos

observados pertenciam ao subtipo cosmopolita, subgrupo transcontinental, e concluíram que foi o mesmo tipo encontrado no sul da África, região de onde vieram os escravos para o Brasil, entre o século XVI e XIX.

Em 2005 foi descrita a descoberta do HTLV-3 em dois pacientes assintomáticos no sul de Camarões, cuja sorologia apresentou resultado indeterminado. Recentemente foi identificado mais um caso no mesmo país, sugerindo que este tipo viral não é raro na África Central. O HTLV-4 também foi identificado nesta mesma região (MAHIEUX & GESSAIN, 2008). Ainda não se sabe se o HTLV-3 e o 4 são transmitidos entre seres humanos e se são capazes de causar doenças como os demais (KROON; CARNEIRO-PROIETTI, 2006).

3.2 Etiologia

Os HTLV 1-2 pertencem à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretroviridae* e gênero *Deltaretrovirus*. O grupo PTLV (Vírus linfotrópico de células T de primatas) agrupa os deltaretrovírus com hospedeiros humanos (HTLV) e não humanos (STLV-Vírus Linfotrópico de Células T de Símios). Existem três grupos de PTLV: PTLV-1 e PTLV-2, que agrupam o HTLV 1 e 2 e seus respectivos correspondentes em símios (STLV 1 e 2), e PTLV-3 que agrupam apenas vírus de símios (WOLFE et al, 2005).

O HTLV constitui-se de partícula esférica a pleomórfica medindo de 80 a 100 nm de diâmetros, composta de envelope, nucleocapsídeo e nucleóide. No envelope estão presentes dois tipos de proteínas: transmembrana, que como o nome já diz atravessa a estrutura do envelope, e a proteína de superfície extracelular, que é ancorada pela primeira.

O capsídeo, que assume a forma icosaédrica, é composto por proteínas codificadas pelo gene gag e apresenta as duas fitas de RNA, que estão associadas às proteínas do nucleocapsídeo. As proteínas integrase e a enzima transcriptase reversa também estão presentes no interior do capsídeo, e auxiliam na integração do DNA proviral no genoma da célula hospedeira (KROON & CARNEIRO-PROIETTI, 2006)

Além dos genes estruturais comuns aos retrovírus (gag, env e pol), o HTLV apresenta quatro áreas de leitura ORF (Open Reading Frames) presentes na região denominada pX, e que são responsáveis pela codificação de proteínas reguladoras Tax e Rex, e outras proteínas com função ainda não definida. As proteínas codificadas por gag e env são importantes no diagnóstico laboratorial da infecção (BRASIL, 2004b).

Os vírus linfotrópicos de células T humanas têm tropismo por linfócitos T, porém o HTLV-1 infecta preferencialmente linfócitos T CD4+, e o HTLV-2 os linfócitos T CD8+. Talvez este seja o motivo das diferenças clínicas e da evolução das infecções associadas a estes vírus (MARTINS, M. L. & STANCIOLI, 2006).

Análises genéticas classificam o HTLV-1 em quatro subtipos: 1a ou cosmopolita, 1b ou da África Central, 1c ou melanésico e 1d. O tipo 1a é endêmico em diferentes áreas da Europa, sul da América do Norte e na América do Sul, incluindo o Brasil. O subtipo 1a consiste em quatro subgrupos: A ou transcontinental, B ou japonês, C ou do oeste da África e D ou do norte da África (SANTOS & LIMA, 2005).

Parece que não existe uma relação entre o subtipo viral e a doença causada pelo vírus. A variabilidade genômica do HTLV-1 está muito mais relacionada à sua origem geográfica (KROON & CARNEIRO-PROIETTI, 2006), constituindo uma importante ferramenta para fins epidemiológicos (SANTOS & LIMA, 2005). Segundo estes autores, os subtipos são identificados através da utilização de seqüências LTR e env amplificadas através da técnica da PCR ou através de uma técnica denominada *restrict fragment length polymorphism* (RFLP), que utiliza enzimas de restrição que agem em pontos específicos dos fragmentos seqüenciados pela PCR, clivando-os e gerando um padrão de fragmentos menores que irão caracterizar cada subtipo viral.

Existem os seguintes subtipos principais de HTLV-2: 2a, 2b (ambos encontrados em usuários de drogas) e 2d. Também já foi descrito o tipo 2c (GABET et al, 2006).

3.3 Patogenia

Indivíduos infectados apresentam suas funções celulares moduladas pelo HTLV-1. Quando ocorre a infecção, o vírus integra seu DNA ao genoma das células do hospedeiro, a partir da transcrição reversa. Sua porção pX codifica várias proteínas, entre elas a fosfoproteína de aproximadamente 40 KDa, para o HTLV-1, e de 37 KDa no HTLV-2 (MARTINS & STANCIOLI, 2006), que são importantes não só na replicação viral, mas também na expressão celular de vários genes, que leva a produção de fatores determinantes na migração de linfócitos infectados para o tecido sinovial e sua ativação (CRUZ; CATALAN-SOARES; PROIETTI, 2005).

A principal proteína regulatória do HTLV, a Tax, é responsável pelas diferenças nas doenças provocadas pelo vírus. Na LLTA, a patogênese está relacionada com a capacidade

transativadora de Tax, levando ao descontrole do processo de proliferação celular. Já na PET/MAH, a célula infectada torna-se capaz de atravessar a barreira hemato-encefálica. Além disso, desencadeia uma resposta inflamatória local crônica, sendo o principal alvo da resposta imune celular. Existem estudos que mostram diferenças na atividade funcional da Tax do HTLV-1 (Tax-1) e do HTLV-2 (Tax-2), o que talvez explicaria a patogenicidade diferenciada entre os dois tipos (MARTINS & STANCIOLI, 2006).

Manel et al (2003) descreveram a GLUT-1, molécula responsável pelo transporte de glicose e proteínas nas células do hospedeiro, como o receptor do HTLV. Eles observaram que o HTLV 1-2 ligado à GLUT-1 inibe o transporte de glicose.

O HTLV induz eventos de polarização das células, o que propicia a junção de células infectadas com não infectadas, facilitando a passagem do vírus. Esse processo é denominado de “sinapse viral induzida” (BANGHAM, 2003).

Segundo Manel et al (2005) existe uma grande concentração de GLUT-1 nestas áreas de “sinapse”. Esses autores observaram que em recém-nascidos há um aumento da expressão de GLUT-1, pela citocina IL-7. Em consequência, ocorre maior disponibilidade do receptor e também da atividade metabólica celular, eventos importantes para a propagação viral após a transmissão vertical do HTLV.

A proteína Rex também é importante na replicação viral. O gene Rex codifica as proteínas de 27/21 KDa para o HTLV-1 e de 26/24 KDa para HTLV-2, que favorecem a tradução dos seguintes RNAm: os que codificam para as proteínas Gag/Pol, e os que codificam para as proteínas do envelope. Em contrapartida, Rex tem um efeito negativo sobre o processamento e transporte dos RNAm que codificam para a própria proteína Rex e Tax, ou seja, Rex favorece o acúmulo de proteínas estruturais e enzimáticas em detrimento das proteínas regulatórias.

Um equilíbrio na expressão e atividade de Tax e Rex pode determinar o estado de replicação viral nas células infectadas (MARTINS & STANCIOLI, 2006).

3.4 Epidemiologia

3.4.1 Distribuição geográfica

O HTLV-1 é endêmico em algumas partes do mundo como o sul do Japão, Ilhas do Caribe, África, sul da Itália, Taiwan, Estados Unidos e parte da América do Sul (ABBASZADEGAN et al, 2003) e infecta de 15 a 20 milhões de pessoas no mundo (MAHIEUX; GESSAIN, 2008; MOXOTO et al, 2007). Levine & Lattner, 1987 e Mueller et al, 1996 ainda citam a América Central, Oriente Médio e Melanésia como regiões endêmicas.

O Brasil pode ser o país com maior número de casos absolutos de HTLV-1, com cerca de 2,5 milhões de pessoas infectadas (CARNEIRO-PROIETTI et al, 2002; NOBRE et al, 2007). A maior comunidade de imigrantes japoneses, fora do Japão, é proveniente de Okinawa e encontra-se em São Paulo, onde foi detectado uma soroprevalência de 14,8% (VERONESI et al, 1995).

Taylor et al, 2005, realizaram um estudo soropidemiológico do HTLV em gestantes por vários países da Europa. Segundo os autores, a infecção pelo HTLV-1 tem sido descrita entre imigrantes de áreas endêmicas; se encontrada em nativos, a infecção foi devida ao contato sexual com indivíduos de países endêmicos para o vírus.

O HTLV-2 é encontrado em duas populações distintas: usuários de drogas injetáveis, que muitas vezes são co-infectados com o HIV-1, e tribos indígenas isoladas da América do Norte, América Central e de algumas regiões da América do Sul (PETERS et al, 1999, VANDAMME et al, 2000, THORSTENSSON et al, 2002). Está presente também no Brasil, sendo significativa a sua prevalência entre populações indígenas brasileiras (CARNEIRO-PROIETTI et al, 2002).

Enquanto o HTLV-1 é endêmico em algumas áreas geográficas como Japão, Caribe, África e Américas, a infecção por HTLV-2 não é tão bem caracterizada (LOWIS; SHEREMATA; MINAGAR, 2002). O que se observa é a sua predominância no hemisfério ocidental. (CATALAN-SOARES; PROIETTI; CARNEIRO-PROIETTI, 2001)

Um estudo publicado por Catalan-Soares et al (2005), sobre a distribuição geográfica do HTLV 1-2 a partir da triagem sorológica de doadores de sangue em grandes áreas urbanas do Brasil, mostrou uma grande variabilidade na prevalência deste vírus no país. Em geral, a

positividade para o HTLV é menor no sul do país tendendo a aumentar em direção ao norte e nordeste.

3.4.2 Prevalência

A soroprevalência do HTLV 1-2 é mais baixa em crianças e observa-se um aumento na adolescência, atingindo níveis mais altos na idade adulta. As mulheres apresentam taxas mais altas de infecção, devido à transmissão sexual, que é mais eficiente do homem para a mulher, e às transfusões de sangue que são mais frequentes neste grupo (DAL FABRO et al, 2008).

Na Tabela 1, podem ser observadas algumas prevalências da infecção pelo HTLV encontradas no Brasil.

Tabela 1 – Taxas de prevalência para a infecção pelo HTLV encontradas em algumas regiões do Brasil.

Fonte	Prevalência	População estudada
BITTENCOURT et al, 2001	0,84%	Gestantes – Salvador (BA)
BROUTET et al, 1996	0,12%	Gestantes – Fortaleza (CE)
	1,21%	Mulheres profissionais do sexo
DAL FABRO et al, 2008	0,13%	Gestantes (MS)
DOURADO et al, 2003	1,76%	Popuação geral – Salvador (BA)
	1,8%	Indivíduos sadios (BA)
MOREIRA et al, 1993	22,7%	Pacientes co-infectados com HIV (BA)
OLBRICH NETO; MEIRA, 2004	0,1%	Gestantes-Botucatu (SP)
OLIVEIRA; AVELINO, 2006	0,1%	Gestantes (GO)

O estudo coordenado por Dal Fabbro caracterizou a população de gestantes infectadas pelo HTLV 1-2 em Mato Grosso do Sul, conforme Figura 1. O que chama a atenção nesta pesquisa é o número de casos positivos na população indígena (8,48 casos/mil), e a percentagem de gestações que evoluíram para o aborto (6,7%). Foram excluídas do estudo as gestantes com resultados indeterminados.

Tabela 1 - Distribuição por raça e ano de escolaridade das 153 gestantes HTLV 1-2, novembro de 2002 a dezembro de 2005.

Raça*	Casos	Total	Casos/1000
Branca	41	79.163	0,52
Parda/negra	66	38.526	1,81
Indígena	46	5.423	8,48
Total	153	121.112	1,26
Ano de escolaridade**	Casos	Total	Casos/1000
≤ 3	33	16.495	2,00
4-7	83	49.217	1,69
8-11	28	41.327	0,68
≥ 12	9	13.618	0,66
Total	153	120.657	1,27

* qui-quadrado=267,461; GL=2; P-valor=0,0000

** qui-quadrado=29,133; GL=3; P-valor=0,0000

Figura 1 – DAL FABBRO, M. M. et al, 2008

Ades et al (2000) já haviam realizado um estudo em massa, onde se utilizou a coleta em papel filtro. A população estudada era composta de crianças nascidas no Reino Unido, entre 1997 e 1998. Dos 126.010 bebês que fizeram a triagem em papel filtro, 75 confirmaram como reagentes para HTLV (59 para HTLV-1, 2 para HTLV-2 e 6 não foram tipadas), 6 deram resultados indeterminados e 2 foram negativas.

A cidade brasileira que tem a maior prevalência é Salvador-BA (REGO et al, 2008). Dourado et al (2003) estudaram uma amostra representativa desta cidade e detectaram 1,2% de HTLV em homens e 2% em mulheres, observando um aumento na prevalência com a idade.

Na Tabela 2, pode-se observar as prevalências para o HTLV em vários países.

Tabela 2 – Taxas de prevalência para a infecção pelo HTLV encontradas em alguns países.

Fonte	Prevalência (%)	População estudada
ABBASZADEGAN et al, 2003	0,77	Doadores de sangue – Iran
ALARCÓN et al, 2006	2 (1,2-2,2)	Mulheres – Peru
	3,5	Mulheres – Jamaica
	1,9	Mulheres – Martinica
	0,8	Mulheres – Brasil
	16,0	Imigrantes japoneses – Peru
	4,0	Primeira geração de descendentes japoneses – Peru
ARMAH et al, 2006	6,8–10,5	Gestantes – Gabão
	1,2	Gestantes – Gâmbia
	2,1	Gestantes – Gana
	4,4	Gestantes - Guiana Francesa
	3,7	Gestantes – Japão
	2,4–14,8	Gestantes – Zaire
MACHUCA et al, 2000	0,064	Gestantes – Espanha
	0,07	Gestantes – Alemanha
	0,08	Gestantes – Bélgica
	0,11	Gestantes – França
TAYLOR et al, 2005	0,033	Gestantes – Itália
	0,013	Gestantes – Portugal
	0,053	Gestantes – Reino Unido
	TRENCHI et al, 2007	0,191

Na pesquisa de Trenchi et al (2007) a taxa de prevalência encontrada (0,191%) foi dez vezes maior que em doadores de sangue (0,019%). Isto reflete a situação da população geral, já que a heterogeneidade do grupo de gestantes é bem maior do que de doadores de sangue.

O Peru tem apresentado altas taxas de prevalência de infecção pelo HTLV-1 e muitos casos de doenças associadas ao vírus têm sido descritas.

A taxa de prevalência encontrada na Espanha (0,064%) foi 50 vezes maior que em doadores de sangue (MACHUCA et al, 2000). O estudo mostrou a baixa prevalência de HTLV na Espanha, assim como em outros países europeus.

Na pesquisa realizada por Taylor et al (2005), em 234.078 gestantes de vários países da Europa, 96 apresentaram infecção para o HTLV. No Reino Unido, as maiores taxas foram encontradas em mulheres residentes no país, mas nascidas no Caribe (1,64%), África (0,31%), América do Sul (0,2%) e Japão (0,43%). A taxa de prevalência em gestantes nascidas no Reino Unido, foi de 0,033%. O estudo mostrou que as taxas encontradas nas gestantes foram 10 vezes maiores que em doadores de sangue.

3.4.3 Prevenção

A partir do momento em que se detecta a infecção pelo HTLV 1-2, deve-se esclarecer ao paciente as diferenças entre estes vírus e o HIV. O paciente deve ser informado que os vírus linfotrópicos de células T humanas causam infecção para a vida toda, mas que existe a probabilidade de não desenvolvimento da doença. Os modos e a eficiência da transmissão devem ser entendidos pelo portador do vírus, a fim de evitar a disseminação da infecção.

Os pacientes infectados pelo HTLV 1-2 devem ser orientados a não doar sangue, órgãos, leite ou esperma; não compartilhar seringas, agulhas ou outros objetos perfurocortantes; usar preservativos; não amamentar e informar o profissional de saúde que os atenderem (SANTOS & LIMA, 2005; BRASIL, 2004b). Devem ser submetidos à anamnese, exame físico e avaliação neurológica, a fim de identificar manifestações precoces da doença. No caso de exames normais, deve-se reavaliar o paciente a cada 6-12 meses, e em caso de aparecimento de sinais/sintomas, deve-se encaminhá-lo a serviços especializados: hematologia, neurologia, oftalmologia ou dermatologia (BRASIL, 2004b).

Se o indivíduo HTLV positivo estiver em uma relação sexual monogâmica, deve ser recomendado ao parceiro sexual que faça teste sorológico, o que proporciona um aconselhamento direcionado. Casais, onde o homem é infectado e a parceira não, e que desejam ter filhos, devem ser alertados sobre o risco de transmissão sexual do HTLV durante as tentativas de gravidez e do risco para transmissão vertical. O ideal é que o casal use preservativos fora do período fértil.

O uso de preservativos é indispensável para pessoas que possuem múltiplos parceiros sexuais, não só na prevenção da infecção pelo HTLV, como também de outras doenças

sexualmente transmissíveis. Recomenda-se a testagem sorológica dos outros agentes causadores de infecção que compartilham a mesma via de transmissão, como o HBV, HCV e HIV (BRASIL, 2004b).

3.5 Transmissão

A transmissão do HTLV se dá através do contato com seringas e agulhas contaminadas, transfusão sanguínea, contato sexual e através da transmissão vertical, especialmente pelo aleitamento materno (FERREIRA & ÁVILA, 2001; PETERS et al, 1999; VANDAMME et al, 2000; BITTENCOURT, 1998), onde a carga proviral e altos níveis de anticorpos anti-HTLV são fatores importantes para que ocorra a transmissão (YOSHINAGA et al, 1995; URETA-VIDAL et al, 1999). A transmissão vertical também está relacionada com o sexo da criança: meninas são mais frequentemente infectadas do que meninos (URETA-VIDAL et al, 1999). Ainda não se conhece a razão desta tendência.

A transmissão é menos eficiente que a do HIV, devido à baixa carga proviral, e ao fato de a infecção ser dependente do contato célula-célula (KAMIHIRA et al, 1987). Segundo Stuver et al (1993), a transmissão do HTLV é mais eficiente do homem para mulher e a taxa de eficiência da transmissão de homem para mulher é de 60,8%, e apenas 0,4% da mulher para o homem (KAJIYAMA et al, 1986).

O Manual Normativo para Profissionais de Saúde de Maternidades, do Ministério da Saúde, diz que o aleitamento materno está contra-indicado em casos de mães HTLV positivas. Há referências que apontam para um risco de transmissão do vírus de 13% a 22%. Quanto mais tempo uma criança é amamentada, maior será a chance de ocorrer a infecção (BRASIL, 2004a).

No Japão a taxa de prevalência varia de 15% a 25%, mas através da triagem pré-natal e da contra-indicação do aleitamento materno, observou-se uma redução de 80% da transmissão vertical (BITTENCOURT, 1998). A transmissão transplacentária foi citada por Abbaszadegan et al (2003).

Segundo Santos & Lima (2005) a infecção pelo HTLV 1-2 é persistente e a co-infecção com o HIV leva os pacientes a serem potenciais transmissores do HTLV.

3.6 Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico laboratorial da infecção por HTLV 1-2 é realizado através de dois tipos de testes: inicialmente por testes de triagem: ELISA ou aglutinação em partículas de látex, que apresentam alta sensibilidade e são baseados na detecção de anticorpos contra o vírus, e posteriormente por testes confirmatórios: PCR, Western Blot e Imunofluorescência Indireta, que são mais específicos.

Devido a similaridade de 65% na seqüência de nucleotídeos do HTLV-1 e 2, o teste de ELISA permite fazer o diagnóstico dos dois tipos, porém não é possível diferenciar o tipo de infecção. Os antígenos mais comumente utilizados nos testes imunoenzimáticos disponíveis no mercado são aqueles encontrados no lisado viral do HTLV-1 e HTLV-2, além das proteínas recombinantes dos genes virais *env* e *gag*. Os testes que utilizam lisados virais do tipo 1 e 2 são os preferidos em relação aos que utilizam apenas lisados do HTLV-1, pois estes apresentam menor sensibilidade na identificação do tipo 2.

Nos testes de ELISA, o soro do paciente é incubado com os antígenos específicos do HTLV adsorvidos a uma placa de poliestireno. O resultado é obtido de acordo com a intensidade colorimétrica, que é medida em densidade ótica (DO). De acordo com o valor de corte (*cut-off*), é definido se o soro do paciente é reagente, ou seja, indica a presença de anticorpos contra o HTLV 1-2, ou não-reagente, indicando a ausência de anticorpos na amostra analisada (BRASIL, 2004b).

Assim como na técnica de ELISA, as reações de aglutinação apresentam alta sensibilidade. Utilizam partículas de gelatina ou látex sensibilizadas com antígenos virais inativados.

Os testes de Western Blot e PCR são capazes de identificar se a infecção é pelo tipo 1 ou 2. O primeiro utiliza como antígeno o lisado viral total, acrescido de epítomos imunodominantes recombinantes, correspondentes à porção N-terminal da proteína transmembrana (gp21) do HTLV 1-2 (peptídeos r21-e e GD21-I). Esses testes apresentam alta sensibilidade para detectar anticorpos contra o epítomo recombinante. O emprego do peptídeo recombinante GD21-I produz uma frequência menor de reações inespecíficas, reduzindo a possibilidade de resultados falso-positivos (SANTOS & LIMA, 2005), e das glicoproteínas rgp46-I e rgp46-II possibilitam a diferenciação entre o tipo 1 e 2 (YAO et al, 2006).

O teste de Western Blot detecta a presença de anticorpos contra diferentes antígenos virais aderidos a uma fita de nitrocelulose e separados por eletroforese, de acordo com o peso molecular

e carga elétrica. O resultado da reação imunoenzimática é visualizado pelo aparecimento de bandas correspondentes às proteínas virais utilizadas no teste (Quadro 1).

Proteínas virais	Genes	Características
Gp46	Env	Proteína de superfície do envelope viral
rgp46	Env	Proteína recombinante derivada da gp 46
gp21	Env	Proteína transmembrana do envelope viral
Gd21	Pol	Proteína recombinante contendo o epítipo imunodominante da gp 21
p24	Gag	Proteína do capsídeo viral
p19	Gag	Proteína da matriz viral

Quadro 1 – Proteínas do HTLV utilizadas na interpretação do teste de Western blot (BRASIL, 2004b).

O teste de PCR tem como princípio a detecção de partículas provirais em células periféricas lisadas com a proteinase K, ou seja, não depende da produção de anticorpos, permitindo diagnósticos precoces a partir do sangue ou outro tecido corporal. Os seguimentos genômicos são amplificados pela PCR, onde são utilizados *primers* específicos para o HTLV 1 ou 2, o que leva a um diagnóstico diferencial. Os fragmentos de DNA amplificados são visualizados através de eletroforese em gel de agarose, corados com brometo de etídio.

Pelo fato do HTLV não apresentar RNA viral circulante no sangue, o método baseia-se na detecção do ácido nucléico viral na forma de DNA proviral, obtido de células mononucleares do sangue periférico, sendo necessária a coleta de sangue total, em vez de plasma ou soro. (BRASIL, 2004b)

A PCR é o método de escolha para a avaliação da transmissão vertical. Além disso, esclarece estados sorológicos indeterminados, distingue uma infecção pelo tipo 1 ou pelo 2, ou ainda define os subtipos virais (CARNEIRO-PROIETTI et al, 2002). Em razão de seu maior custo, sua utilização é ainda restrita a pesquisas científicas (CRUZ; CATALAN-SOARES; PROIETTI, 2005), ou no esclarecimento dos casos supracitados.

A Imunofluorescência Indireta também pode ser utilizada na etapa confirmatória, porém não é comercializado, o que restringe sua utilização.

Devido às freqüentes reações falso-positivas nos ensaios imunoenzimáticos, o diagnóstico depende da confirmação através do Western Blot ou PCR. A infecção sem a presença de anticorpos parece ser rara, embora pouco estudada. Resultados indeterminados no teste de Western Blot sugerem a possibilidade de infecção por um novo retrovírus, baixa carga proviral do vírus, ou reação cruzada com outros agentes, como o *Plasmodium falciparum* em áreas endêmicas para malária (YAO et al, 2006).

A soroconversão pode ocorrer após anos da infecção, sendo que alguns pacientes apresentam títulos baixos de anticorpos anti-HTLV, que são dificilmente detectados pelos testes conhecidos (SANTOS & LIMA, 2005).

Jacob et al (2008) conduziram um estudo em populações de alto risco de São Paulo, Brasil, e observaram uma alta percentagem de resultados indeterminados. Bassani et al (2006), estudaram os diferentes comportamentos de portadores de HIV e usuários de drogas endovenosas com células CD4+ > 500 cells/ul, e aqueles com células CD4+ < 200 cells/ul, frente aos testes diagnósticos para HTLV. Os pacientes com células CD4+ < 200 cells/ul apresentavam intensa imunossupressão, o que levou a um alto índice de resultados indeterminados no Western Blot. Neste caso, pode ser útil a realização da PCR.

A quantificação da carga proviral é um importante marcador do prognóstico dos pacientes, possibilitando a intervenção a fim de evitar o desenvolvimento da doença ou de sua piora, e monitorar o tratamento (MARTINS & STANCIOLI, 2006).

3.7 Manifestações Clínicas

O avanço nas pesquisas do HTLV foi devido à descoberta da associação do tipo 1 com a paraparesia espástica tropical no Caribe e no Japão, o que levou a adoção de medidas profiláticas. Em Kagoshima, Japão, cientistas observaram a relação da transfusão sanguínea com o desenvolvimento de PET/MAH, o que levou a adoção da triagem em doadores de sangue (SANTOS & LIMA, 2005).

O HTLV-1 está relacionado a dois tipos de doença: leucemia/ linfoma de células T do adulto (LLTA) e a várias doenças crônicas inflamatórias, em que se destaca a paraparesia espástica tropical ou mielopatia associada ao HTLV (PET/MAH). Uma pequena percentagem de indivíduos infectados pelo HTLV-1 desenvolve a LLTA, uma malignidade de linfócitos CD4+, e várias doenças inflamatórias mediadas por linfócitos, como a PET/MAH. Entretanto,

raros casos de leucemia de células pilosas ou doenças neurológicas têm sido associados à infecção pelo HTLV-2 (YAMAMOTO et al, 2008).

Segundo Yao et al (2006), a infecção pelo tipo 2 não tem sido relacionada a doenças malignas. Alguns autores sugerem maior predisposição à infecção bacteriana nestes indivíduos.

Em diversos estudos (ONO et al, 1995; YAKOVA et al, 2005) foi demonstrada a relação da carga proviral com o desenvolvimento de doenças. A carga proviral do HTLV é o número de cópias de DNA proviral em um determinado conjunto de células, ou seja, a quantidade de linfócitos que carrega o vírus. É medida em PBMC (*Peripheral blood-mononuclear cells*) no sangue periférico.

O HTLV-1 não é encontrado na forma livre, por isso a carga viral é chamada de carga proviral. Ainda se conhece pouco sobre a variação da carga proviral ao longo da infecção. A idéia de que ela se mantém estável na maior parte do tempo é a mais aceita. Acredita-se que ocorra um equilíbrio entre o número de células infectadas e o número de células eliminadas pela resposta do organismo contra o vírus.

3.7.1 Paraparesia Espástica Tropical ou Mielopatia Associada ao HTLV (PET/MAH)

A Paraparesia Espástica Tropical ou Mielopatia Associada ao HTLV é uma doença inflamatória crônica que causa lesões no sistema nervoso central, levando à debilidade física progressiva, enrijecimento e paralisia dos membros inferiores (BANGHAM, 2003).

Em 1993, um estudo mostrou a prevalência de 56,7% de soropositividade para o HTLV-1 em pacientes com paraparesia no Rio de Janeiro (SOARES & MORAES JUNIOR, 2000).

Pacientes com PET/MAH apresentam uma alta carga proviral com elevada resposta imune humoral ao HTLV-1, quando comparados com pacientes assintomáticos. A carga proviral é importante para o desenvolvimento não só da PET/MAH, mas também da uveíte (ONO et al, 1995) e artrite reumatóide (YAKOVA et al, 2005).

3.7.2 Leucemia/Linfoma de Células T do adulto (LLTA)

A LLTA foi inicialmente descrita no Japão por Uchiyama e col., em 1977, mas sua relação com o HTLV-1 se deu em 1982 (YOSHIDA; MIYOSHI; HINUMA, 1982). A faixa etária de maior incidência da LLTA ocorre entre 40 e 60 anos, e o que se observa é que todos os pacientes com LLTA apresentam anticorpos anti-HTLV-1.

O diagnóstico desta doença se confunde com outras manifestações linfoproliferativas como leucemia linfóide crônica, síndrome de Sézary e linfomas (CARNEIRO-PROIETTI et al, 2002), daí a importância do clínico conhecer o vírus e as consequências de sua instalação no organismo.

Os principais sinais e sintomas são: astenia, dor abdominal, tosse, artropatia, ascite, diarreia e episódios de infecções repetidas.

A LLTA pode ser encontrada em quatro formas clínicas distintas:

1. Forma aguda (65% dos casos): caracteriza-se por leucocitose com células linfóides atípicas (Figura 2) e hipercalcemia.
2. Forma crônica: caracteriza-se por linfocitose absoluta (células T CD4+) e a presença de lesões de pele, episódios de infecções oportunistas e infiltrado pulmonar intersticial.
3. Forma linfomatoza: (25% dos casos) é indistinguível de outros tipos de linfoma não-Hodgkin nos aspectos clínicos e histopatológicos, exceto pela constante apresentação de lesões de pele e hipercalcemia.
4. *Smoldering*: estágio intermediário entre portador sadio e doente. Pode evoluir para a forma aguda ou crônica, num período de 10 a 15 anos.

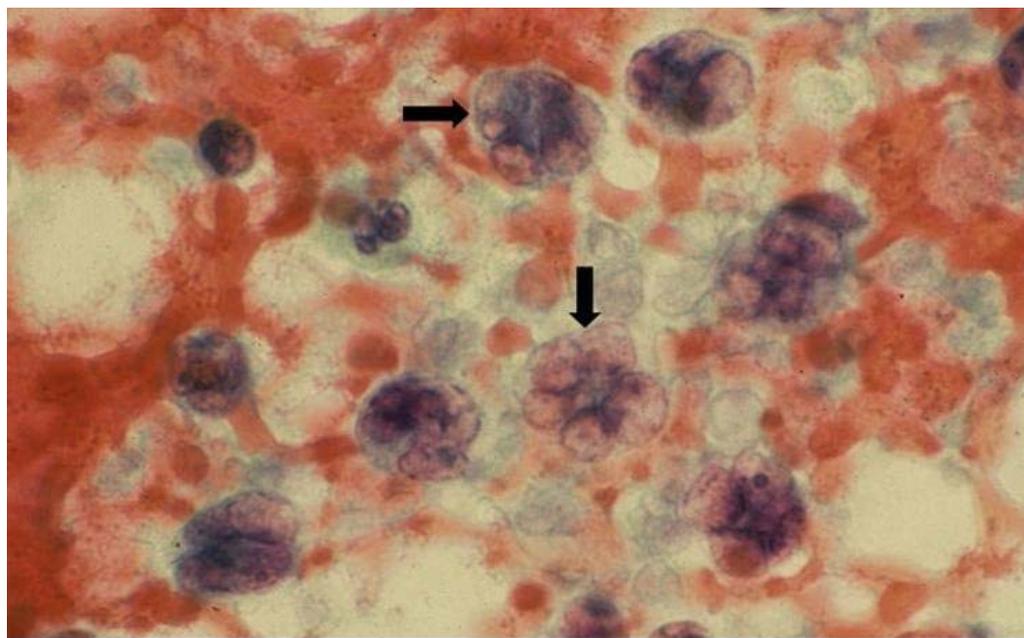


Figura 2 – “Flower cells” - células leucêmicas encontradas na LLTA, caracterizadas pelo aspecto lobulado do núcleo e cromatina grosseira.

A sobrevida média nas formas crônica e smoldering é de dois anos ou mais, e nas formas aguda e linfomatosa é em média de 6 meses.

Manifestações cutâneas podem ocorrer em um número significativo de pacientes com LLTA. O tipo mais comum de lesão de pele é a erupção maculopapular generalizada. Outros tipos de lesões também ocorrem: pápulas, lesões do tipo ictiose, nódulos, tumores e eritrodermia (PEZESHKPOOR; YAZDANPANA; SHIRDEL, 2008). Segundo Nobre et al (2007), que realizaram um estudo da prevalência do vírus em clínicas de dermatologia, observaram o alto índice de pacientes infectados e com doença dermatológica (0,7%), se comparado aos doadores de sangue (0,22%).

A LLTA ocorre em 2 a 4% dos casos de infecção por HTLV-1, enquanto que a mielopatia associada ao HTLV-1 ocorre em 2 a 3% dos casos e está associada à incapacidade crônica e dor (TAYLOR et al, 2005).

Ainda não se sabe por que a infecção pelo HTLV, em algumas pessoas, evolui para a doença, e em outras permanecem assintomática (CARNEIRO-PROIETTI et al, 2002). Estes mesmos autores referem que também não se conhece porque alguns indivíduos desenvolvem PET/MAH e outros LLTA. Várias características do vírus e do hospedeiro como cepas diferentes, carga viral e polimorfismo de haplótipos HLA vêm sendo pesquisados como fatores determinantes da evolução da infecção (CRUZ; CATALAN-SOARES; PROIETTI, 2005).

A PET/MAH e a LLTA apresentam patogenias diferenciadas e raramente acometem o paciente ao mesmo tempo.

3.7.3 Outras doenças

Algumas síndromes inflamatórias como uveítes, poliomiosite, artropatias, síndrome de Sjögren e dermatopatias também estão relacionadas ao HTLV-1. Nobre et al (2007) estudaram as doenças dermatológicas encontradas em pacientes infectados pelo vírus. As principais manifestações observadas foram: vitiligo (2), dermatofitoses (2) e lepra (2), num total de 1229 casos.

Soares & Moraes Junior (2000) citaram diversas manifestações oculares relacionadas ao HTLV-1, ressaltando a importância do oftalmologista associar essas alterações ao vírus.

A infecção por *Strongyloides stercoralis* também foi observada em pacientes infectados por HTLV-1 (GOTUZZO et al, 2000). A infestação se dá de forma severa e persistente em pacientes imunodeprimidos ou em terapia imonosupressora. Jeyamani; Joseph; Chacko (2007) acompanharam um paciente na Índia por três anos, e observaram que mesmo após a erradicação da infecção, as larvas reapareceram nas fezes do paciente. Richter et al (2005) também descrevem em um estudo de caso a infecção recorrente de *S. stercoralis*.

Satoh et al (2002a) citam que a estrogiloidíase é de difícil tratamento, especialmente nos casos em que há co-infecção com o HTLV. Este quadro interfere na resposta imune específica contra o *S. stercoralis*, e reduz a eficácia do tratamento.

No ano seguinte, Satoh et al (2003) demonstraram que a carga proviral do HTLV-1 e os títulos de anticorpos influenciam na carga do *S. stercoralis*, devido à alteração no sistema imune, e que a carga proviral do HTLV-1 pode ser um marcador útil no risco de desenvolvimento de estrogiloidíase em pacientes infectados com *S. stercoralis* e HTLV-1.

Murphy et al (2004) relataram em estudo prospectivo, a relação do HTLV 1-2 com o desenvolvimento de reações inflamatórias e reumáticas. Foi observada também, a associação do tipo 2 com a inibição da resposta imunológica em infecções respiratórias. Observou-se que em doadores de sangue HTLV-2 positivos, houve um aumento significativo na incidência de bronquite aguda, infecção de vesícula ou fígado, artrite e asma, e um aumento discreto de pneumonia. Em doadores portadores de HTLV-1, também se observou um aumento significativo de infecção de vesícula ou fígado e artrite.

A presença de anticorpos anti-HTLV-1 em pacientes com Síndrome de Sjögren já foi descrita por diversos autores (NAKAMURA et al, 1997; CRUZ et al, 2005). Títulos semelhantes de anticorpos foram encontrados em pacientes infectados pelo vírus e com PET/MAH, e em comparação com pacientes assintomáticos, os níveis são bem maiores em portadores do HTLV-1 com Síndrome de Sjögren (TERADA et al, 1994).

A síndrome de Sjögren é uma doença auto-imune que se caracteriza pela infiltração por linfócitos T nas glândulas salivares e lacrimais, o que leva à destruição dos ductos e secura de mucosas oral e conjuntival.

Pesquisadores japoneses observaram que em pacientes com Síndrome de Sjögren e infectados pelo HTLV-1, o grau de infiltração dos linfócitos é maior do que em pacientes apenas com Síndrome de Sjögren (CRUZ et al, 2005). Os mesmos autores ainda citam alguns estudos em que se observa uma maior prevalência de fibromialgia em pacientes infectados pelo HTLV-1.

A fibromialgia é definida como uma síndrome dolorosa generalizada e crônica, não-inflamatória, que se caracteriza pela presença de dor musculoesquelética difusa e sensibilidade exacerbada à palpação de determinados sítios dolorosos. É considerada uma síndrome porque além de causar dor, observa-se fadiga, indisposição e distúrbios do sono.

O que se observa muitas vezes é o desenvolvimento de várias manifestações neurológicas em pacientes infectados pelo HTLV, chamado de Complexo Neurológico Associado ao HTLV, que se caracteriza por: PET/MAH, miopatia, doença do neurônio motor, neuropatia periférica, disautonomia, ataxia cerebelar e disfunção cognitiva (CARNEIRO-PROIETTI et al, 2002).

O papel filtro para a coleta de sangue vem sendo utilizado desde que o Dr. Robert Guthrie, por volta de 1960, dosou a fenilalanina a partir do sangue seco de recém-nascidos, como forma de diagnóstico da fenilcetonúria. O papel filtro é fabricado de acordo com as especificações do National Committee on Clinical Laboratory Standards (NCCLS), como forma de garantir a precisão e reprodutibilidade na absorção do sangue.

Em 1995, Parker et al publicaram um trabalho onde foi utilizado o sangue seco para a realização do teste de aglutinação em partículas no diagnóstico do HTLV-1, onde demonstrou segurança, boa sensibilidade e especificidade em estudos soroepidemiológicos de grande escala.

A facilidade na coleta, transporte e armazenamento, fazem da coleta em papel filtro a melhor escolha para diversas análises clínicas. Vários estudos já foram realizados utilizando sangue seco como amostra biológica: na investigação do HIV em gestantes; na detecção de

marcadores de doenças auto-imunes e de fatores da coagulação; e na triagem de drogas terapêuticas e de drogas de abuso. Qualquer análise feita através de sangue total, soro ou plasma também pode ser realizada em sangue seco (MEI et al, 2001).

As infecções adquiridas pelas gestantes, antes ou durante a gestação, apresentam risco para a criança, daí a importância em se realizar um Pré-Natal completo como o realizado pelo PEPG-MS. A prevenção da transmissão vertical é o principal objetivo deste trabalho realizado por uma equipe multidisciplinar completamente envolvida em seu propósito.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Tipo de Estudo:

Trata-se de um estudo descritivo, quantitativo, compreendendo o período de novembro de 2002 a dezembro de 2006, e com coleta de dados retrospectivos obtidos no acervo técnico do Instituto de Pesquisa, Ensino e Diagnóstico da APAE (IPED-APAE). O período escolhido corresponde ao início do PEPG-MS aliado a um intervalo que garante uma amostra representativa.

4.2 Local de Estudo:

A Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE) possui 3 unidades: Complexo de Atendimento Multidisciplinar de Saúde (CAMS), Centro de Educação Especial Girassol (CEDEG) e o Instituto de Pesquisas, Ensino e Diagnósticos (IPED). O trabalho foi realizado no IPED-APAE, situado à Rua Estevão Capriata, 285, Vila Progresso, Campo Grande, Mato Grosso do Sul.

4.3 Característica da Amostra:

4.3.1. Critério de Inclusão:

O universo amostral correspondeu ao total de gestantes que apresentaram resultados alterados em papel filtro (reagente, indeterminado ou solicitação em nova amostra) através da técnica de ELISA.

4.3.2. Critério de Exclusão:

Foram excluídas as gestantes com resultado “não reagente” em papel filtro através da técnica de ELISA, e aquelas que apresentaram quantidade insuficiente de sangue para realização do exame.

4.4 Instrumentos para Coleta de Dados:

Foram utilizadas as fichas de gestantes e prontuários médicos padronizados pelo IPED-APAE para registros dos dados, assim como consultas no Sistema Gerenciador do Programa Estadual de Proteção à Gestante.

4.5 Descrição das Variáveis:

As principais variáveis consideradas foram as seguintes:

- Resultados do teste de ELISA em papel filtro: reagente, não reagente, indeterminado, repetição em nova amostra.
- Resultados do teste de ELISA em soro: reagente, não reagente e indeterminado.
- Resultados do teste de Western Blot: tipo 1, tipo 2, tipo indeterminado, tipo 1 e 2, negativo.
- Quantidade de Bandas no Western Blot: de 0 (zero) a 12 (doze).
- Tipos de HTLV: tipo 1, tipo 2, tipo indeterminado, tipo 1 e 2.
- Resultados de PCR: positivo, negativo.

4.6 Técnicas Utilizadas para Obtenção de Dados Primários e Secundários:

As amostras em sangue seco foram obtidas através de punção digital, e distribuídas em seis discos de papel filtro S&S 903 (Anexos). As coletas foram realizadas nas unidades de saúde dos municípios de Mato Grosso do Sul, e após secagem, foram enviadas ao IPED-APAE pelo correio.

Inicialmente foi realizado o teste de ELISA em papel filtro. As gestantes “alteradas” foram reconvocadas a coletar soro, para confirmação do resultado.

As amostras para confirmação da triagem foram obtidas por punção venosa periférica (Anexo), e enviadas ao laboratório devidamente acondicionadas. A partir daí, foi repetido o teste de ELISA e realizados os testes de Western Blot e PCR, este último, somente se necessário.

A análise das bandas do teste de Western Blot permite a confirmação da infecção, além de discriminar se a mesma está sendo causada pelo tipo 1 ou tipo 2, através de antígenos recombinantes específicos de cada vírus. Quando a confirmação ou a diferenciação não pode ser feita pelo Western Blot, utilizam-se testes moleculares, que detectam o material genético do vírus, através da reação em cadeia de polimerase (PCR).

Todos os dados laboratoriais foram transcritos para as fichas de gestantes e posteriormente armazenados no Sistema Gerenciador do Programa Estadual de Proteção à Gestante, existente desde janeiro de 2004. Após a liberação do laudo, dados referentes às gestantes foram armazenados em prontuários médicos. O sistema gerou uma planilha no formato .xls com os dados das gestantes com resultado diferente de “não reagente”, que foi analisada juntamente com os dados de novembro de 2002 a dezembro de 2003, onde não se usava este sistema gerenciador e os resultados eram digitados no Excel.

Todos os exames foram realizados rotineiramente na triagem das gestantes que participaram do PEPG-MS durante o período do estudo.

4.6.1 ELISA - É um teste imunoenzimático qualitativo para a detecção de anticorpos anti-HTLV 1 e 2. Destina-se a ser usado como teste de triagem.

As amostras do soro ou plasma são adicionadas a microcavidades revestidas com pepídeos sintéticos representando regiões imunodominantes de proteínas do envelope do HTLV-1 e HTLV-2 e uma proteína transmembrânica recombinante do HTLV-2. O conjugado é uma mistura dos mesmos pepídeos de antígenos e da proteína transmembrânica recombinante do HTLV-1, ambos marcados com peroxidase de rábano. Se os anticorpos específicos anti-HTLV 1-2 estiverem presentes na amostra, ligam-se aos antígenos nas microcavidades e qualquer excesso de amostra e antígenos são removidos por lavagem. Na etapa seguinte, o conjugado é adicionado, o qual liga-se a qualquer anticorpo específico já ligado aos antígenos nas cavidades. Amostras que não contêm anticorpos específicos não permitirão a ligação do conjugado com as cavidades. O conjugado não ligado é removido por lavagem e uma solução contendo 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) e peróxido de hidrogênio é adicionada às cavidades. As cavidades com conjugado ligado desenvolvem uma coloração púrpura que é convertida em laranja quando a reação é interrompida com ácido sulfúrico. A quantidade de conjugado, e portanto, a coloração nas cavidades é diretamente relacionada à concentração de anticorpo contra HTLV presente na amostra e pode ser lido espectrofotometricamente em 450nm.

Para a realização do teste de ELISA foi utilizado o kit “Murex HTLV I+II” da Murex Biotech Limited, que apresenta especificidade estimada em 99,94% em doadores de sangue presumidamente negativos.

4.6.2 Western Blot - É um teste imunoenzimático qualitativo para a detecção de anticorpos anti- HTLV 1-2 no soro ou plasma humano. Destina-se a ser usado como teste

complementar mais específico para amostras de soro ou plasma humano que apresentaram resultados repetidamente reativos no teste de triagem, o ELISA.

As fitas de nitrocelulose são incorporadas com proteínas virais do HTLV-1 derivadas de partículas virais rompidas inativadas e proteínas obtidas por engenharia genética. As fitas individuais de nitrocelulose são incubadas com amostras de soro ou plasma diluídos e com controles.

Os anticorpos específicos contra o HTLV 1-2, caso presentes na amostra, irão se fixar às proteínas do vírus aderidas nas fitas, que são lavadas para remover o material não fixado. Os anticorpos que se fixam especificamente às proteínas do HTLV podem ser visualizados por uma série de reações mediante o uso de anticorpo caprino anti-IgG humana conjugado à fosfatase alcalina e do substrato BCIP/NBT. Este método é suficientemente sensível para detectar quantidades mínimas de anticorpos específicos contra o HTLV no soro ou plasma.

O Teste de Western Blot utilizado no PEPG-MS apresenta sensibilidade e especificidade aprimoradas tanto para confirmar como para diferenciar as sororeatividades para HTLV-1 e para HTLV-2. Isto é efetuado graças à incorporação de MTA-1, uma proteína recombinante exclusiva do envelope do HTLV 1 (rgp46-I), de K55, uma proteína recombinante exclusiva do envelope de HTLV 2 (rgp46-II), e de GD21, uma proteína recombinante de epítipo de envelopes, que embora comum ao HTLV-1 e HTLV-2, é específica.

Cada fita inclui também um controle interno de adição de amostra para minimizar o risco de falso-negativos provocados por erros operacionais (GENELABS DIAGNOSTICS).

Para o teste de Western Blot foi utilizado o kit “Western Blot 2.4” da Genelabs Diagnostics, que apresenta 92,5% de especificidade e 96,9% a 97,1% de sensibilidade.

A interpretação do teste de Western Blot, segue no quadro 2:

PADRÃO	INTERPRETAÇÃO
Nenhuma reatividade com proteínas específicas do HTLV	SORONEGATIVO
Reatividade para: <ul style="list-style-type: none"> • Proteínas do GAG (p19 com ou sem p24) e • Duas proteínas do ENV (GD21 e rgp46-I) 	SOROPOSITIVO PARA HTLV-1
Reatividade para: <ul style="list-style-type: none"> • Proteínas do GAG (p24 com ou sem p19) e • Duas proteínas do ENV (GD21 e rgp46-II) 	SOROPOSITIVO PARA HTLV-2
Reatividade para: <ul style="list-style-type: none"> • Proteínas do GAG (p19 e p24) e • Proteínas do ENV (GD21) - SOROPOSITIVO PARA HTLV-I indicado se p19 =?p24 - SOROPOSITIVO PARA HTLV-II indicado se p19 < p24	SOROPOSITIVO PARA HTLV*
Detecção de bandas específicas para o HTLV, mas que não preenchem os critérios de soropositividade acima.	INDETERMINADO
* Amostras soropositivas para HTLV nas quais não é possível fazer a tipagem podem ser melhor solucionadas usando o algoritmo de Wiktor et al na ausência de rgp46- I e de rgp46-II. Este algoritmo usa a reatividade relativa de p19 e de p24 e mostrou-se eficiente para diferenciar os dois sorotipos.	

Quadro 2 – Interpretação dos resultados de Western Blot (GENELABS DIAGNOSTICS).

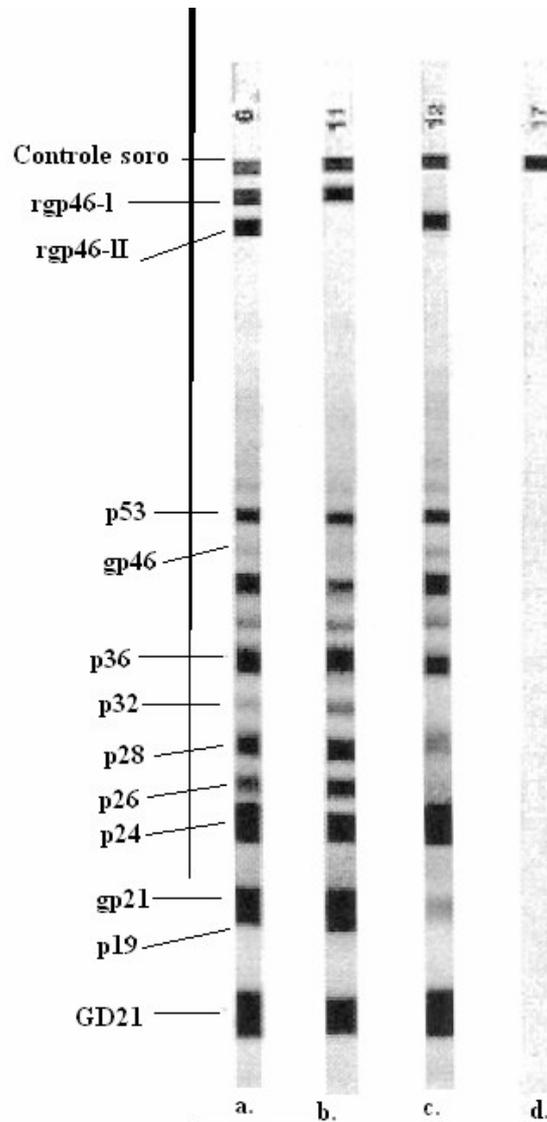


Figura 3 – Interpretação de bandas segundo o protocolo do teste de Western Blot (GENELABS DIAGNOSTICS). Bandas virais específicas conforme visualizadas com: a. Um soro com infecção dupla por HTLV-I/II; b. Controle Reativo Forte I. (Reativo unicamente para HTLV-I); c. Controle Reativo Forte II. (Reativo unicamente para HTLV-II); d. Controle Não Reativo.

4.6.3 PCR Qualitativo e Genotipagem - como exames confirmatórios. Utilizada técnica desenvolvida “in house” devido à não disponibilidade de kits comerciais no mercado para a detecção do HTLV pela técnica de PCR.

4.7 Aspectos Éticos:

A pesquisa só foi realizada após a autorização formal do presidente da APAE de Campo Grande, da superintendência do IPED-APAE e do Comitê de Ética em Pesquisa da

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (CEP-UFMS), estando em consonância com a resolução 196/96/CONEP/MS. A carta de aprovação pelo CEP-UFMS encontra-se em Anexo.

4.8 Análise dos Dados:

Os dados foram analisados estatisticamente através do programa Minitab versão 14. As tabelas foram criadas através do EPI-Info e os gráficos pelo Excel.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período de novembro de 2002 a dezembro de 2006, 155.807 gestantes foram triadas para diversas doenças pelo Programa Estadual de Proteção à Gestante de Mato Grosso do Sul. Destas, 265 apresentaram resultado alterado (reagente, indeterminado ou “repetição em nova amostra”) para a infecção pelo HTLV 1-2.

Dos 265 casos alterados através da técnica em papel filtro, 224 (84,5%) recoletaram soro e sangue total para realizar a confirmação através da técnica de ELISA e Western Blot e/ou PCR. Dos 41 casos que não fizeram a coleta, 80,5% são de gestantes não localizadas, 7,3% são de “repetição em nova amostra”, ou seja, casos em que precisaria de uma nova amostra para a confirmação do resultado, e 12,2% são de casos em que não foi possível ter acesso aos dados laboratoriais (Tabela 3).

Tabela 3 – Casos não confirmados de infecção por HTLV através do Programa Estadual de Proteção à Gestante de MS (PEPG), no período de novembro 2002 a dezembro 2006.

	Quantidade	Percentual
Não localizada	33	80,5%
Sem informação	5	12,2%
Repetição em nova amostra	3	7,3%
Total	41	100,0%

Para o cálculo da prevalência da infecção por HTLV 1-2 em gestantes de Mato Grosso do Sul, foram utilizados os 206 casos confirmados no período, em relação aos 155.807 triados pelo Programa. A taxa encontrada foi de 0,13% com um erro de estimação de 0,02% e 95% de confiabilidade, que condiz com aquela demonstrada por Dal Fabbro et al (2008) na mesma população, e é menor que a taxa encontrada em doadores de sangue deste mesmo estado, onde se observou 0,17% de positividade (FREITAS, 2002). Já em comparação com as gestantes dos países europeus (TAYLOR et al, 2005), a prevalência encontrada em Mato Grosso do Sul é maior.

A prevalência encontrada em gestantes de Mato Grosso do Sul é menor que em Córdoba, que apresentou 0,191% (TRENCHI et al, 2007), e que no Peru, com taxa de 1,2 a 2,2% (ALARCÓN et al, 2006). Em comparação com a prevalência encontrada em Fortaleza

(0,12%), descrita por Broutet et al (1996), Mato Grosso do Sul apresentou uma taxa muito próxima.

Os testes utilizados na etapa de confirmação (soro) dos casos alterados em papel filtro seguem na Tabela 4. Durante os cinco anos, a combinação dos exames variou dependendo da época da coleta. No início do PEPG-MS, utilizou-se o PCR como teste confirmatório. Após certo período, o teste de Western Blot passou a ser o exame de escolha na confirmação do diagnóstico pelo HTLV 1-2.

Houve um período de transição, onde se utilizaram o PCR e Western Blot como exames confirmatórios (27 casos). Nesta fase, 4 casos indeterminados no Western Blot deram negativos no PCR, 1 caso indeterminado no W. Blot confirmou como sendo do tipo 1 no PCR e 1 caso indeterminado no PCR confirmou positivo no W. Blot (Tipo 1). O teste de ELISA foi utilizado como teste de triagem, tanto na etapa inicial (em papel filtro), como na fase confirmatória (soro).

Tabela 4 – Exames utilizados na fase confirmatória do Programa Estadual de Proteção à Gestante de MS (PEPG), no período de novembro 2002 a dezembro 2006.

	Quantidade	Percentual
ELISA + PCR	84	37,5%
ELISA + BLOT	113	50,4%
ELISA + PCR + BLOT	27	12,1%
TOTAL	224	100,0%

Os tipos de HTLV encontrados entre as gestantes de Mato Grosso do Sul podem ser visualizados na Tabela 5 e Gráfico 1. Para esta análise, foram considerados apenas os casos confirmados (206).

Tabela 5 – Tipos de HTLV encontrados nas gestantes de Mato Grosso do Sul, através do PEPG-MS, no período de novembro 2002 a dezembro 2006.

	Quantidade	Percentual
Tipo 1	158	76,6%
Tipo 2	20	9,7%
Indeterminado	27	13,1%
Tipo 1 e 2	1	0,4%
Total	206	100,0%

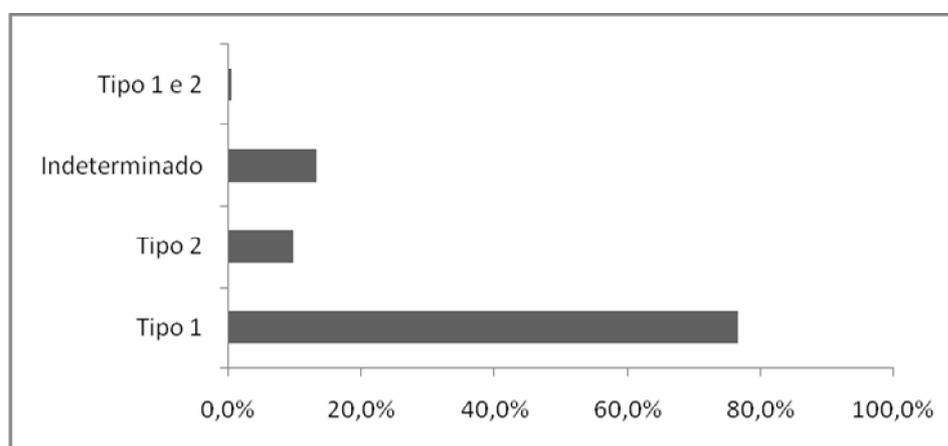


Gráfico 1 – Tipos de HTLV encontrados nas gestantes de Mato Grosso do Sul, através do PEPG-MS, no período de novembro 2002 a dezembro 2006.

Assim como nas gestantes de Salvador (BITTENCOURT et al, 2001) e Goiânia (OLIVEIRA & AVELINO, 2006) o tipo predominante de HTLV foi o tipo 1, o contrário do observado em gestantes da Espanha, que de 13 casos confirmados, 11 foram reagentes para HTLV-2 e 2 para HTLV-1, e na Bélgica que de 4 casos, 3 foram confirmados para o tipo 2. (TAYLOR et al, 2005).

Neste estudo apenas 13,1% dos casos foram diagnosticados como indeterminados, enquanto em Fortaleza, Santos et al (2003) detectaram que 118 dos 191 casos em doadores de sangue eram indeterminados. Segundo os autores, existe uma relação entre o resultado de Western Blot e o sexo: os casos positivos estão ligados ao sexo feminino e casos indeterminados estão ligados ao masculino. Isto explica a baixa taxa de casos indeterminados no presente estudo.

Foi realizada uma comparação entre os tipos de HTLV diagnosticados pelo Western Blot e as proteínas detectadas no teste. Através da Tabela 6, podem-se observar todas as possíveis combinações entre a quantidade de proteínas do tipo “GAG” (p19, p24, p26, p28, p32, p36, p53) e a quantidade de proteínas do tipo “ENV” (GD21, gp21, gp46, rgp46-I e rgp46-II) presentes nas amostras.

Tabela 6 - Possíveis combinações entre a quantidade de proteínas do tipo “GAG” e a quantidade de proteínas do tipo “ENV” encontradas no teste de Western Blot, através do PEPG-MS, no período de novembro 2002 a dezembro 2006.

Proteínas - GAG	Proteínas – ENV						Total
	0	1	2	3	4	5	
0	0	1	3	0	0	0	4
1	3	5	4	2	0	0	14
2	1	1	6	2	1	0	11
3	0	0	7	1	0	0	8
4	0	1	0	0	1	0	2
5	0	0	1	2	2	0	5
6	0	0	1	7	1	0	9
7	0	0	1	7	73	1	82
Total	4	8	23	21	78	1	135

A combinação de maior frequência dentre as proteínas “GAG” e “ENV” foram de quatro proteínas “ENV” com sete proteínas “GAG”, totalizando 73 casos dentre 135, ou seja, um total de 54,0%.

Nesta parte do estudo foram cruzados os tipos virais, com as quantidades de proteínas GAG e ENV. Com relação ao “Tipo – 1”, 72,9% apresentaram uma combinação de sete proteínas GAG, e quatro proteínas ENV, conforme Tabela 7:

Tabela 7 – Tipos de proteínas encontradas no Western Blot (GAG ou ENV) em relação ao HTLV-1 (PEPG-MS - novembro 2002 a dezembro 2006).

Proteínas - GAG	Proteínas - ENV				Total
	0	2	3	4	
0	0	0	0	0	0
1	0	0	1	0	1
2	0	0	2	1	3
3	0	1	1	0	2
5	0	1	2	2	5
6	0	0	7	1	8
7	0	1	6	70	77
Total	0	3	19	74	96

Com relação aos casos diagnosticados como “Tipo 2” (12), a combinação que teve maior frequência foi de duas proteínas ENV com uma GAG, representando 33,3% do total.

Tabela 8 – Tipos de proteínas encontradas no Western Blot (GAG ou ENV) em relação ao HTLV-2 (PEPG-MS - novembro 2002 a dezembro 2006).

Proteínas - GAG	Proteínas - ENV		Total
	2	4	
1	4	0	4
2	3	0	3
3	3	0	3
4	0	1	1
7	0	1	1
Total	10	2	12

Nos casos indeterminados (26), observou-se uma heterogeneidade de combinações das proteínas do Western Blot, sendo apresentados os resultados na Tabela 9:

Tabela 9 – Tipos de proteínas encontradas no Western Blot (GAG ou ENV) em relação ao HTLV INDETERMINADO (PEPG-MS - novembro 2002 a dezembro 2006).

Proteínas - GAG	Proteínas – ENV					Total
	0	1	2	3	4	
0	---	2	3	0	0	5
1	3	4	0	1	0	8
2	1	1	4	0	0	6
3	0	1	2	0	0	3
5	0	0	1	0	0	1
6	0	0	0	1	2	2
Total	4	8	10	2	2	26

Em relação aos resultados do Western Blot houve uma reação mais intensa do HTLV “Tipo 1”, onde 72,9% dos casos apresentaram onze bandas reagentes, o que significa todas as bandas presentes. Quanto ao HTLV “Tipo 2”, os resultados encontrados foram: maior frequência de três bandas (33,3%), seguido de quatro e cinco bandas, com respectivos percentuais de 25,0%, refletindo uma reação mais fraca e variada às proteínas virais. Nos casos indeterminados, observou-se uma variedade ainda maior das proteínas virais reativas ao W. Blot, sendo que o maior percentual encontrado foi de duas bandas (30,7%). No cruzamento das proteínas ENV e GAG foram encontrados: 0 ENV e 2 GAG, 2 ENV e 0 GAG e 1 ENV e 1 GAG. O caso encontrado de HTLV 1-2 apresentou 12 bandas presentes.

Tabela 10 – Quantidade de bandas encontradas no Western Blot em relação aos tipos de HTLV (PEPG-MS - novembro 2002 a dezembro 2006).

Bandas	Tipo – 1		Tipo – 2		Indeterminado	
	Qtd	%	Qtd	%	Qtd	%
1	0	0,0%	0	0,0%	5	19,2%
2	0	0,0%	0	0,0%	8	30,7%
3	0	0,0%	4	33,3%	1	3,8%
4	1	1,0%	3	25,0%	6	23,0%
5	3	3,1%	3	25,0%	2	7,6%
6	2	2,0%	0	0,0%	0	0,0%
7	1	1,0%	0	0,0%	1	3,8%
8	2	2,0%	1	8,3%	0	0,0%
9	10	10,4%	0	0,0%	1	3,8%
10	7	7,2%	0	0,0%	2	7,6%
11	70	72,9%	1	8,3%	0	0,0%
Total	96	100,0%	12	100,0%	26	100,0%

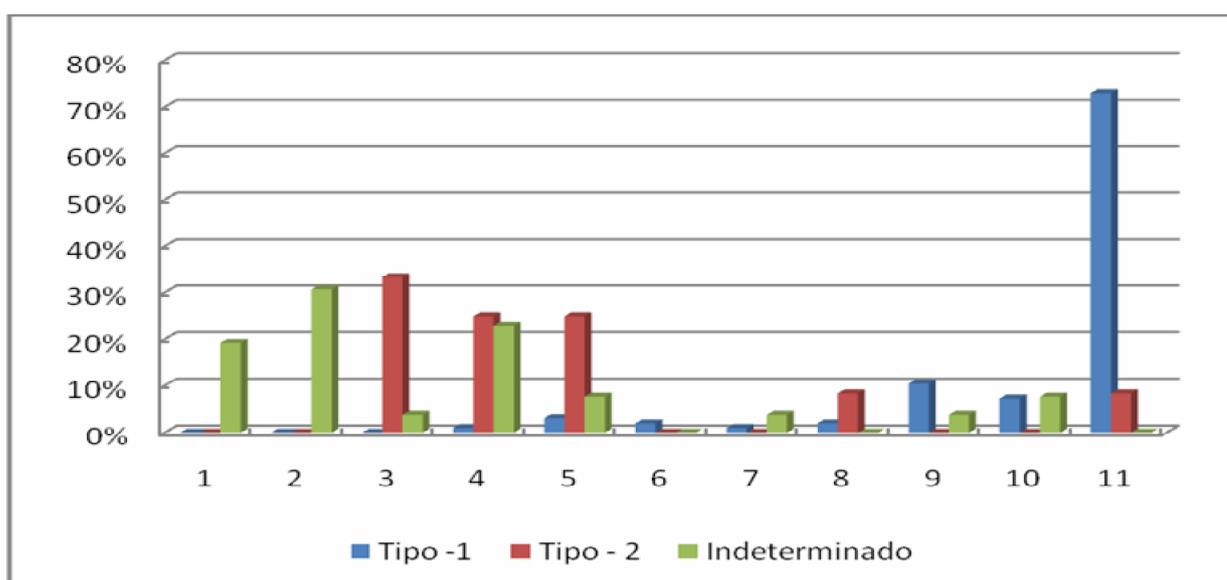


Gráfico 2 – Quantidade de bandas encontradas no Western Blot em relação aos tipos de HTLV (PEPG-MS - novembro 2002 a dezembro 2006).

6 CONCLUSÕES:

- Foram encontrados 76,6% casos de HTLV-1, 9,7% casos de HTLV-2, 13,1% de indeterminados e 1 caso (0,4%) de HTLV 1 e 2.
- O caso de infecção mista pelo HTLV, provavelmente só pode ser demonstrado em um estudo com uma amostra grande como este, por se tratar de um caso raro.
- A soroprevalência de 0,13% encontrada nas gestantes, provavelmente se aproxima mais da população em geral, devido à heterogeneidade da população estudada.
- Em comparação a outros países, com exceção dos europeus, e ao próprio Brasil, Mato Grosso do Sul apresenta uma baixa prevalência para o HTLV 1-2, mas não menos importante.
- De todos os testes de Western Blot realizados, 54,0% apresentaram 11 bandas presentes (quatro proteínas ENV e sete proteínas GAG), sendo que, 72,9% destes casos correspondem ao HTLV-1.
- O HTLV-1 apresentou uma reação mais intensa frente às proteínas utilizadas na técnica de Western Blot se comparado ao tipo 2, onde a combinação de maior frequência foi de duas proteínas ENV com uma GAG, representando 33,3% do total.
- Os casos de HTLV indeterminados reagiram, de maneira mais distribuída e mais fraca, ou seja, 30,7% apresentaram apenas 2 bandas reagentes sendo que, no cruzamento das proteínas ENV e GAG foram encontrados: 0 ENV e 2 GAG, 2 ENV e 0 GAG e 1 ENV e 1 GAG.

REFERÊNCIAS

- ABBASZADEGAN, M. R.; GHOLAMIN, M.; TABATABAEE, A.; FARID R.; HOUSHMAND M.; ABBASZADEGAN M. Prevalence of Human T-Lymphotropic Virus Type 1 among Blood Donors from Mashhad, Iran. **J. Clin. Microbiol**, USA, v. 41, n. 6, p. 2593-2595, Jun. 2003.
- ADES, A.E.; PARKER, S.; WALKER, J.; EDGINTON, M.; TAYLOR, G. P.; WEBER, J. N. Human T cell leukaemia/lymphoma virus infection in pregnant women in the United Kingdom: population study. **BMJ**, London, v. 320, n. 7248, p. 1497-1501, Jun. 2000.
- ALARCÓN, J. O.; FRIEDMAN, H. B.; MONTANO, S. M.; ZUNT, J. R.; HOLMES, K. K.; QUINNAN, G. V. JR. High endemicity of human T-cell lymphotropic virus type 1 among pregnant women in Peru. **J Acquir Immune Defic Syndr**, USA, v. 42, n. 5, p. 604-609, Aug. 2006.
- ARMAH, H. B.; NARTER-OLAGA, E. G.; ADJEL, A. A.; ASOMANING, K.; GYASI, R. K.; TETTEY, Y. Seroprevalence of human T-cell lymphotropic virus type I among pregnant women in Accra, Ghana. **J Med Microbiol**, United Kindom, v. 55, n. 6, p. 765-770, Jun. 2006.
- BANGHAM, C. R. The immune control and cell-to-cell spread of human T-lymphotropic virus type 1. **J Gen Virol**, United Kindom, v. 84, p. 3177-3189, Dec. 2003.
- BASSANI, S.; TORO, C.; JIMÉNEZ, V.; RODÉS, B.; SORIANO, V. Can the level of immunosuppression in human immunodeficiency virus-infected patients affect the reliability of human T-cell lymphotropic virus type 2 serological diagnosis? **Clin Vaccine Immunol**, USA, v. 13, n.1, p. 160-161, Jan 2006.
- BITTENCOURT, A. L. Vertical Transmission of HTLV-I/II: A review. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, Brazil, v. 40 , n. 4, p. 245-251, Jul-Aug. 1998.
- BITTENCOURT, A. L.; DOURADO, I.; FILHO, P. B.; SANTOS, M.; VALADÃO, E.; ALCANTARA, L. C.; GALVÃO-CASTRO, B. Human T-cell lymphotropic virus type 1 infection among pregnant women in northeastern Brazil. **J Acquir Immune Defic Syndr**, USA, v. 26, n. 5, p. 490-494, Apr. 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Manual Normativo para Profissionais de Saúde de Maternidades – Referência para mulheres que não podem amamentar**. Brasília, Mai. 2004a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. **Guia de Manejo Clínico do Paciente com HTLV**. Brasília, 2004b (Série Manuais).

BROUTET, N.; DE QUEIROZ SOUSA, A.; BASILIO, F. P.; SÁ, H. L.; SIMON, F.; DABIS, F. Prevalence of HIV-1, HIV-2 and HTLV antibody, in Fortaleza, Ceara, Brazil, 1993-1994. **Int J STD AIDS**, United Kindom, v. 7, n. 5, p. 365-369, Aug-Sep. 1996.

CARNEIRO-PROIETTI, A. B.; RIBAS, J. G.; CATALAN-SOARES, B. C.; MARTINS, M. L.; BRITO-MELO, G. E.; MARTINS-FILHO, O. A.; PINHEIRO, S. R.; ARAÚJO ADE, Q.; GALVÃO-CASTRO, B.; DE OLIVEIRA, M. S.; GUEDES, A. C.; PROIETTI, F. A. Infection and disease caused by the human T cell lymphotropic viruses type I and II in Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, Brazil, v. 35, n. 5, p. 499-508, Sep-Oct. 2002.

CATALAN-SOARES, B.; CARNEIRO-PROIETTI, A. B.; PROIETTI, F. A.; INTERDISCIPLINARY HTLV RESEARCH GROUP. Heterogeneous geographic distribution of human T-cell lymphotropic viruses I and II (HTLV-I/II): serological screening prevalence rates in blood donors from large urban areas in Brazil. **Cad Saúde Pública**, Brazil, v. 21, n. 3, p. 926-931, May-Jun. 2005.

CATALAN-SOARES, B. C.; PROIETTI, F. A.; CARNEIRO-PROIETTI, A. B. F. Os vírus linfotrópicos de células T humanos (HTLV) na última década (1990-2000): aspectos epidemiológicos. **Rev. Bras. Epidemiol**, Brazil, v. 4, n. 2, p. 81-95, Aug. 2001.

CRUZ, B. A.; CATALAN-SOARES, B.; PROIETTI, F. Rheumatic Manifestations associated with the Human T-Cell Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I). **Rev Bras Reumatol**, Brazil, v. 45, n. 2, p. 71-77, Mar-Abr. 2005.

DAL FABBRO, M. M.; CUNHA, R. V.; BÓIA, M. N.; PORTELA, P.; BOTELHO, C. A.; FREITAS, G. M.; SOARES, J.; FERRI, J.; LUPION, J. HTLV 1/2 infection: prenatal performance as a disease control strategy in State of Mato Grosso do Sul. **Rev Soc Bras Med Trop**, Brazil, v. 41, n. 2, p. 148-151, Mar-Apr. 2008.

DOURADO, I.; ALCANTARA, L. C.; BARRETO, M. L.; DA GLORIA TEIXEIRA, M.; GALVÃO-CASTRO, B. HTLV-I in the general population of Salvador, Brazil: a city with African ethnic and sociodemographic characteristics. **J Acquir Immune Defic Syndr**, USA, v. 34, n. 5, p. 527-531, Dec. 2003.

FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S. L. M. **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-ímmunes**. 2ª. ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brasil, p. 103-110, 2001.

FREITAS, G. M. B. **Estudo Clínico e Epidemiológico da Infecção pelos Vírus Linfotrópicos de Células-T Humanas (HTLV I/ II) em Doadores de Sangue de Campo Grande-MS (1994 a 2001)**. Dissertação de Mestrado, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, 2002.

GABET, A. S.; MOULÉS, V.; SIBON, D.; NASS, C. C.; MORTREUX, F.; MAUCLÈRE, P.; GESSAIN, A.; MURPHY, E. L.; WATTEL, E. Endemic versus epidemic viral spreads display distinct patterns of HTLV-2b replication. **Virology**, v. 345, n. 1, p. 13-21, Feb. 2006.

GALLO, R. C. The discovery of the first human retrovirus: HTLV-1 and HTLV-2. **Retrovirology**, v. 2, p. 2-17, Mar. 2005.

GENELABS DIAGNOSTICS. **HTLV Blot 2.4**. Western Blot Assay – For detection and identification of IgG antibodies to Human T-Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) and Type II (HTLV-II). MP Biomedicals Asia Pacific Pte Ltd, Singapore.

GESSAIN, A.; GALLO, R. C.; FRANCHINI, G. Low degree of human T-cell leukemia/lymphoma virus type I genetic drift in vivo as a means of monitoring viral transmission and movement of ancient human populations. **J Virol**, USA, v. 66, n. 4, p. 2288-2295, Apr. 1992.

GOTUZZO, E.; ARANGO, C.; DE QUEIROZ-CAMPOS, A.; ISTÚRIZ, R. E. Human T-cell lymphotropic virus-I in Latin America. **Infect Dis Clin North Am**, USA, v. 14, n. 1, p. 211-239, Mar. 2000.

JACOB, F.; SANTOS-FORTUNA, E.; AZEVEDO, R. S.; CATERINO-DE-ARAÚJO, A. Serological patterns and temporal trends of HTLV-1/2 infection in high-risk populations attending Public Health Units in São Paulo, Brazil. **J Clin Virol**, v. 42, n. 2, p. 149-155, Jun. 2008.

JEYAMANI, R.; JOSEPH, A. J.; CHACKO, A. Severe and treatment resistant strongyloidiasis--indicator of HTLV-I infection. **Trop Gastroenterol**, v. 28, n. 4, p. 176-177, Oct-Dec. 2007.

KAJIYAMA, W.; KASHIWAGI, S.; IKEMATSU, H.; HAYASHI, J.; NOMURA, H.; OKOCHI, K. Intrafamilial transmission of adult T cell leukemia virus. **J Infect Dis**, USA, v. 154, n. 5, p. 851-857, Nov. 1986.

KAMIHIRA, S.; NAKASIMA, S.; OYAKAWA, Y.; MORIUTI, Y.; ICHIMARU, M.; OKUDA, H.; KANAMURA, M.; OOTA, T. *et al.* Transmission of human T cell lymphotropic virus type I by blood transfusion before and after mass screening of sera from seropositive donors. **Vox Sang**, v. 52, n. 1-2, p. 43-44, 1987.

KROON, E. G.; CARNEIRO-PROIETTI, A. B. **Cadernos Hemominas. Vírus linfotrópicos de células T humanas Tipos 1 e 2 (HTLV – 1/2) - histórico, estrutura e ciclo de multiplicação viral**, 4^a. ed. Belo Horizonte: Fundação Hemominas, 2006, cap.1, p. 11-20.

LEVINE, P. H.; LATTNER, W. A. The epidemiology of diseases associated with HTLV I and HTLV II. **Infect Dis Clin North Am**, USA, v.1, n.3, p. 501-510, Sep. 1987.

LOWIS, G.W.; SHEREMATA, W.A.; MINAGAR, A. Epidemiologic features of HTLV-II: serologic and molecular evidence. **Ann Epidemiol**, USA, v. 12, n. 1, p. 46-66, Jan. 2002.

MACHUCA, A.; TUSET, C.; SORIANO, V.; CABALLERO, E.; AGUILERA, A.; ORTIZ DE LEJARAZU, R.; HTLV SPANISH STUDY GROUP. Prevalence of HTLV infection in pregnant women in Spain. **Sex Transm Infect**, v. 76, n. 5, p. 366-370, Oct. 2000.

MAHIEUX, R.; GESSAIN, A. The human HTLV-3 and HTLV-4 retroviruses: New members of the HTLV family. **Pathol Biol**, France, May. 2008.

MANEL, N.; KIM, F. J.; KINET, S.; TAYLOR, N.; SITBON, M.; BATTINI, J. L. The ubiquitous glucose transporter GLUT-1 is a receptor for HTLV. **Cell**, v. 115, n. 4, p. 449-459, Nov. 2003.

MANEL, N.; BATTINI, J. L.; TAYLOR, N.; SITBON, M. HTLV-1 tropism and envelope receptor. **Oncogene**, v. 24, n. 39, p. 6016-6025, Sep. 2005.

MARTINS, M. L.; STANCIOLI, E. F. B. Cadernos Hemominas. **Patogênese da infecção pelo HTLV**, 4ª. ed. Belo Horizonte: Fundação Hemominas, 2006, cap.2, p. 21-45.

MEI, J. V.; ALEXANDER, J. R.; ADAM, B. W.; HANNON, W. H. *et al.* Use of Filter Paper for the Collection and Analysis of Human Whole Blood Specimens. **J Nutr**, v. 131, n. 5, p. 1631S-1636, May. 2001.

MOREIRA, E. D. JR; RIBEIRO, T. T.; SWANSON, P.; SAMPAIO FILHO C.; MELO, A.; BRITES, C.; BADARÓ, R.; TOEDTER, G.; LEE, H.; HARRINGTON, W. JR. Seroepidemiology of human T-cell lymphotropic virus type I/II in northeastern Brazil. **J Acquir Immune Defic Syndr**, USA, v. 6, n. 8, p. 959-63, Aug 1993.

MOXOTO, I.; BOA-SORTE, N.; NUNES. C.; MOTA, A.; DUMAS, A.; DOURADO, I.; GALVÃO-CASTRO, B. Sociodemographic, epidemiological and behavioral profile of women infected with HTLV-1 in Salvador, Bahia, an endemic area for HTLV. **Rev Soc Bras Med Trop**, Brazil, v. 40, n. 1, p. 37-41, Jan-Feb. 2007.

MUELLER, N.; OKAYAMA, A.; STUVER, S.; TACHIBANA, N. Findings from the Miyazaki Cohort Study. **J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol**, USA, v. 13, Suppl 1, p. S2-S7, 1996.

MUREX BIOTECH LIMITED. **Murex HTLV I+II**. Ensaio imunoenzimático qualitativo para a detecção de anticorpos contra o vírus T-linfotrófico humano, tipos I e II (HTLV-I e HTLV-II) em soro ou plasma humano. Dartford Kent England DA1 5LR, United Kingdom.

MURPHY, E. L.; WANG, B.; SACHER, R. A.; FRIDEY, J.; SMITH, J. W.; NASS, C. C.; NEWMAN, B.; OWNBY, H. E.; GARRATTY, G.; HUTCHING, S. T.; SCHREIBER, G. B. Respiratory and urinary tract infections, arthritis, and asthma associated with HTLV-I and HTLV-II infection. **Emerg Infect Dis**, v. 10, n. 1, p. 109-116, Jan. 2004.

NAKAMURA, H.; EGUCHI, K., NAKAMURA, T.; MIZOKAMI, A.; SHIRABE, S.; KAWAKAMI, A.; MATSUOKA, N.; MIGITA, K.; KAWABE, Y.; NAGATAKI, S. High prevalence of Sjögren's syndrome in patients with HTLV-I associated myelopathy. **Ann Rheum Dis**, v. 56, n. 3, p. 167-172, Mar. 1997.

NOBRE, V.; GUEDES, A. C.; PROIETTI, F. A.; MARTINS, M. L.; NASSIF, G.; SERUFO, J. C.; LAMBERTUCCI, JR.; GIPH (HTLV-1/2RESEARCH INTERDISCIPLINARY GROUP). Increased prevalence of human T cell lymphotropic virus type 1 in patients attending a Brazilian dermatology clinic. **Intervirol**, v. 50, n. 4, p. 316-318, 2007.

OLBRICH NETO, J.; MEIRA, D. A. Soroprevalence of HTLV-I/II, HIV, siphylis and toxoplasmosis among pregnant women seen at Botucatu - São Paulo - Brazil: risk factors for HTLV-I/II infection. **Rev Soc Bras Med Trop**, Brazil, v. 37, n. 1, p. 28-32, Jan-Feb. 2004.

OLIVEIRA, S. R.; AVELINO, M. M. Human T-cell lymphotropic virus type I seroprevalence among pregnant women in Goiânia, GO, Brazil. **Rev Bras Ginecol Obstet**, Brazil, v. 28, n. 8, p. 467-472, 2006.

ONO, A.; MOCHIZUKI, M.; YAMAGUCHI, K.; MIYATA, N.; WATANABE, T. Increased number of circulating HTLV-1 infected cells in peripheral blood mononuclear cells of HTLV-1 uveitis patients: a quantitative polymerase chain reaction study. **Br J Ophthalmol**, United Kingdom, v. 79, n. 3 p. 270-276, Mar. 1995.

PARKER, S. P.; TAYLOR, M. B.; ADES, A. E.; CUBITT, W. D.; PECKHAM, C. Use of dried blood spots for the detection and confirmation of HTLV-I specific antibodies for epidemiological purposes. **J Clin Pathol**, London, v. 48, n. 10, p. 904-907, Oct 1995.

PETERS, A. A.; OGER, J. J.; COULTHART, M. B.; WATERS, D. J.; CUMMINGS, H. J.; DEKABAN, G. A. An apparent case of human T-cell lymphotropic virus type II (HTLV-II)-associated neurological disease: a clinical, molecular, and phylogenetic characterisation. **J Clin Virol**, v. 14, n. 1, p. 37-50, Sep. 1999.

PEZESHKPOOR F.; YAZDANPANA M. J.; SHIRDEL A. Specific cutaneous manifestations in adult T-cell leukemia/lymphoma. **Int J Dermatol**, USA, v. 47, n. 4, p. 359-362, Apr. 2008.

REGO F. F.; ALCANTARA L. C.; MOURA NETO J.P.; MIRANDA A. C.; PEREIRA ODE S.; GONÇALVES MDE S.; GALVÃO-CASTRO B. HTLV type 1 molecular study in Brazilian villages with African characteristics giving support to the post-Columbian introduction hypothesis. **AIDS Res Hum Retroviruses**, USA, v. 24, n. 5, p. 673-677, May 2008.

RICHTER, J.; SCHWARZ, U.; DUWE, S.; ELLERBROK, H.; POGGENSEE, G.; PAULI, G. Recurrent strongyloidiasis as an indicator of HTLV-1 infection. **Dtsch Med Wochenschr**, German, v. 130, n. 16, p. 1007-1010, Apr. 2005.

SANTOS, F. L. N.; LIMA, F. W. M. Epidemiology, physiopathogenesis and laboratorial diagnosis of the HTLV-I infection. **J. Bras. Patol. Med. Lab**, Brazil, v. 41, n. 2, Apr. 2005.

SANTOS, T DE J.; COSTA, C. M.; GOUBAU, P.; VANDAMME, A. M.; DESMYTER, J.; VAN DOREN, S.; MOTA, R. M.; DE CASTRO COSTA, F. B.; OLIVEIRA, A. C.; BARRETO, V.; GOMES, A. F.; CARNEIRO-PROIETTI, A. B.; DE BRUIN V. M.; DE SOUSA, F. C.; ORIÁ, R. B. Western blot seroindeterminate individuals for human T-lymphotropic virus I/II (HTLV-I/II) in Fortaleza (Brazil): a serological and molecular diagnostic and epidemiological approach. **Braz J Infect Dis**, Brazil, v. 7, n. 3, p. 202-209, Jun. 2003.

SATOH, M.; KIYUNA, S.; SHIROMA, Y.; TOMA, H.; KOKAZE, A.; SATO, Y. Predictive markers for development of strongyloidiasis in patients infected with both *Strongyloides stercoralis* and HTLV-1. **Clin Exp Immunol**, London, v. 133, n. 3, p. 391-396, Sep. 2003.

SATOH, M.; TOMA, H.; SATO, Y.; TAKARA, M.; SHIROMA, Y.; KIYUNA, S.; HIRAYAMA, K. Reduced efficacy of treatment of strongyloidiasis in HTLV-I carriers related

to enhanced expression of IFN- γ and TGF- β 1. **Clin Exp Immunol**, London, v. 127, n. 2, p. 354-359, Feb. 2002.

SEGURADO, A. A.; BIASUTTI, C.; ZEIGLER, R.; RODRIGUES, C.; DAMAS, C. D.; JORGE, M. L.; MARCHIORI, P. E. Identification of Human T-lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) Subtypes Using Restricted Fragment Length Polymorphism in a Cohort of Asymptomatic Carriers and Patients with HTLV-I-associated Myelopathy/tropical Spastic Paraparesis from São Paulo, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Brazil, v. 97, n. 3, p. 329-333, Apr. 2002.

SOARES, R. M. G.; MORAES JUNIOR, H. V. Ocular manifestations observed in HTLV-I seropositive patients in Rio de Janeiro. **Arq. Bras. Oftalmol**, Brazil, v. 63, n. 4, p. 293-298, Aug. 2000.

STUVER, S. O.; TACHIBANA, N.; OKAYAMA, A.; SHIOIRI, S.; TSUNETOSHI, Y.; TSUDA, K.; MUELLER, N. E. Heterosexual transmission of human T cell leukemia/lymphoma virus type I among married couples in southwestern Japan: an initial report from the Miyazaki Cohort Study. **J Infect Dis**, USA, v. 167, n. 1, p. 57-65, Jan. 1993.

TAYLOR, G. P.; BODÉUS, M.; COURTOIS, F.; PAULI, G.; DEL MISTRO, A.; MACHUCA, A.; PADUA, E.; ANDERSSON, S.; GOUBAU, P.; CHIECO-BIANCHI, L.; SORIANO, V.; COSTE, J.; ADES, A. E.; WEBER, J. N. The seroepidemiology of human T-lymphotropic viruses: types I and II in Europe: a prospective study of pregnant women. **J Acquir Immune Defic Syndr**, USA, v. 38, n. 1, p. 104-109, Jan. 2005.

TERADA, K.; KATAMINE, S.; EGUCHI, K.; MORIUCHI, R.; KITA, M.; SHIMADA, H.; YAMASHITA, I.; IWATA, K.; TSUJI, Y.; NAGATAKI, S. et al. Prevalence of serum and salivary antibodies to HTLV-1 in Sjögren's syndrome. **Lancet**, v. 344, n. 8930, p. 1116-1119, Oct. 1994.

THORSTENSSON, R.; ALBERT, J.; ANDERSSON, S. Strategies for diagnosis of HTLV-I and II. **Transfusion**, USA, v. 42, n. 6, p. 780-791, Jun. 2002.

TRENCHI, A.; GASTALDELLO, R.; BALANGERO, M.; IRIZAR, M.; CUDOLÁ, A.; GALLEGRO, S. Retrospective study of the prevalence of human T-cell lymphotropic virus-type 1/2, HIV, and HBV in pregnant women in Argentina. **J Med Virol**, v. 79, n. 12, p. 1974-1978, Dec. 2007.

URETA-VIDAL, A.; ANGELIN-DUCLOS, C.; TORTEVOYE, P.; MURPHY, E.; LEPÈRE, J. F.; BUIGUES, R. P.; JOLLY, N.; JOUBERT, M.; CARLES, G.; POULIQUEN, J. F.; DE THÉ, G.; MOREAU, J. P.; GESSAIN, A. Mother-to-child transmission of human T-cell-leukemia/lymphoma virus type I: implication of high antiviral antibody titer and high proviral load in carrier mothers. **Int J Cancer**, v. 82, n. 6, p. 832-836, Sep. 1999.

VANDAMME, A. M.; BERTAZZONI, U.; SALEMI, M. Evolutionary strategies of human T-cell lymphotropic virus type II. **Gene**, v. 261, n. 1, p. 171-180, Dec. 2000.

VERONESI, R.; NEITZERT, E.; MIYASHIRO, J.; AMBROSANO, E. A.; SANTOS, O. Investigation on the prevalence of HTLV-I retroviral infections in Okinawa communities that

emigrated to Brazil more than half century ago: preliminary report. **RBM Rev. Bras. Med**, Brazil, v. 52, n. 4, p. 265-268, Abr. 1995.

YAKOVA, M.; LÉZIN, A.; DANTIN, F.; LAGATHU, G.; OLINDO, S.; JEAN-BAPTISTE, G.; ARFI, S.; CÉSAIRE, R. Increased proviral load in HTLV-1-infected patients with rheumatoid arthritis or connective tissue disease. **Retrovirology**, v. 2, n. 4, Feb. 2005.

YAMAMOTO B.; LI M.; KESIC M.; YOUNIS I.; LAIRMORE M. D.; GREEN P. L. Human T-cell leukemia virus type 2 post-transcriptional control protein p28 is required for viral infectivity and persistence in vivo. **Retrovirology**, v. 5, p. 38, May. 2008.

YAO, K.; HISADA, M.; MALONEY, E.; YAMANO, Y.; HANCHARD, B.; WILKS, R.; RIOS, M.; JACOBSON, S. Human T lymphotropic virus types I and II western blot seroindeterminate status and its association with exposure to prototype HTLV-I. **J Infect Dis**, USA, v. 193, n. 3, p. 427-437, Feb. 2006.

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 U S A**, USA, v. 79, n. 6, p. 2031-2035, Mar. 1982.

YOSHINAGA, M.; YASHIKI, S.; OKI, T.; FUJIYOSHI, T.; NAGATA, Y.; SONODA, S. A maternal risk factor for mother-to-child HTLV-I transmission: viral antigen-producing capacities in culture of peripheral blood and breast milk cells. **Jpn J Cancer Res**, Japan, v. 86, n. 7, p. 649-654, Jul. 1995.

WOLFE, N. D.; HENEINE, W.; CARR, J. K.; GARCIA, A. D.; SHANMUGAM, V.; TAMOUFE, U.; TORIMIRO, J. N.; PROSSER, A. T.; LEBRETON, M.; MPOUDI-NGOLE, E.; MCCUTCHAN, F. E.; BIRX, D. L.; FOLKS, T. M.; BURKE, D. S.; SWITZER, W. M. Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. **Proc Natl Acad Sci U S A**, USA, v. 102, n. 22, p. 7994-7999, May. 2005.

ANEXOS

Anexo – PREVALÊNCIA E DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA INFECÇÃO PELO VÍRUS HTLV EM GESTANTES DE MATO GROSSO DO SUL, NO PERÍODO DE 2002 A 2006.

PREVALENCE AND LABORATORIAL DIAGNOSIS OF HTLV VIRUS INFECCION IN PREGNANT WOMEN IN MATO GROSSO DO SUL BETWEEN 2002 AND 2006.

Patrícia Cardoso Portela¹, Carlos Alberto Bezerra Tomaz², Rivaldo Venâncio da Cunha^{1,3}.

1. Instituto de Pesquisas, Ensino e Diagnósticos, Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais de Campo Grande, Campo Grande, MS. 2. Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, DF. 3. Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.

Endereço para correspondência: Patrícia Cardoso Portela. R. Spipe Calarge, 1575, Bloco B, Ap. 4. 79052-900. Campo Grande, MS.

Tel: 55 67 3306-0483/9287-8746; Fax: 55 67 3348-7800

e-mail: patricia@ipedapae.org.br

RESUMO

O Programa Estadual de Proteção à Gestante de Mato Grosso do Sul fez a triagem para a infecção pelo HTLV1-2 em 155.807 gestantes entre 2002 e 2006, através da técnica de ELISA em papel filtro. Destas, 0,13% confirmaram a infecção no soro pelo ELISA e Western Blot. Foram encontrados 13,1% de casos indeterminados, 76,6% de HTLV-1, 9,7% de HTLV-2 e 1 caso (0,4%) de infecção mista. No teste de Western Blot, 54,0% apresentaram 11 bandas presentes (4 ENV e 7 GAG) sendo que, 72,9% correspondem ao HTLV-1, que apresentou uma reação mais intensa frente às proteínas utilizadas no teste. No HTLV-2, a combinação de maior frequência foi de 2 ENV com 1 GAG (33,3%). Os casos de HTLV indeterminados reagiram de maneira mais distribuída e mais fraca, onde 30,7% apresentaram apenas 2 bandas reagentes (0 ENV e 2 GAG, 2 ENV e 0 GAG e 1 ENV e 1 GAG).

Palavras chave: HTLV, Gestantes, Pré-Natal, Mato Grosso do Sul.

ABSTRACT

The Program for Pregnant Women Protection of Mato Grosso do Sul carried out the initial trial for the HTLV 1-2 infection, by the means of ELISA technique in filter paper, in 155.807 pregnant women between 2002 and 2006. Among these women, 0,13% had the infection

confirmed in serum by ELISA and Western Blot techniques. There were 13,1% of indeterminate cases found, 76,6% of HTLV-1, 9,7% of HTLV-2 and 1 case (0,4%) of mixed infection. In the Western Blot test, 54,0% of them showed 11 bands (4 ENV and 7 GAG) and thus 72,9% corresponding to HTLV-1, which had a more intense reaction to the proteins used in the test. For the HTLV-2 testing, the most frequent combination was the one composed by 2 ENV with 1 GAG (33,3%). The indeterminate cases of HTLV reacted in a more dispersive and weaker way whereas 30,7% showed only 2 reactive bands (0 ENV and 2 GAG, 2 ENV and 0 GAG, 1 ENV and 1 GAG).

Key words: HTLV, Pregnant women, Prenatal, Mato Grosso do Sul.

INTRODUÇÃO

O HTLV 1-2 (Vírus Linfotrópico de Células T Humanas) é um retrovírus que tem como característica a afinidade por linfócitos T. O HTLV-1 é endêmico em algumas partes do mundo como o sul do Japão, Ilhas do Caribe, África, sul da Itália, Taiwan, Estados Unidos e parte da América do Sul¹ e infecta de 15 a 20 milhões de pessoas no mundo^{12,14}. Alguns autores ainda citam a América Central, Oriente Médio e Melanésia como regiões endêmicas^{11,15}. O Brasil pode ser o país com maior número de casos absolutos de HTLV-1, com cerca de 2,5 milhões de pessoas infectadas^{5,16}.

O HTLV-2 é encontrado em duas populações distintas: usuários de drogas injetáveis, que muitas vezes são co-infectados com o HIV-1, e tribos indígenas isoladas da América do Norte, América Central e de algumas regiões da América do Sul^{18,21,22}. Está presente também no Brasil, sendo significativa a sua prevalência entre populações indígenas brasileiras⁵.

Uma pequena percentagem da população infectada pelo HTLV-1 desenvolve doença (2% a 4%), podendo levar ao óbito em apenas 6 meses como no caso da LLTA (leucemia/ linfoma de células T do adulto) na sua forma linfomatosa. Além disso, pode causar uma doença incapacitante, que leva o paciente a sentir muita dor, a paraparesia espástica tropical ou mielopatia associada ao HTLV (PET/MAH). Algumas síndromes inflamatórias também estão associadas a este tipo viral.

O HTLV-2 não está claramente relacionado ao desenvolvimento de alterações hematológicas. Alguns autores descreveram o aparecimento de linfomas em portadores do tipo 2. Em contrapartida, o vírus tem sido relacionado com o desenvolvimento de sintomas neurológicos e infecções bacterianas e fúngicas¹⁰.

No Brasil, a triagem da infecção pelo HTLV 1-2 em banco de sangue passou a ser obrigatória através da Portaria 1376, de 19 de novembro de 1993 e, desde dezembro do mesmo ano, vem

sendo utilizada como forma de evitar a transmissão do vírus a partir de transfusões sanguíneas. A África, que é considerada o maior reservatório do HTLV-1, não possui um serviço de triagem em doadores de sangue para o HTLV, devido ao alto custo dos testes diagnósticos²³.

O Instituto de Pesquisas, Ensino e Diagnósticos da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (IPED-APAE), situado em Campo Grande (MS), vem desenvolvendo juntamente com a Secretaria de Estado de Saúde, um trabalho de diagnóstico e prevenção com as gestantes de Mato Grosso do Sul. O Programa Estadual de Proteção à Gestante (PEPG) iniciou em novembro de 2002 com a Resolução 459 SES/ MS. No início, a cobertura do Programa estava em 60,8%, enquanto que, ao final de 2006, 98,5% das gestantes do Estado foram atendidas pelo PEPG-MS.

Através da triagem em papel filtro, são diagnosticadas as gestantes portadoras das seguintes infecções: toxoplasmose, citomegalovírus, rubéola, sífilis, chagas, hepatite B, hepatite C, HTLV 1-2, HIV 1-2, e clamídia. Também é realizado o diagnóstico de fenilcetonúria materna e hipotireoidismo. Toda suspeita de infecção no papel filtro é posteriormente confirmada em soro, e as gestantes diagnosticadas com algumas dessas doenças são acompanhadas por médicos especializados no IPED-APAE, assim como seus bebês. Os objetivos deste programa são o diagnóstico precoce e a prevenção da transmissão vertical, tanto do HTLV, como das demais doenças.

Qualquer análise feita a partir do sangue total, soro ou plasma, também pode ser realizada através da técnica em papel filtro. Diversas patologias já foram testadas por este método, entre elas a infecção por HTLV¹³.

Ainda há muito que se conhecer sobre a infecção pelo HTLV. Com o objetivo de entender melhor o comportamento do HTLV frente aos testes laboratoriais foi desenvolvido este estudo.

MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras em sangue seco foram obtidas através de punção digital, e distribuídas em seis discos de papel filtro S&S 903. As coletas foram realizadas nas unidades de saúde dos municípios de Mato Grosso do sul, e após secagem, foram enviadas ao IPED-APAE pelo correio. Inicialmente foi realizado o teste de ELISA em papel filtro, para detecção de anticorpos anti-HTLV 1 e 2. As gestantes “alteradas” foram reconvocadas a coletar soro, para confirmação do resultado. As amostras para confirmação da triagem foram obtidas por punção venosa periférica, e enviadas ao laboratório devidamente acondicionadas. A partir daí, foi repetido o teste de ELISA (Murex HTLV I+II, Murex Biotech Limited., Reino Unido) e

realizados os testes de Western Blot (HTLV Blot 2.4, Genelabs Diagnostics, Singapore) e PCR, este último, somente se necessário. Todos os dados laboratoriais foram transcritos para as fichas de gestantes e posteriormente armazenados no Sistema Gerenciador do Programa Estadual de Proteção à Gestante, existente desde janeiro de 2004. Após a liberação do laudo, dados referentes às gestantes foram armazenados em prontuários médicos. O sistema gerou uma planilha no formato .xls com os dados das gestantes com resultado diferente de “não reagente”, que foi analisada juntamente com os dados de novembro de 2002 a dezembro de 2003, onde não se usava este sistema gerenciador e os resultados eram digitados no Excel. Todos os exames foram realizados rotineiramente na triagem das gestantes que participaram do PEPG-MS durante o período do estudo.

Critério de Inclusão: O universo amostral correspondeu ao total de gestantes que apresentaram resultados alterados em papel filtro (reagente, indeterminado ou solicitação em nova amostra) através da técnica de ELISA.

Critério de Exclusão: Foram excluídas as amostras “não reagentes” em papel filtro através da técnica de ELISA, e aquelas que apresentaram quantidade insuficiente de sangue para realização do exame.

Para a realização do estudo, foram utilizadas as fichas de gestantes e prontuários médicos padronizados pelo IPED-APAE para registros dos dados, assim como consultas no Sistema Gerenciador do Programa Estadual de Proteção à Gestante. A pesquisa só foi realizada após a autorização do presidente da APAE de Campo Grande, da superintendência do IPED-APAE e do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (CEP-UFMS).

RESULTADOS

No período de novembro de 2002 a dezembro de 2006, 155.807 gestantes foram triadas para diversas doenças pelo Programa Estadual de Proteção à Gestante de Mato Grosso do Sul. Destas, 265 apresentaram resultado alterado (reagente, indeterminado ou “repetição em nova amostra”) para a infecção pelo HTLV 1-2.

Dos 265 casos alterados através da técnica em papel filtro, 224 (84,5%) recoletaram soro e sangue total para realizar a confirmação através da técnica de ELISA e Western Blot e/ou PCR. Dos 41 casos que não fizeram a coleta, 80,5% são de gestantes não localizadas, 7,3% são de “repetição em nova amostra”, ou seja, casos em que precisaria de uma nova amostra para a confirmação do resultado, e 12,2% são de casos em que não foi possível ter acesso aos dados laboratoriais.

Para o cálculo da prevalência da infecção por HTLV 1-2 em gestantes de Mato Grosso do Sul, foram utilizados os 206 casos confirmados no período, em relação aos 155.807 triados pelo Programa. A taxa encontrada foi de 0,13% com um erro de estimação de 0,02% e 95% de confiabilidade.

Os testes utilizados na etapa de confirmação (soro) dos casos alterados em papel filtro seguem na Tabela 1.

Tabela 1 – Exames utilizados na fase confirmatória do Programa Estadual de Proteção à Gestante de MS (PEPG), no período de novembro 2002 a dezembro 2006.

	Quantidade	Percentual
ELISA + PCR	84	37,5%
ELISA + BLOT	113	50,4%
ELISA + PCR + BLOT	27	12,1%
TOTAL	224	100,0%

No período em que se utilizou o PCR e Western Blot como exames confirmatórios (27 casos), 4 casos foram indeterminados no Western Blot e negativos no PCR, 1 caso foi indeterminado no W. Blot e confirmou como sendo do tipo 1 no PCR e 1 caso foi indeterminado no PCR e positivo no W. Blot (Tipo 1).

Os tipos de HTLV encontrados entre as gestantes de Mato Grosso do Sul podem ser visualizados na Tabela 2 e na figura 1. Para esta análise, foram considerados apenas os casos confirmados (206).

Tabela 2 – Tipos de HTLV encontrados nas gestantes de Mato Grosso do Sul, através do PEPG-MS, no período de novembro 2002 a dezembro 2006.

	Quantidade	Percentual
Tipo 1	158	76,6%
Tipo 2	20	9,7%
Indeterminado	27	13,1%
Tipo 1 e 2	1	0,4%
Total	206	100,0%

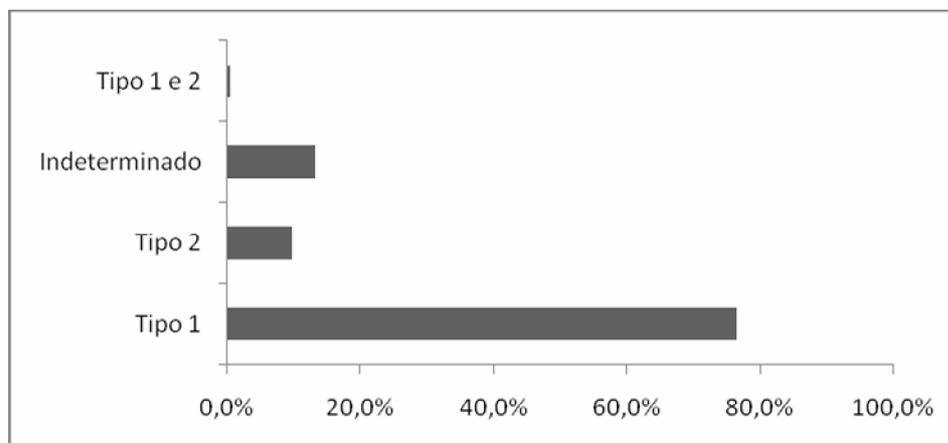


Figura 1 – Tipos de HTLV encontrados nas gestantes de Mato Grosso do Sul, através do PEPG-MS, no período de novembro 2002 a dezembro 2006.

Foi realizada uma comparação entre os tipos de HTLV diagnosticados pelo Western Blot e as proteínas detectadas no teste. Através da Tabela 3, podem-se observar todas as possíveis combinações entre a quantidade de proteínas centrais, chamadas de “GAG” (p19, p24, p26, p28, p32, p36, p53) e a quantidade de proteínas do envelope, conhecidas como “ENV” (GD21, gp21, gp46, rgp46-I e rgp46-II) presentes nas amostras.

Tabela 3 - Possíveis combinações entre a quantidade de proteínas do tipo “GAG” e a quantidade de proteínas do tipo “ENV” encontradas no teste de Western Blot, através do PEPG-MS, no período de novembro 2002 a dezembro 2006.

Proteínas - GAG	Proteínas – ENV						Total
	0	1	2	3	4	5	
0	0	1	3	0	0	0	4
1	3	5	4	2	0	0	14
2	1	1	6	2	1	0	11
3	0	0	7	1	0	0	8
4	0	1	0	0	1	0	2
5	0	0	1	2	2	0	5
6	0	0	1	7	1	0	9
7	0	0	1	7	73	1	82
Total	4	8	23	21	78	1	135

A combinação de maior frequência dentre as proteínas “GAG” e “ENV” foram de quatro proteínas “ENV” com sete proteínas “GAG”, totalizando 73 casos dentre 135, ou seja, um total de 54,0%.

Nesta parte do estudo foram cruzados os tipos virais, com as quantidades de proteínas GAG e ENV. Com relação ao “Tipo – 1”, 72,9% apresentaram uma combinação de seis proteínas GAG, e quatro proteínas ENV, conforme Tabela 4:

Tabela 4 – Tipos de proteínas encontradas no Western Blot (GAG ou ENV) em relação ao HTLV-1 (PEPG-MS - novembro 2002 a dezembro 2006).

Proteínas - GAG	Proteínas - ENV				Total
	0	2	3	4	
0	0	0	0	0	0
1	0	0	1	0	1
2	0	0	2	1	3
3	0	1	1	0	2
5	0	1	2	2	5
6	0	0	7	1	8
7	0	1	6	70	77
Total	0	3	19	74	96

Com relação aos casos diagnosticados como “Tipo 2” (12), a combinação que teve maior frequência foi de duas proteínas ENV com uma GAG, representando 33,3% do total (Tabela 5).

Tabela 5 – Tipos de proteínas encontradas no Western Blot (GAG ou ENV) em relação ao HTLV-2 (PEPG-MS - novembro 2002 a dezembro 2006).

Proteínas - GAG	Proteínas - ENV		Total
	2	4	
1	4	0	4
2	3	0	3
3	3	0	3
4	0	1	1
7	0	1	1
Total	10	2	12

Nos casos indeterminados (26), observou-se uma heterogeneidade de combinações das proteínas do Western Blot, sendo apresentados os resultados na Tabela 6:

Tabela 6 – Tipos de proteínas encontradas no Western Blot (GAG ou ENV) em relação ao HTLV INDETERMINADO (PEPG-MS - novembro 2002 a dezembro 2006).

Proteínas - GAG	Proteínas – ENV					Total
	0	1	2	3	4	
0	---	2	3	0	0	5
1	3	4	0	1	0	8
2	1	1	4	0	0	6
3	0	1	2	0	0	3
5	0	0	1	0	0	1
6	0	0	0	1	2	2
Total	4	8	10	2	2	26

A Tabela 7 relaciona a quantidade de bandas encontradas no Western Blot em relação aos tipos de HTLV. Os resultados podem ser melhores visualizados na figura 2.

Tabela 7 – Quantidade de bandas encontradas no Western Blot em relação aos tipos de HTLV (PEPG-MS - novembro 2002 a dezembro 2006).

Bandas	Tipo – 1		Tipo – 2		Indeterminado	
	Qtd	%	Qtd	%	Qtd	%
1	0	0,0%	0	0,0%	5	19,2%
2	0	0,0%	0	0,0%	8	30,7%
3	0	0,0%	4	33,3%	1	3,8%
4	1	1,0%	3	25,0%	6	23,0%
5	3	3,1%	3	25,0%	2	7,6%
6	2	2,0%	0	0,0%	0	0,0%
7	1	1,0%	0	0,0%	1	3,8%
8	2	2,0%	1	8,3%	0	0,0%
9	10	10,4%	0	0,0%	1	3,8%
10	7	7,2%	0	0,0%	2	7,6%
11	70	72,9%	1	8,3%	0	0,0%
Total	96	100,0%	12	100,0%	26	100,0%

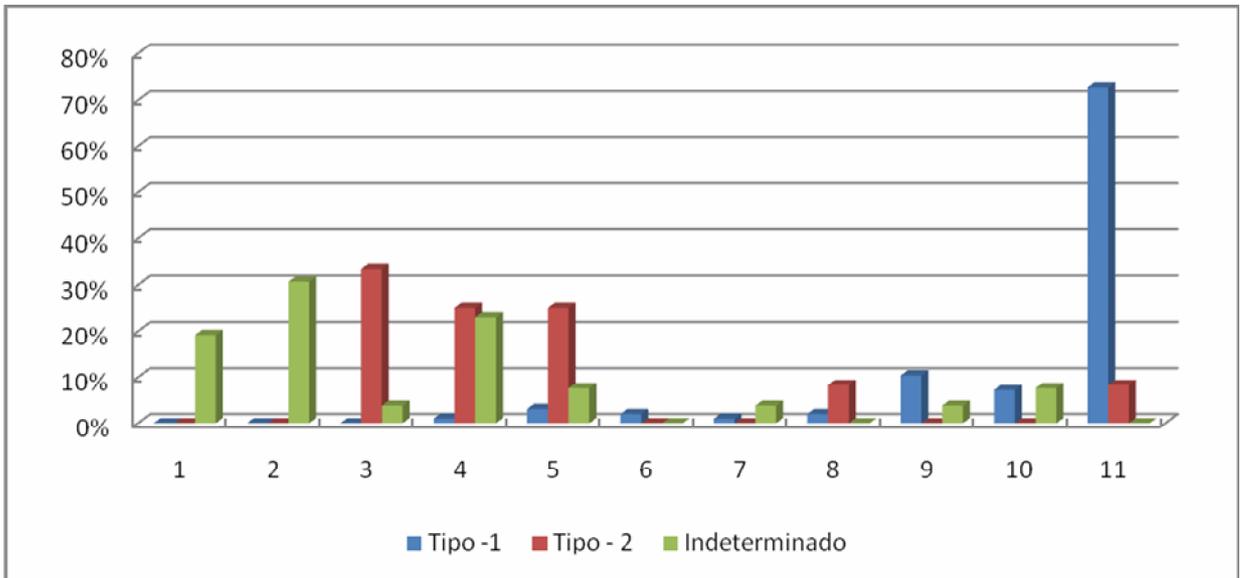


Figura 2 – Quantidade de bandas encontradas no Western Blot em relação aos tipos de HTLV (PEPG-MS - novembro 2002 a dezembro 2006).

DISCUSSÃO

A taxa de prevalência de HTLV 1-2 encontrada entre as gestantes de Mato Grosso do Sul foi de 0,13%, que condiz com aquela demonstrada por Dal Fabbro na mesma população⁶, é menor do que em doadores de sangue deste mesmo estado, onde se observou 0,17% de positividade⁹. Já em comparação com as gestantes dos países europeus²⁰, a prevalência encontrada em Mato Grosso do Sul é maior.

A prevalência em gestantes de MS é menor que em Córdoba, na Argentina (0,191%), e que no Peru², onde se observou 1,2-2,2%. Em comparação com a prevalência encontrada em Fortaleza, de 0,12%⁴, Mato Grosso do Sul apresentou uma taxa muito próxima.

Em comparação a outros países, com exceção dos europeus, e ao próprio Brasil, Mato Grosso do Sul apresenta uma baixa prevalência para o HTLV 1-2, mas não menos importante.

Três tipos de testes foram utilizados na fase confirmatória dos casos alterados em papel filtro: o ELISA, que foi utilizado tanto na etapa de triagem quanto na confirmatória, o Western Blot e o PCR. No início do PEPG-MS, utilizou-se o PCR como teste confirmatório. Após certo período, o teste de Western Blot passou a ser o exame de escolha na confirmação do diagnóstico pelo HTLV 1-2.

Assim como em gestantes de Salvador³ e Goiânia¹⁷, o tipo predominante de HTLV em Mato Grosso do Sul foi o tipo 1, o contrário do observado em gestantes da Espanha, que de 13 casos confirmados, 11 foram reagentes para HTLV-2 e 2 para HTLV-1, e na Bélgica que de 4 casos, 3 foram confirmados para o tipo 2²⁰.

Neste estudo, apenas 13,1% dos casos foram diagnosticados como indeterminado, enquanto em Fortaleza, 118 dos 191 casos em doadores de sangue foram indeterminados¹⁹. Segundo os autores, existe uma relação entre o resultado de Western Blot e o sexo: os casos positivos estão ligados ao sexo feminino e casos indeterminados estão ligados ao masculino. Isto explica a baixa taxa de casos indeterminados no presente estudo.

O caso de infecção mista pelo HTLV, provavelmente só pode ser demonstrado em um estudo com uma amostra grande como este, por se tratar de um caso raro.

Em relação aos resultados do Western Blot houve uma reação mais intensa do HTLV “Tipo 1”, onde 72,9% dos casos apresentaram onze bandas reagentes, o que significa todas as bandas presentes. Quanto ao HTLV “Tipo 2”, os resultados encontrados foram: maior frequência de três bandas (33,3%), seguido de quatro e cinco bandas, com respectivos percentuais de 25,0%, refletindo uma reação mais fraca e variada às proteínas virais.

Nos casos indeterminados, observou-se uma variedade ainda maior das proteínas virais reativas ao W. Blot sendo que, o maior percentual encontrado foi de duas bandas reagentes (30,7%). No cruzamento das proteínas ENV e GAG foram encontrados: 0 ENV e 2 GAG, 2 ENV e 0 GAG e 1 ENV e 1 GAG. O caso encontrado de HTLV 1-2 apresentou 12 bandas presentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abbaszadegan MR, Gholamin M, Tabatabaee, A, Farid R, Houshmand M, Abbaszadegan M. Prevalence of Human T-Lymphotropic Virus Type 1 among Blood Donors from Mashhad, Iran. *J. Clin. Microbiol*, 41:2593-2595, 2003.
2. Alarcón JO, Friedman HB, Montano M, Zunt JR, Holmes KK, Quinnan GV Jr. High endemicity of human T-cell lymphotropic virus type 1 among pregnant women in Peru. *J Acquir Immune Defic Syndr* 42:604-609, 2006.
3. Bittencourt AL, Dourado I, Filho PB, Santos M, Valadão E, Alcantara LC, Galvão-Castro B. Human T-cell lymphotropic virus type 1 infection among pregnant women in northeastern Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr* 26:490-494, 2001.
4. Broutet N, de Queiroz Sousa A, Basilio FP, Sá HL, Simon F, Dabis F. Prevalence of HIV-1, HIV-2 and HTLV antibody, in Fortaleza, Ceara, Brazil, 1993-1994. *Int J STD AIDS* 7:365-369, 1996.
5. Carneiro-Proietti AB, Ribas JG, Catalan-Soares BC, Martins ML, Brito-Melo GE, Martins-Filho OA, Pinheiro SR, Araújo Ade Q, Galvão-Castro B, de Oliveira MS, Guedes AC, Proietti FA. Infection and disease caused by the human T cell lymphotropic viruses type I and II in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*, Belo Horizonte, Brazil, v. 35, n. 5, p. 499-508, Sep-Oct. 2002.

6. Dal Fabbro MM, Cunha RV, Bóia MN, Portela P, Botelho CA, Freitas GM, Soares J, Ferri J, Lupion J. HTLV 1/2 infection: prenatal performance as a disease control strategy in State of Mato Grosso do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop*, 41:148-151, 2008.
7. Freitas GMB. Estudo Clínico e Epidemiológico da Infecção pelos Vírus Linfotrópicos de Células-T Humanas (HTLV I/ II) em Doadores de Sangue de Campo Grande-MS (1994 a 2001). Dissertação de Mestrado, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, 2002.
8. Gabet AS, Moulés V, Sibon D, Nass CC, Mortreux F, Mauclère P, Gessain A, Murphy EL, Wattel E. Endemic versus epidemic viral spreads display distinct patterns of HTLV-2b replication. *Virology* 345:13-21, 2006.
9. Genelabs Diagnostics. HTLV Blot 2.4. Western Blot Assay – For detection and identification of IgG antibodies to Human T-Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) and Type II (HTLV-II). MP Biomedicals Asia Pacific Pte Ltd, Singapore.
10. Levine PH, Lattner WA. The epidemiology of diseases associated with HTLV I and HTLV II. *Infect Dis Clin North Am* 1:501-510, 1987.
11. Mahieux R, Gessain A. The human HTLV-3 and HTLV-4 retroviruses: New members of the HTLV family. *Pathol Biol*, 2008.
12. Mei JV, Alexander JR, Adam BW, Hannon WH. Use of Filter Paper for the Collection and Analysis of Human Whole Blood Specimens. *J Nutr* 131:1631-1636, 2001.
13. Moxoto I, Boa-Sorte N, Nunes C, Mota A, Dumas A, Dourado I, Galvão-Castro B. Sociodemographic, epidemiological and behavioral profile of women infected with HTLV-1 in Salvador, Bahia, an endemic area for HTLV. *Rev Soc Bras Med Trop* 40:37-41, 2007.
14. Mueller N, Okayama A, Stuver S, Tachibana N. Findings from the Miyazaki Cohort Study. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 13:S2-S7, 1996.
15. Murex Biotech Limited. Murex HTLV I+II. Ensaioimunoenzimático qualitativo para a detecção de anticorpos contra o vírus T-linfotrópico humano, tipos I e II (HTLV-I e HTLV-II) em soro ou plasma humano. Dartford Kent England DA1 5LR, United Kingdom.
16. Nobre V, Guedes AC, Proietti FA, Martins ML, Nassif G, Serufo JC, Lambertucci JR, GIPH (HTLV-1/2Research Interdisciplinary Group). Increased prevalence of human T cell lymphotropic virus type 1 in patients attending a Brazilian dermatology clinic. *Intervirology* 50:316-318, 2007.
17. Oliveira SR, Avelino MM. Human T-cell lymphotropic virus type I seroprevalence among pregnant women in Goiânia, GO, Brazil. *Rev Bras Ginecol Obstet* 28:467-472, 2006.

18. Peters AA, Oger JJ, Coulthart MB, Waters DJ, Cummings HJ, Dekaban GA. An apparent case of human T-cell lymphotropic virus type II (HTLV-II)-associated neurological disease: a clinical, molecular, and phylogenetic characterisation. *J Clin Virol* 14:37-50, 1999.
19. Santos T de J, Costa CM, Goubau P, Vandamme AM, Desmyter J, Van Doren S, Mota RM, de Castro Costa FB, Oliveira AC, Barreto V, Gomes AF, Carneiro-Proietti AB, de Bruin VM, de Sousa FC, Oriá RB. Western blot seroindeterminate individuals for human T-lymphotropic virus I/II (HTLV-I/II) in Fortaleza (Brazil): a serological and molecular diagnostic and epidemiological approach. *Braz J Infect Dis, Fortaleza, Brazil*, v. 7, n. 3, p. 202-209, Jun. 2003.
20. Taylor GP, Bodéus M, Courtois F, Pauli G, Del Mistro A, Machuca A, Padua E, Andersson S, Goubau P, Chieco-Bianchi L, Soriano V, Coste J, Ades AE, Weber JN. The seroepidemiology of human T-lymphotropic viruses: types I and II in Europe: a prospective study of pregnant women. *J Acquir Immune Defic Syndr* 38:104-109, 2005.
21. Thorstensson R, Albert J, Andersson S. Strategies for diagnosis of HTLV-I and II. *Transfusion* 42:780-791, 2002.
22. Vandamme AM, Bertazzoni U, Salemi M. Evolutionary strategies of human T-cell lymphotropic virus type II. *Gene* 261:171-180, 2000.
23. Yao K, Hisada M, Maloney E, Yamano Y, Hanchard B, Wilks R, Rios M, Jacobson S. Human T lymphotropic virus types I and II western blot seroindeterminate status and its association with exposure to prototype HTLV-I. *J Infect Dis*, 193:427-437, 2006.

Anexo - **TERMO DE COMPROMISSO PARA UTILIZAÇÃO DE INFORMAÇÕES DE BANCO DE DADOS**

Título da Pesquisa: “Prevalência e Diagnóstico Laboratorial da Infecção pelo Vírus HTLV em Gestantes de Mato Grosso do Sul, no período de 2002 a 2006”.

Nome do Pesquisador: Patrícia Cardoso Portela.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Bezerra Tomaz.

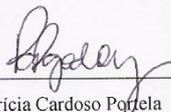
Base de dados a serem utilizados:

Base de dados do Programa Estadual de Proteção à Gestante de Mato Grosso do Sul / Instituto de Pesquisas, Ensino e Diagnóstico da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais de Campo Grande.

Como Coordenadora da pesquisa acima referida comprometo-me com a utilização das informações contidas na base de dados acima citada, protegendo a imagem das pessoas envolvidas e a sua não estigmatização, garantindo a não utilização das informações em seu prejuízo ou das comunidades envolvidas, inclusive em termos de auto-estima, de prestígio e/ou econômico-financeiro.

Declaro ainda que estou ciente da necessidade de respeito à privacidade das pessoas envolvidas em conformidade com os dispostos legais citados¹ e que os dados destas bases serão utilizados somente neste projeto, pelo qual se vinculam. Todo e qualquer outro uso que venha a ser necessário ou planejado, deverá ser objeto de novo projeto de pesquisa e que deverá, por sua vez, sofrer o trâmite legal institucional para o fim a que se destina.

Por ser esta a legítima expressão da verdade, firmo o presente Termo de Compromisso.



Patrícia Cardoso Portela

¹ Constituição Federal Brasileira (1988) – art. 5º, incisos X e XIV; Código Civil – arts. 20-21; Código Penal – arts. 153-154; Código de Processo Civil – arts. 347, 363, 406; Código Defesa do Consumidor – arts. 43- 44; Medida Provisória – 2.200 – 2, de 24 de agosto de 2001; Resoluções da ANS (Lei nº 9.961 de 28/01/2000) em particular a RN nº 21

Anexo – CARTA DE APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL



Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Comitê de Ética em Pesquisa /CEP/UFMS



Carta de Aprovação

A minha assinatura neste documento, atesta que o protocolo nº 1050 da Pesquisadora Patrícia Cardoso Portela intitulado “Diagnóstico laboratorial da infecção pelo Vírus HTLV em Gestantes de Mato Grosso do Sul, no período de 2002 a 2006”, foi revisado por este comitê e aprovado em reunião ordinária no dia 20 de dezembro de 2007, encontrando-se de acordo com as resoluções normativas do Ministério da Saúde.

Prof. Odair Pimentel Martins

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS

Campo Grande, 20 de dezembro de 2007.

Comitê de Ética da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
<http://www.propp.ufms.br/bioetica/cep/>
bioetica@propp.ufms.br
fone 0XX67 345-7187

Anexo – PROCEDIMENTOS PARA A COLETA DE AMOSTRA DE SANGUE EM PAPEL FILTRO – PROGRAMA DE PROTEÇÃO À GESTANTE DE MATO GROSSO DO SUL.

Exame Pré-Natal

Procedimentos para a coleta de amostra de sangue e manuseio



1) Equipamento: Lanceta estéril com ponta de aproximadamente 2,0 mm, álcool preparado estéril, gaze estéril, pano macio, formulário para coleta de sangue, luvas.



2) Preencha TODAS as informações. Para evitar a contaminação dos círculos do papel-filtro, não permita que eles entrem em contato com fluidos e não os toque antes ou depois da coleta de sangue. Guarde a "CONTROLE DO PACIENTE", solicite a assinatura da paciente na autorização no verso, é IMPRESCINDÍVEL...



3) Áreas indicadas para punção



4) Limpe o local com álcool SECANDO completamente.



5) Faça uma punção no dedo anelar da mão esquerda.



6) Encoste levemente o papel-filtro na gota GRANDE de sangue. Espere até que o sangue seja absorvido e preencha completamente o círculo com uma aplicação de uma ÚNICA gota GRANDE de sangue. (Para aumentar o fluxo de sangue, mantenha uma pressão SUAVE e intermitente na área próxima ao local da punção). Aplique o sangue somente em um lado do papel-filtro.



7) Preencha os filtros restantes da mesma forma como explicado na etapa 7, com gotas de sangue sucessivas. Se o fluxo de sangue diminuir, repita as etapas 5, 6 e 7. O cuidado com o local da punção deve ser consistente com os procedimentos da sua instituição.



8) Pode ser usado sangue coletado em via venosa por seringa e colocado posteriormente no papel-filtro para secagem.



9) Depois de seco por no mínimo 4 horas, enviar o formulário completo para o laboratório em até 24 horas após a coleta.

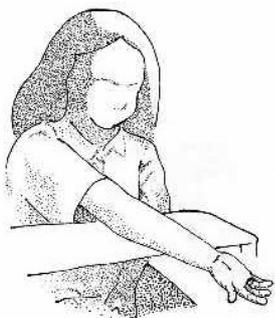


Instituto de Pesquisas, Ensino e Diagnósticos da APAE
Av. Mato Grosso, 861, Bairro Gal. Wolfgrand
Cap. 78002-231 - Campo Grande - MS
Fones: 67 317-4888 Fax: 67 317-4883
E-mail: ipd@ipdapae.org.br - Site: www.ipdapae.org.br

Anexo – PROCEDIMENTOS PARA A COLETA DE SANGUE PERIFÉRICO

1. Preencher a ficha de cadastro, de forma legível, com todos os dados solicitados, se possível com um número de telefone para futuros contatos, se necessário.

2. Encaminhar o paciente para a sala de coleta e orientar para que ele se posicione sentado e com o braço estendido. O braço do paciente deve ser posicionado em uma linha reta do ombro ao punho, de maneira que as veias fiquem mais acessíveis e o paciente o mais confortável possível. O cotovelo não deve estar dobrado e a palma da mão voltada para cima.

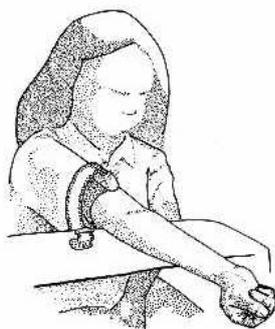


3. De acordo com os exames a serem realizados, a coletadora separa e identifica os tubos. Se o material a ser coletado for colocado em tubo com anticoagulante, o mesmo deve ser homogeneizado por inversão, no mínimo 5 vezes, para impedir a coagulação.

4. Colocar a agulha na seringa sem retirar a capa protetora. Não tocar na parte inferior da agulha.

5. Movimentar o êmbolo e pressioná-lo para retirar o ar.

6. Ajustar o garrote e escolher a veia. O garrote é utilizado durante a coleta de sangue para facilitar a localização das veias, tornando-as proeminentes.



- Deve ser colocado no braço do paciente próximo ao local da punção (4 a 5 dedos ou 10 cm acima do local de punção), sendo que o fluxo arterial não poderá ser interrompido. Para tal, basta verificar a pulsação do paciente. Mesmo garroteado, o pulso deverá continuar palpável. O garrote não deve ser deixado no braço do paciente por mais de um minuto. Deve-se retirá-lo ou afrouxá-lo logo após a venipunção, pois o garroteamento prolongado pode acarretar alterações nas análises (por exemplo: cálcio).

7. Fazer a assepsia no local da coleta (braço) com algodão umedecido em álcool a 70% ou álcool iodado a 1%. Não tocar mais no local desinfetado.

8. Retirar a capa da agulha e fazer a punção.

9. Soltar o garrote assim que o sangue começar a fluir na seringa.

10. Coletar a quantidade de sangue desejada e colocar nos tubos apropriados. Para a coleta de soro, coleta-se em tubo sem anticoagulante e para a coleta de plasma, com anticoagulante.
11. Orientar o paciente a pressionar com algodão a parte puncionada, mantendo o braço estendido, sem dobrá-lo.

