

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA**

**Laura Branquinho do Nascimento**

**PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO  
VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS 1 (HTLV-1) EM  
REMANESCENTES DE QUILOMBOS NO BRASIL CENTRAL**

**Orientadora**

**Profa. Dra. Regina Maria Bringel Martins**

**Co-orientadora**

**Profa. Dra. Megmar Aparecida dos Santos Carneiro**

**Dissertação de Mestrado**

**Goiânia-GO**

**2009**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA**

**Laura Branquinho do Nascimento**

**PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO  
VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS 1 (HTLV-1) EM  
REMANESCENTES DE QUILOMBOS NO BRASIL CENTRAL**

**Orientadora**

**Profa. Dra. Regina Maria Bringel Martins**

**Co-orientadora**

**Profa. Dra. Megmar Aparecida dos Santos Carneiro**

Dissertação submetida ao PPGMTSP/UFG, como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Tropical, na área de concentração em Microbiologia.

Este trabalho foi realizado com auxílio financeiro do Ministério da Saúde/UNESCO  
- Programa Nacional de DST/Aids - Nº CSV: 309/06

**Goiânia-GO**

**2009**

*Dedico este trabalho aos meus pais, Juliana e José, que me ofereceram o que há de mais precioso na vida: a família, o amor e a educação. Aos meus avós Dinah (in memoriam) e Jayro, que dedicaram suas vidas à nossa família. Vocês são meu exemplo e meu orgulho. Aos meus avós Edith e Geraldo, que sempre me acolheram com imensa ternura. À minha irmã, Lorena, pelo apoio e incentivo nos momentos mais difíceis que compartilhamos. Ao meu noivo, companheiro, amigo e grande amor, Fernando, que me deu forças para alcançar mais esta etapa. Sem você eu não conseguiria.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por traçar meu caminho de forma tão generosa, me proporcionando a alegria de conhecer, conviver e admirar pessoas que só contribuíram para minha formação.

À Profa. Dra. Regina Maria Bringel Martins, por ter me acolhido em seu grupo de pesquisa, ainda na graduação, pelos ensinamentos fundamentais ao meu crescimento, pelo exemplo de disciplina e dedicação e pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

Às comunidades remanescentes de quilombos, exemplos de luta e resistência dignos de nosso profundo respeito.

À minha co-orientadora, Profa. Dra. Megmar Aparecida dos Santos Carneiro, pela ajuda na realização deste trabalho, além das palavras de experiência, carinho e apoio.

À Profa. Dra. Ana Rita Coimbra Motta-Castro e sua equipe, pelo empenho na realização das coletas e apoio aos remanescentes de quilombos em Mato Grosso do Sul.

À Profa. Dra. Sheila Araújo Teles, pelo exemplo de competência e profissionalismo que sempre me inspiraram.

À Profa. Ms. Carmen Luci Rodrigues Lopes, a luz do Laboratório de Virologia. Obrigada pelas sábias palavras de carinho, estímulo e bondade.

Aos amigos do Laboratório de Virologia: Nádia R. S. Reis, Renata C. Ferreira, Aline G. Kozlowski, Márcia A. D. de Matos, Marcos A. de Matos, Viviane R. Tavares, Nara R. Freitas, Ágabo M. C. Silva, Thaís A. Marinho, Nativa H. Del-Rios, Tamíres A. Marinho, Láiza A. S. Barros, Lyriane A. Araújo e Pollyanne S. Lemes. Obrigada pelos ensinamentos, compreensão e colaboração, além dos momentos intensos de alegrias, os quais nunca esquecerei. Acredito que

harmonia em que vivemos seja consequência de uma força maior que jamais consigamos compreender, afinal não estamos juntos por acaso.

À Dra. Ana Carolina Paulo Vicente e à Rosa Koko Otsuki, da Fundação Oswaldo Cruz, pela realização dos testes moleculares.

Aos colegas do Departamento de Epidemiologia e Coordenação de DST/Aids da Secretaria Municipal de Saúde, pela compreensão importante na finalização deste trabalho.

À Secretaria de Saúde de Cavalcante, pela parceria e apoio nas coletas.

Ao Programa de Institucional de Iniciação Científica (PIBIC), pelo incentivo no ingresso à pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa concedida em parte do trabalho.

Ao Ministério da Saúde/UNESCO – Programa Nacional de DST/Aids, pelo apoio financeiro.

Às professoras Fabíola, Márcia e Sheila pela contribuição no exame de qualificação.

## SUMÁRIO

<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>ix</b>
<b>ÍNDICE DE QUADROS .....</b>	<b>x</b>
<b>ÍNDICE DE TABELAS .....</b>	<b>xi</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>xii</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>xiii</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1. Breve histórico .....	1
1.2. Vírus linfotrópico de células T humanas .....	2
1.2.1 Classificação .....	2
1.2.2 Estrutura do HTLV-1 .....	3
1.2.3 Organização genômica e proteínas do HTLV-1.....	3
1.3. Variabilidade genética e origem do HTLV-1 .....	7
1.4. Aspectos clínicos da infecção pelo HTLV-1 .....	9
1.5. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo HTLV-1 .....	12
1.6 Epidemiologia da infecção pelo HTLV-1.....	15
1.6.1 Transmissão .....	15
1.6.2 Prevalência .....	17
1.6.3 Distribuição dos subtipos .....	20
1.7. Prevenção e controle da infecção pelo HTLV-1 .....	22
1.8. Remanescentes de Quilombos no Brasil Central .....	23
1.8.1 Remanescentes de quilombos em Goiás .....	25
1.8.2 Remanescentes de quilombos em Mato Grosso do Sul .....	26
1.9. Justificativa .....	29

<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>30</b>
2.1 Objetivo geral .....	30
2.2 Objetivos específicos .....	30
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>31</b>
3.1 Delineamento .....	31
3.2 População-alvo e amostra .....	31
3.3 Entrevista e coleta de sangue .....	32
3.4. Testes sorológicos .....	33
3.4.1 Ensaio de triagem .....	33
3.4.2 Ensaio confirmatório .....	33
3.5 Testes moleculares .....	35
3.5.1 Extração do DNA .....	35
3.5.2 <i>Nested</i> -PCR .....	35
3.5.3 Eletroforese em gel de agarose .....	37
3.5.4 Sequenciamento e análise filogenética .....	37
3.6. Processamento e análise dos dados .....	38
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>39</b>
4.1 Características da população estudada .....	39
4.2 Detecção de anticorpos anti-HTLV e do DNA viral .....	42
4.3 Características de risco para a infecção pelo HTLV-1 .....	44
4.4 Análise filogenética da região LTR .....	47

<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>49</b>
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>54</b>
<b>7. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>55</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática do vírus linfotrópico de células T em primatas (pró-vírus).....	3
Figura 2 - Estrutura genômica dos HTLVs (pró-virus).....	4
Figura 3 - Distribuição geográfica dos subtipos de HTLV-1 .....	21
Figura 4 - Rota do tráfico de escravos da África para o Brasil.....	24
Figura 5 - Localização geográfica da comunidade Kalunga .....	26
Figura 6 - Distribuição geográfica das comunidades quilombolas de Mato Grosso do Sul .....	27
Figura 7 - Fluxograma dos testes sorológicos realizados para anti-HTLV.....	42
Figura 8 - Heredograma dos familiares dos remanescentes de quilombos infectados pelo HTLV-1 em Mato Grosso do Sul.....	46
Figura 9 - Heredograma dos familiares dos remanescentes de quilombos infectados pelo HTLV-1 em Goiás .....	47
Figura 10 - Árvore Filogenética da região LTR do HTLV-1 .....	48

## ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 - Proteínas codificadas pela região pX .....	6
Quadro 2 - Doenças associadas ao HTLV-1 .....	10
Quadro 3 - Estudos de prevalência do HTLV-1/2 no Brasil, publicados no período de 1998 a 2008 .....	19
Quadro 4 – Interpretação dos resultados no teste <i>Western Blot</i> .....	34
Quadro 5 – Iniciadores específicos para a região <i>tax</i> do HTLV-1.....	36
Quadro 6 – Iniciadores para a região LTR do HTLV-1.....	36

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Características sócio-demográficas dos 1.837 remanescentes de quilombos estudados no Brasil Central .....	40
Tabela 2 - Características de risco para infecção pelo HTLV relatadas pelos remanescentes de quilombos estudados no Brasil Central.....	41
Tabela 3 - Reatividade sorológica das amostras ELISA soro reagentes para as proteínas do HTLV pelo <i>western blot</i> .....	43
Tabela 4 - Detecção de anticorpos anti-HTLV por <i>western blot</i> e do DNA viral pela PCR nas nove amostras ELISA soro reagentes .....	44
Tabela 5 - Características de risco para a infecção pelo HTLV relatadas pelos remanescentes de quilombos infectados no Brasil Central .....	45

## RESUMO

O vírus linfotrópico de células T humanas 1 (HTLV-1) infecta humanos há milhares de anos, entretanto o conhecimento acerca da infecção emergiu recentemente. O vírus pode ser transmitido de mães para filhos, pelo contato sexual e por produtos sanguíneos contaminados. A África Sub-Saariana e a América do Sul apresentam áreas endêmicas para a infecção. Os africanos chegaram ao Brasil como escravos. Alguns deles fugiram para locais de difícil acesso e fundaram os quilombos. Até os dias atuais, sua história e tradições são mantidas por remanescentes de quilombos. O status sorológico da infecção pelo HTLV nessas comunidades permanece desconhecido. O presente estudo teve como objetivo investigar o perfil epidemiológico e molecular da infecção pelo HTLV em remanescentes de quilombos no Brasil Central. Este estudo incluiu 1.837 indivíduos de 13 comunidades remanescentes de quilombos dos Estados de Goiás e Mato Grosso do Sul. Os indivíduos foram entrevistados sobre dados sócio-demográficos e características associadas à transmissão do HTLV. Amostras sanguíneas foram coletadas de todos os indivíduos e triadas por ELISA para a presença de anticorpos para HTLV-1/2. As amostras positivas foram testadas para confirmação por *western blot* e/ou PCR, sendo caracterizadas por sequenciamento e análise filogenética. Dos 1.837 indivíduos, nove foram reativos pelo ELISA. Desses, todos foram confirmados como sendo positivos para HTLV-1, resultando em uma prevalência de 0,5% (IC 95%: 0,2 – 1,0). A idade dos indivíduos infectados variou de 11 a 82 anos. Sete eram mulheres e dois homens. Quanto às características de risco, história de aleitamento materno (9/9), transfusão de sangue (2/9), múltiplos parceiros sexuais (2/9) e antecedente de doenças sexualmente transmissíveis (1/9) foram relatadas pelos indivíduos infectados. Os isolados virais foram classificados como do subtipo Cosmopolita (HTLV-1a), subgrupo Transcontinental (A). A análise filogenética associada aos dados epidemiológicos sugere a transmissão intrafamiliar do HTLV-1 por três gerações de uma família na comunidade de Boa Sorte – Mato Grosso do Sul. Os achados deste estudo mostram uma baixa endemicidade para o HTLV-1 e a circulação do subtipo Cosmopolita, subgrupo Transcontinental nas comunidades remanescentes de quilombos no Brasil Central.

## SUMMARY

Human T-lymphotropic virus 1 (HTLV-1) has infected human beings for thousands of years, but knowledge about the infection is only recently emerging. The virus can be transmitted from mother to child, through sexual contact, and contaminated blood products. There are endemic areas for this infection in sub-Saharan Africa and South America. African individuals were introduced in Brazil by slave trade. Some of them escaped to remote valleys and stayed in communities, called quilombos. Nowadays, their history and tradition allows them to be identified as remnants of quilombos. The epidemiological status of HTLV infection of these communities remains unknown. The aim of this study was to investigate the epidemiological and molecular profile of HTLV infection among remnant communities in Central Brazil. This study included 1,837 individuals from 13 quilombo remnant communities in the States of Goiás and Mato Grosso do Sul. They were interviewed about demographic and risk characteristics known to be associated with HTLV transmission. Blood samples were collected from all individuals and screened by ELISA for the presence of antibodies to HTLV 1/2. Positive samples were tested for confirmation by western blot and/or PCR. Also, they were submitted to sequencing and phylogenetic analyses. Of the 1,837 individuals, nine were found to be positive by ELISA. All of them were confirmed as being positive for HTLV-1, resulting in an anti-HTLV prevalence of 0.5% (CI 95%: 0.2-1.0). The HTLV-1 infected individuals ranged in age from 11 to 82 years. Seven were females and two were male. Regarding risk characteristics, history of breastfeeding (9/9), blood transfusion (2/9), multiple sexual partners (2/9) and history of sexually transmitted diseases (1/9) were reported by the infected individuals. The virus isolates were classified as Transcontinental subgroup of the HTLV-1 Cosmopolitan subtype. The association of phylogenetic analysis and epidemiological data suggests the intrafamilial transmission of the HTLV-1 among three generations of one family in Boa Sorte – Mato Grosso do Sul community. These findings show a low endemicity for HTLV-1 infection and the circulation of the Transcontinental subgroup of the HTLV-1 Cosmopolitan subtype in quilombo remnant communities in Central Brazil.

# **1. INTRODUÇÃO**

## **1.1. Breve histórico**

Os retrovírus estão dentre os primeiros vírus descritos, sendo que, na década de 70, já se conhecia o envolvimento desse na patogênese de neoplasias em diversas espécies animais, porém, o isolamento e a identificação do vírus em humanos ainda constituía desafios (Gallo 2005a).

O desenvolvimento de técnicas sensíveis para detecção da transcriptase reversa dos retrovírus, bem como a utilização da interleucina-2 (IL-2) no crescimento das células T em culturas celulares, possibilitaram, em 1979, o isolamento do primeiro retrovírus humano, o vírus linfotrópico de células T humanas 1 (HTLV-1), a partir da cultura de linfócitos de um paciente portador de linfoma cutâneo de células T, nos Estados Unidos (Poiesz et al. 1980, Gallo 2002, Gallo 2005b).

Estudos realizados no Japão verificaram antígenos associados à linhagem de células T de um paciente com leucemia de células T do adulto (ATL), doença cuja descrição havia sido realizada por Uchiyama et al. (1977), predominantemente em nativos de Kyushu. A reatividade desses antígenos com soros de outros pacientes com ATL sugeriu a etiologia viral da patologia (Hinuma et al. 1981).

Popovic et al. (1982) demonstraram a similaridade dos retrovírus descritos pelos dois grupos e, então, o termo HTLV-1 foi estabelecido. Estudos epidemiológicos subsequentes verificaram que, além do Japão (Uchiyama et al. 1977), o HTLV-1 estava presente nas ilhas do Caribe (Catovsky et al. 1982, Blattner et al. 1983, Clark et al. 1985), América do Norte (Blayney et al. 1983) e, posteriormente, no continente africano (Biggar et al. 1984, Williams et al. 1984).

O neurotropismo do HTLV-1 e sua patogênese na desordem neurológica, denominada de paraparesia espástica tropical (TSP), foram sugeridos por um estudo realizado por Gessain et al. (1985).

A introdução do HTLV-1 no novo mundo ainda permanece controversa. Gallo (1985) sugeriu a origem africana do vírus, que por meio do comércio de

escravos teria se disseminado mundialmente. Tal hipótese pôde ser formulada devido à detecção frequente do HTLV-1 em indivíduos afro-descendentes. Entretanto, outro estudo mostrou alta prevalência do vírus em dois grupos no Japão considerados descendentes de antigas populações mongóis da Ásia, indicando a presença do HTLV-1 desde tempos remotos naquela região, o que sugere a origem asiática do vírus (Ishida et al. 1985).

Um segundo retrovírus humano, denominado de vírus linfotrópico de células T humanas 2 (HTLV-2), foi descrito em 1982, proveniente de um paciente com leucemia de células T pilosas (Kalyanaraman et al. 1982). Entretanto, estudos posteriores não demonstraram sua associação com a leucemia (Gallo, 1985, Murphy 1996, Montanheiro et al. 2008).

Mais recentemente, foram descritos o HTLV-3 e HTLV-4, provenientes de nativos de comunidades rurais da África Central que mantinham estreito contato com primatas não-humanos (Calattini et al. 2005, Wolfe et al. 2005, Mahieux & Gessain 2008).

## **1.2. Vírus linfotrópico de células T humanas**

### **1.2.1. Classificação**

Os HTLVs, juntamente com os vírus correspondentes em primatas não-humanos (STLVs), compõem o grupo de vírus linfotrópicos de células T em primatas (PTLVs), os quais são divididos nos grupos PTLV-1, PTLV-2 e PTLV-3, que incluem HTLV-1, HTLV-2 e HTLV-3, respectivamente, e seus análogos que infectam macacos. Já o grupo PTLV-4 possui, até o momento, apenas o HTLV-4 (Calattini et al. 2005, Wolfe et al. 2005, Mahieux & Gessain 2008). Os PTLVs são classificados na família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae*, dentro do gênero *Deltaretrovirus* (ICTV 2006).

### 1.2.2. Estrutura do HTLV-1

Os vírus linfotrópicos de células T humanas têm morfologia esférica, com diâmetro de 80 a 100 nanômetros (nm). As partículas virais são constituídas de envelope lipoprotéico, capsídeo icosaédrico e genoma de RNA. O envelope viral é uma bicamada lipídica, derivada da membrana da célula hospedeira, com proteínas virais de superfície (SU), transmembrana (TM) e matriz (MA). O complexo ribonucleoprotéico com as enzimas protease (PR), transcriptase reversa (RT) e integrase (IN) encontra-se associado ao capsídeo (Figura 1) (Van Dooren 2005).

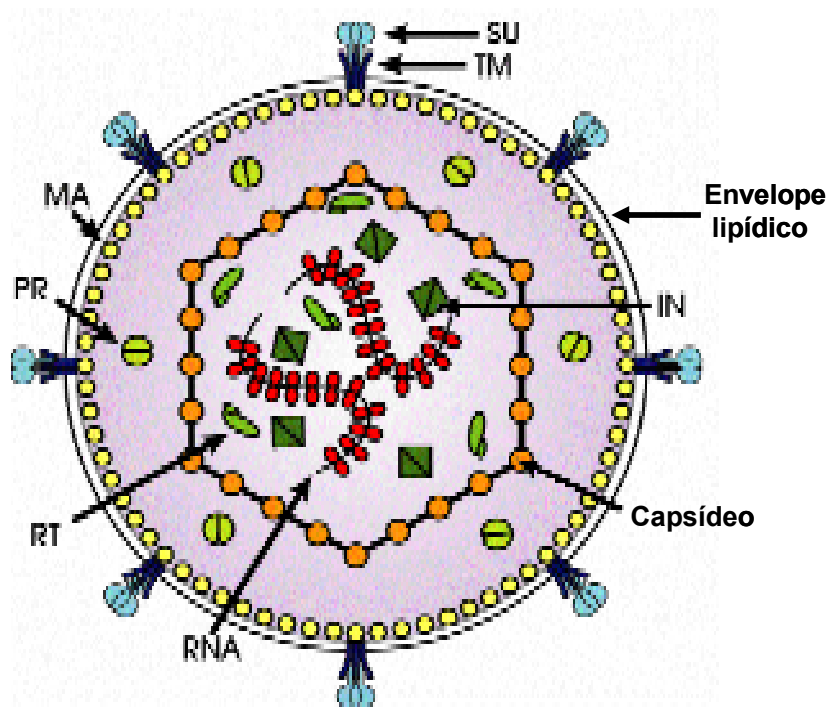


Figura 1 - Representação esquemática do vírus linfotrófico de células T em primatas (pró-vírus)  
Fonte: Van Dooren 2005 (modificada)

### 1.2.3. Organização genômica e proteínas do HTLV-1

O HTLV-1 é um retrovírus complexo, cujo genoma consiste em uma estrutura dímica de RNA fita simples com polaridade positiva (ICTV 2006). O genoma pró-viral possui aproximadamente 9 quilobases (Kb), flanqueado nas extremidades 5' e 3', por duas terminações longas de sequências repetidas (LTRs - *long terminal repeats*) que contêm a mesma organização estrutural de



outros retrovírus, sendo subdivididas nas regiões U3, R e U5. Apesar de não codificantes, as LTRs desempenham função promotora na integração do pró-vírus e regulatória na transcrição do genoma pró-viral (Seiki et al. 1982, Seiki et al. 1983, Johnson et al. 2001). Já os principais genes codificantes *gag*, *pol* e *env* dão origem às proteínas estruturais e enzimas importantes no processo de infecção da célula hospedeira (Figura 2) (Azran et al. 2004).

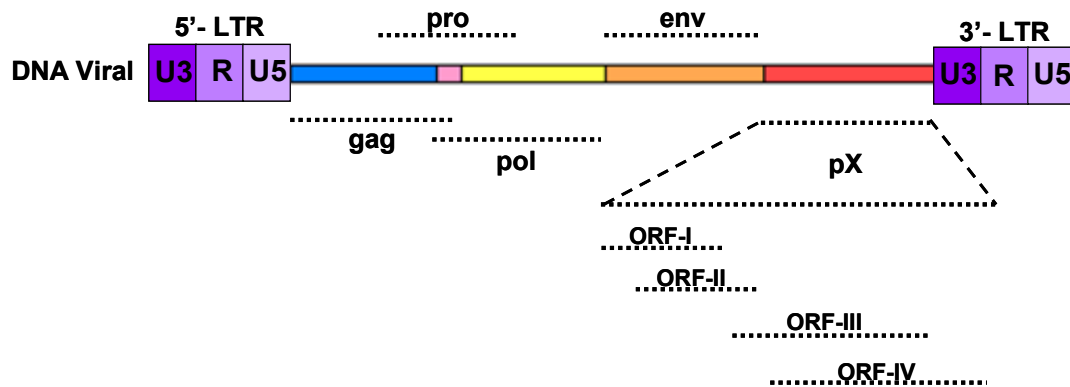


Figura 2 - Estrutura genômica dos HTLVs (pró-vírus)

Fonte: Azran et al. 2004 (modificada)

Após a integração do pró-vírus em sítios aleatórios do genoma da célula hospedeira, os genes virais são transcritos em três RNA mensageiros (mRNA). O mRNA genômico, correspondente ao genoma completo, codifica os produtos dos genes *gag* e *pol*, enquanto o mRNA subgenômico, após o processamento (*splicings*) simples, codifica a proteína *env*, e o terceiro mRNA, após processamento duplo, origina as proteínas regulatórias (Smith & Greene 1991).

A poliproteína precursora Gag, com peso molecular de 53 quilodaltons (KDa), se liga à membrana lipídica e, mediante auto-ativação da protease viral, é clivada por essa, gerando as proteínas da matriz (p19), do capsídeo (p24) e nucleocapsídeo (p15) (Hattori et al. 1984, Hatanaka & Nam 1989, Le Blanc et al. 2001).

A protease viral, é codificada pela região *pro*, localizada entre os genes *gag* e *pol* do genoma viral (Nam & Hatanaka 1986, Hiramatsu et al. 1987). Essa

enzima é capaz de realizar a primeira clivagem para sua liberação do precursor Gag-Pol e, assim, participar do processamento da poliproteína codificada por *gag* (Nam et al. 1988).

As demais proteínas virais, transcriptase reversa e integrase, são codificadas pelo gene *pol* e originadas mediante a clivagem da proteína precursora Gag-Pol pela protease (Seiki et al. 1983, Ferreira-Júnior et al. 1997). A transcriptase reversa exerce função no processo de replicação dos retrovírus, realizando atividade de DNA polimerase RNA-dependente, ribonuclease H e DNA polimerase DNA-dependente, sintetizando assim, a fita dupla de DNA a partir do RNA de polaridade positiva do genoma viral. Já a integração do DNA viral com o da célula hospedeira é catalisada pela enzima integrase (Katz & Skalka 1994).

A glicoproteína com peso molecular de 61 KDa (gp61), codificada pelo gene *env*, é precursora das glicoproteínas do envelope viral, denominadas de superfície (gp46) e transmembrana (gp21) (Hattori et al. 1984). A glicoproteína de superfície é a mais externa, sendo responsável pela interação entre o envelope viral e a célula hospedeira, ao passo que a glicoproteína transmembrana possibilita a entrada do vírus na célula por fusão das membranas (Pique et al. 1992, Delamarre et al. 1996, Le Blanc et al. 2001).

Adicionalmente aos genes principais, é encontrada na porção 3' do genoma viral a região conhecida como pX, importante na síntese de proteínas acessórias e regulatórias (Figura 2) (Seiki et al. 1983, Smith & Greene 1991, Ferreira-Júnior et al. 1997). Essa região apresenta 1,6 Kb, com quatro fases de leitura aberta (ORFs – *open reading frames*) (Wachsman et al. 1985). As proteínas acessórias sintetizadas a partir das ORFs I e II são formadas por processamentos (*splicing*) alternativos, enquanto as proteínas regulatórias das ORFs III e IV são originadas após o processamento duplo do RNA viral (Koralnik et al. 1992, Azran et al. 2004). Além disso, o fator HBZ “*basic zipper factor*”, recentemente identificado, gera produtos por processamentos alternativos que estão relacionados ao processo de carcinogênese (Usui et al. 2008).

O Quadro 1 apresenta as proteínas codificadas pelas quatro regiões abertas de leitura da região pX do genoma viral (Koralnik et al. 1992). Vários estudos ainda investigam o papel exato dessas proteínas acessórias, porém,

sabe-se que elas desempenham funções na infectividade do vírus e manutenção da carga viral, além de regular a transcrição de genes (Albrecht & Lairmore 2002, Azran et al. 2004, Franchini et al. 2005).

Quadro 1- Proteínas codificadas pela região pX

Região	Proteínas	Classificação
ORF I	p12 / p27	proteínas acessórias
ORF II	p30 / p13	
ORF III	p27 <sup>rex</sup> / p21 <sup>rex</sup>	proteínas regulatórias
ORF IV	p40 <sup>tax</sup>	

As proteínas regulatórias são essenciais para o processo de replicação. A fosfoproteína nuclear tax de 40 KDa interage com elementos localizados na região U3 da LTR pró-viral, ativando, assim a transcrição dos genes virais. Além disso, pode interagir indiretamente com fatores transcricionais, promovendo a divisão descontrolada da célula (Fujisawa et al. 1985, Franchini 1995, Johnson et al. 2001, Azran et al. 2004). Adicionalmente, essa fosfoproteína tem efeito repressivo na enzima  $\beta$ -polimerase, que atua no reparo do DNA, levando a instabilidade genética (Azran et al. 2004), bem como previne a apoptose celular, ocasionando a imortalização das células T primárias, o que culmina com a proliferação e transformação celular (Fujisawa et al. 1985, Yoshida 2001, Feuer & Green 2005). Desta forma, a proteína tax contribui diretamente para o processo oncogênico celular, por meio das múltiplas interferências no ciclo celular (Azran et al. 2004). Essa proteína é transativadora de vários genes celulares, o que poderia também ocasionar as síndromes associadas (Smith & Greene 1991, Azran et al. 2004).

O gene *rex*, localizado na ORF III da região pX, codifica duas proteínas. A proteína menor (p21<sup>rex</sup>), tem sua função desconhecida, já a proteína p27<sup>rex</sup> exerce papel fundamental na regulação dos genes virais (Kiyokawa et al. 1985, Seiki et al. 1986). A fosfoproteína rex de 27 KDa, localizada no núcleo, regula o

processamento dos RNAs mensageiros, exportando o mRNA gag/pol e env do núcleo para o citoplasma. Consequentemente, há o aumento da produção de proteínas estruturais e enzimáticas, com redução das regulatórias e acessórias, o que pode proporcionar a latência viral (Hidaka et al. 1988, Smith & Greene 1991, Franchini 1995, Johnson et al. 2001).

### **1.3. Variabilidade genética e origem do HTLV-1**

A respeito da diversidade genética, o HTLV-1 pode ser considerado exceção dentre os retrovírus, por apresentar sequências conservadas de DNA pró-viral com taxa de evolução entre  $3,44 \times 10^{-7}$  e  $6,55 \times 10^{-7}$  substituições por sítio por ano para *env* e LTR, respectivamente (Lemey et al. 2005). Além disso, vários estudos confirmam a estabilidade genética do vírus e demonstram maior relação filogenética de acordo com a origem geográfica dos isolados (Gray et al. 1990, Ratner et al. 1991, Komurian et al. 1991, Lemey et al. 2005).

As regiões mais variáveis do genoma viral são LTR e *env*, porém as mutações ocorridas no envelope podem gerar partículas não funcionais, diminuindo a heterogeneidade do mesmo (Pique et al. 1990, Miura et al. 1994). A variabilidade da LTR difere de acordo com o fragmento estudado, sendo o fragmento U3, a região de maior diversidade (Komurian-Pradel et al. 1992). Por outro lado, o fragmento R e as regiões *tax* e *rex* do genoma são bastante conservados (Komurian-Pradel et al. 1992, Ratner et al. 1991, Vandamme et al. 1994).

De acordo com a variabilidade genética da região LTR, estudos moleculares classificam o HTLV-1, filogeneticamente, em sete subtipos, denominados de a-g, cujas sequências variam em até 11% (Hahn et al. 1984, Ratner et al. 1991, Komurian-Pradel et al. 1992, Gessain et al. 1993, Miura et al. 1994, Mahieux et al. 1997, Salemi et al. 1998, Cassar et al. 2005, Wolfe et al. 2005, Rego et al. 2008). O subtipo a, pode ainda, ser classificado em subgrupos (A, B, C, D e E) de acordo com sua localização geográfica (Miura et al. 1994, Van Dooren et al. 1998, Rego et al. 2008). Alguns estudos indicam que a taxa de

variação genética intra-subtipo e de *quasispecies* no indivíduo é menor que 0,5% (Daenke et al. 1990, Gessain et al. 1992, Gessain et al. 1996).

A notável conservação genômica do vírus ao longo do processo evolutivo e a detecção em populações remotas têm gerado investigações moleculares pautadas no movimento das antigas civilizações, objetivando elucidar o surgimento do HTLV-1 (Gessain et al. 1992). Filogeneticamente, HTLV e STLV possuem estreita relação, o que demonstra a ocorrência de repetidas transmissões interespecies, porém o local de origem de seu ascendente comum (PTLV) não foi totalmente esclarecido (Saksena et al. 1992, Miura et al. 1994, Ibrahim et al. 1995, Salemi et al. 2000).

A África foi proposta como local de surgimento desse vírus devido à diversidade de PTLVs, além do registro de STLVs divergentes presentes no continente (Vandamme et al. 1994, Verdonck et al. 2007). Sua chegada ao Caribe e Japão se deveria aos escravos africanos e à tripulação africana dos navios portugueses (Catalan-Soares et al. 2001). Já a origem asiática do HTLV-1 foi sugerida inicialmente por Saksena et al. (1992). O vírus teria chegado posteriormente ao continente africano por antigos contatos da espécie hospedeira em Madagascar e então se disseminado nesse continente (Song et al. 1994).

A diversidade de subtipos do HTLV-1 é consequência de independentes transmissões interespecies de STLVs a primatas humanos. O subtipo 1c australo-melanésico é o mais heterogêneo, o que indica longo período de evolução. Análises filogenéticas sugerem que essa variante emergiu de uma única transmissão interespecies de STLV-1 asiático, provavelmente durante o primeiro processo migratório humano da Indonésia em direção à Melanésia e Austrália há 50.000 anos (Ibrahim et al. 1995, Vandamme et al. 1998, Van Dooren et al. 2001).

Por outro lado, os seis subtipos restantes originaram-se, mais recentemente, na África, sendo provenientes de contatos entre diversas espécies de primatas, incluindo humanos. Estima-se que a recente transmissão do subtipo f tenha ocorrido nos últimos 3.000 anos (Vandamme et al. 1998, Van Dooren et al. 2001).

A disseminação do HTLV-1 no novo mundo pode ter sido resultado de introduções múltiplas resultantes do processo migratório. A população de ameríndios é considerada descendente de mongóis, que durante o período glacial atravessaram o Estreito de Bering chegando à América do Norte há 12.000 anos (Miura et al. 1994). A detecção de DNA pró-viral do HTLV-1 em múmias dos Andes de aproximadamente 1.500 anos reforça a hipótese da introdução carregada por civilizações remotas (Sonoda et al. 2000), enquanto outros estudos evidenciam a introdução de linhagens africanas do vírus durante o comércio de escravos ocorrido no século XVI (Gessain et al. 1992, Vandamme et al. 1994, Van Dooren et al. 2004).

#### **1.4. Aspectos clínicos da infecção pelo HTLV-1**

A maioria dos indivíduos infectados pelo HTLV-1 permanece assintomática ao longo da vida, entretanto, aproximadamente 5% desses indivíduos podem desenvolver doenças graves como a leucemia/linfoma de células T do adulto e mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP) (de Thé & Kazanji 1996, Proietti et al. 2005).

Verdonck et al. (2007) sugerem a classificação das doenças associadas ao HTLV-1 em síndromes inflamatórias, complicações infecciosas e doenças malignas (Quadro 2).

Quadro 2- Doenças associadas ao HTLV-1

Síndromes Inflamatórias	Complicações Infecciosas	Doenças Malignas
HAM/TSP	Estrongilóide	ATL
Uveítes	Escabiose Crostosa	Linfoma de células T cutâneo
Artropatias	Dermatite Infecciosa	
Síndrome de Sjögren	Tuberculose	
Polimiosites	Hanseníase	
Tireoidites		
Pneumopatias		
Aveolite linfocitária T		

Fonte: Verdonck et al. 2007 (modificada)

A ATL é uma doença caracterizada pela proliferação maligna de linfócitos T maduros (Uchiyama 1997, Brasil 2004). Estima-se que o risco de desenvolvimento da leucemia nos indivíduos infectados seja de 2% a 5%, sendo que o tempo entre a infecção e o aparecimento dos sintomas é longo, variando de 30 a 50 anos (Tokudome et al. 1989, Franchini 1995).

Ao investigar a influência da via de transmissão do HTLV-1 e o desenvolvimento da leucemia, alguns autores evidenciaram que indivíduos infectados ainda na infância, principalmente pelo aleitamento materno, têm alto risco de desenvolver ATL (Murphy et al. 1989a, Maguer-Satta et al. 1995, Pombo-de-Oliveira et al. 2001). A integração do genoma do vírus ao da célula, a transativação da proteína *tax* e co-fatores virais induzem a instabilidade cromossômica, imortalização e transformação do linfócito infectado; no entanto, fatores genéticos e imunológicos do hospedeiro, além da carga viral parecem ser determinantes no surgimento e evolução da leucemia (Bangham 2003, Yoshida 2001, Proietti et al. 2005).

Em geral, linfadenopatia, hepatoesplenomegalia, lesões persistente de pele, desconforto abdominal, diarreia e tosse são sinais e sintomas frequentemente associados à ATL, sendo a hipercalcemia uma complicação comum (Yamaguchi & Takatsuki 1993, Brasil 2004). A hipercalcemia é frequente, ocorrendo em função da proliferação desordenada de osteoclastos (Borducchi et al. 1999).

Shimoyama (1991) estabeleceu critérios diagnósticos para a classificação da leucemia em quatro subtipos clínicos, sendo as formas aguda e linfomatosa mais agressivas com sobrevida estimada em duas semanas a um ano. A primeira se apresenta de forma leucêmica com síndrome tumoral, ao passo que a linfomatosa é semelhante ao linfoma com ausência de células malignas. Nas formas crônica e *smoldering*, os sintomas são mais brandos, com sobrevida maior. Entretanto, podem evoluir para a forma aguda a qualquer momento. A forma que mais acomete os indivíduos infectados é a aguda (55%), seguida da linfomatosa (20%), crônica (20%) e *smoldering* (5%) (Uchiyama 1997). Nessas, as infecções oportunistas, principalmente por *Pneumocystis jirovecii* e *Strongyloides stercoralis*, ocorrem em decorrência da imunodeficiência (Brasil 2004, Ohshima 2007, Verdonck et al. 2007).

A mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical foi reconhecida em 1988, pela Organização Mundial de Saúde (OMS), como uma doença neurológica progressiva lenta com sinais piramidais e espasticidade associada a distúrbios sensitivos (formigamento e dormência nos membros) e esfinterianos (alterações urinárias, intestinas e sexuais) (WHO 1989, Brasil 2004).

O risco estimado de desenvolvimento da paraparesia nos pacientes infectados pelo HTLV-1 é menor que 5%, sendo superior no sexo feminino, o que sugere a transmissão sexual como fator de desenvolvimento tardio da HAM/TSP (Kaplan et al. 1990, Maloney et al. 1998). Além disso, Lima et al. (2005) sugerem progressão acelerada da doença nas mulheres, principalmente com início anterior a quinta década de vida devido a influência dos hormônios sexuais. Geralmente, o início dos sintomas e consequentemente o diagnóstico ocorrem a partir dos 40 anos de idade, sugerindo longo período de incubação. Entretanto, os sintomas após infecção por transfusão de sangue ocorrem após curto período (Osame et



al. 1990). A coexistência de ATL e HAM/TSP no mesmo indivíduo apesar de reportada, permanece incomum (Kawai et al. 1989, Gonçalves et al. 1999).

O conhecimento sobre a patogênese da paraparesia permanece incompleto. Atualmente são propostos os modelos citotóxico e autoimune para o desenvolvimento dos sintomas. A região pX do genoma pró-viral induz a proliferação de células T. Os linfócitos T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> ativados migram e se acumulam no líquor produzindo citocinas que irão mediar o processo inflamatório, que a longo prazo será substituído por degeneração da substância branca e reação gliomesenquimal (Biddison et al. 1997, Brasil 2004, Santos et al. 2004, Guerreiro et al. 2006).

O primeiro modelo (citotóxico) sugere que, nos estágios mais avançados da doença, haja predomínio de linfócitos T CD8<sup>+</sup> reativos à tax, havendo liberação de citocinas. Já o segundo modelo (autoimune) está relacionado à infiltração de linfócitos T CD4<sup>+</sup> HTLV-1-infectados auto-reativos na medula espinhal. Dessa forma, os dois modelos propostos parecem contribuir para a patogênese da HAM/TSP (Kubota et al. 1994, Ijichi & Osame 1995, Moore et al. 1989, Ferreira Jr et al. 1997, Taylor 1998).

### **1.5. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo HTLV-1**

Rotineiramente, o diagnóstico laboratorial da infecção pelo HTLV-1 é realizado pela detecção de anticorpos específicos no soro ou plasma. Cerca de dois meses após o início da infecção, há o aparecimento de anticorpos, cujos títulos são diretamente relacionados à carga pró-viral. Os níveis se mantêm baixos até o terceiro mês, com gradual aumento no decorrer da infecção e, mantendo-se constante após o 14º mês (Manns et al. 1999a, Thorstensson et al. 2002).

As técnicas disponíveis são classificadas em ensaios de triagem e confirmatórios, sendo que as amostras repetidamente reagentes ao primeiro devem ser submetidas à confirmação (Williams et al. 2000, Brasil 2004). Na triagem, o ensaio imunoenzimático (ELISA – *enzyme-linked immunosorbent assay*) é o mais utilizado para detecção de anticorpos presentes no soro

(Borducchi et al. 1999, Brasil 2004). Inicialmente, o antígeno empregado na reação consistia apenas do lisado viral (1º geração), resultando em grande número de falso-positivos, posteriormente, foram adicionados antígenos recombinantes (2ª e 3ª geração) (Andersson et al. 1999, Thortensson et al. 2002).

Atualmente, os testes de ELISA de terceira geração possuem sensibilidade superior a 96,5% e, especificidade maior que 92,9% para detecção de HTLV-1/2, já que utilizam peptídeos sintéticos além de antígenos HTLV-2 específicos. Desta forma, o método de ELISA não distingue a infecção por HTLV-1 ou HTLV-2 (Liu et al. 1999, Williams et al. 2000, Berini et al. 2008, Jacob et al. 2007).

Testes de aglutinação são também ensaios sorológicos utilizados para a triagem, sendo sua sensibilidade de 94 a 100%, e especificidade superior a 99,5% (Karopoulos et al. 1993, Fujiyama et al. 1995). Os antígenos virais ligados as partículas de gelatina ou látex são capazes de se aglutinarem na presença de anticorpos específicos (Borducchi et al. 1999, Brasil 2004).

O teste confirmatório *western blot* consiste na detecção de anticorpos específicos no soro ou plasma por antígenos virais separados eletroforicamente em fita de nitrocelulose (Borducchi et al. 1999, Brasil 2004). Essa técnica é frequentemente utilizada para confirmação da infecção por HTLV-1/2, apresentando lisado viral, polipeptídeos recombinantes do envelope e/ou glicoproteína recombinante externa, o que possibilita a diferenciação da infecção por HTLV-1 e HTLV-2 (Lillehoj et al. 1990, Brodine et al. 1993, Roberts et al. 1993, Varma et al. 1995).

O uso da tecnologia recombinante aumentou a taxa de especificidade dos testes *western blot*, cujo índice de confirmação da infecção por HTLV-1 e HTLV-2 é de 95,7% (Williams et al. 2000). Entretanto, uma limitação relevante é a ocorrência de resultados indeterminados, devido à reação cruzada com outros antígenos, evidenciada pela detecção de bandas inespecíficas. Nesses casos, é necessário o emprego de testes moleculares para esclarecimento do diagnóstico (Zaaijer et al. 1994). A reação cruzada com outros retrovírus de primatas ainda não caracterizados também deve ser considerada diante da evidência de transmissão interespecie do HTLV (Busch et al. 2000).

Os testes moleculares detectam o ácido nucléico viral extraído de células mononucleares do sangue periférico na forma de DNA pró-viral, uma vez que há pequena circulação de RNA do vírus no plasma. As sequências específicas do DNA, seleccionadas por iniciadores, são amplificadas pela reacção em cadeia da polimerase (PCR – *polymerase chain reation*) (Matsumoto et al. 1990, Tuke et al. 1992, Catalan-Soares et al. 2001).

A técnica molecular apresenta alta sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da infecção por HTLV, além disso, a detecção do DNA pró-viral pode ser realizada precocemente, pois não depende da produção de anticorpos específicos, eliminando assim, resultados falso-negativos decorrentes do período de janela imunológica (Poiesz et al. 2000, Catalan-Soares et al. 2001).

A detecção do DNA pró-viral é indicada para diferenciação de HTLV-1 e HTLV-2, que compartilham 60% de homologia nas sequências de ácido nucléico, bem como para esclarecer os resultados indeterminados no teste confirmatório, já que em populações de baixo risco, parte dos indeterminados revela-se como negativo nos testes moleculares (Seiki et al. 1983, Kwok et al. 1990, Zaaijer et al. 1994, Vandamme et al. 1997, Thorstensson et al. 2002). Adicionalmente, o uso da biologia molecular tem se mostrado ferramenta fundamental no diagnóstico precoce de recém-nascidos infectados por transmissão vertical, uma vez que os anticorpos maternos são transferidos passivamente via placenta (Fujino & Nagata 2000).

Como citado, a detecção do ácido nucleico viral permite diferenciar o HTLV-1 e 2. Para tal, o mesmo é amplificado por *nested*-PCR, utilizando iniciadores de sequências conservadas da região *tax/rex* do genoma viral, cujo produto pode ser submetido a análise do polimorfismo de restrição dos fragmentos amplificados (RFLP, *restrict fragment length polymorphism*) (Matsumoto et al. 1990, Tuke et al. 1992, Gallego et al. 2004).

A técnica de *nested*-PCR é capaz de detectar oito cópias de pró-vírus em 10<sup>6</sup> células, sendo bastante eficiente na detecção da infecção, que para se estabelecer é necessária carga viral mínima de 10 cópias por 150.000 células (Busch et al. 2000, Gallego et al. 2004). Além disso, a carga pró-viral tem sido considerada importante na patogênese de doenças associadas ao HTLV-1.

Estudos mostram diferenças entre os níveis do DNA pró-viral de indivíduos assintomáticos e de pacientes com doenças neurológicas. Assim, a quantificação da carga pró-viral em tempo real pelo sistema TaqMan, que detecta o aumento da intensidade de fluorescência proporcionalmente ao do produto de amplificação da PCR, pode indicar o curso da infecção em indivíduos assintomáticos, além de servir como monitoramento nos indivíduos em tratamento (Manns et al. 1999b, Montanheiro et al. 2005).

O sequenciamento de nucleotídeos do genoma viral ou das regiões *env* e LTR é importante na investigação molecular da infecção, tendo em vista a elucidação dos mecanismos de transmissão e variabilidade do HTLV-1, uma vez que essa última região é utilizada para a classificação dos vírus em subtipos (Nerurkar et al. 1993, Kashima et al. 2006).

## **1.6. Epidemiologia da infecção pelo HTLV-1**

### **1.6.1. Transmissão**

O estabelecimento da infecção pelo HTLV-1 é, principalmente, dependente do contato célula a célula, apresentando, assim, menor infecciosidade que outros agentes virais encontrados livremente no plasma (Manns et al. 1999a). O HTLV-1, apesar de infectar *in vitro* uma variedade de células, *in vivo* tem tropismo preferencialmente para células T CD4<sup>+</sup>, infectando também células T CD8<sup>+</sup> (Richardson et al. 1990, Nagai et al. 2001). A infecção é estabelecida pela integração do genoma viral ao da célula hospedeira, com subsequente transcrição limitada, havendo disseminação por meio da expansão clonal da célula T HTLV-1 infectada (Wattel et al. 1995, Tanaka et al. 2005).

A transmissão do HTLV-1 pode ocorrer pelas vias vertical, sexual e parenteral (Kaplan et al. 1996, Sullivan et al. 1991, Fujino & Nagata 2000). A transmissão vertical de mães HTLV-1 infectadas aos seus filhos é responsável pela manutenção da infecção em áreas endêmicas. Nessas áreas, a taxa média de transmissão é cerca de 20%, sendo o aleitamento materno prolongado o principal fator de risco para a transmissão do vírus, cujo tempo médio estimado para infecção é de 12 meses (Hino et al. 1995, Nyambi et al. 1996, Wiktor et al.

1997, Houinato et al. 1998, Hisada et al. 2002). Estudos associam ainda, os níveis altos de anticorpos e da carga pró-viral sanguínea e no leite materno ao risco elevado de transmissão (Hino et al. 1987, Li et al. 2004).

Estudos realizados no Japão revelam que, mesmo na ausência do aleitamento, a taxa de transmissão vertical é cerca de 3% (Hino et al. 1995, Fujino & Nagata 2000). Linfócitos HTLV-1-infectados, detectados no cordão umbilical de filhos de mães portadoras, sugerem a infecção pela via transplacentária, apesar de não evidenciar a infecção fetal, provavelmente devido à apoptose das células placentárias. A contaminação pelo canal de parto é considerada uma via alternativa de transmissão relacionada à quebra da barreira placentária e ruptura das membranas, entretanto, não há indicação de parto cesário nas portadoras de HTLV-1. Portanto, tais vias constituem formas menos eficientes de transmissão vertical do HTLV-1 (Bittencourt et al. 2002, Figueiró-Filho et al. 2005).

A via sexual como fonte de transmissão do HTLV-1 ocorre por meio de linfócitos infectados presentes no sêmen e secreção vaginal, com maior eficiência do homem para mulher (Nakano et al. 1984, Murphy et al. 1989b, Kaplan et al. 1996, Moriuchi et al. 2004) e, segundo Kajiyama et al. (1986), a possibilidade de transmissão após dez anos de relacionamento é de 60,8% do homem para a mulher e, de apenas 0,4% para o inverso. Contudo, investigação recente demonstrou maior relevância da transmissão mulher-homem (Roucoux et al. 2005). Assim como o HIV, entretanto com menor eficiência, a relação homossexual é fonte de infecção para o HTLV-1 (Bartholomew et al. 1987).

Fatores considerados de risco para a transmissão sexual da infecção são: relação sexual precoce, provavelmente devido à imaturidade dos epitélios do trato reprodutivo; promiscuidade sexual; tempo de duração do relacionamento; presença de outras doenças sexualmente transmissíveis (DSTs), principalmente ulcerativas, havendo maior concentração de linfócitos, o que facilita a infecção; além de títulos de anticorpos e carga viral (Murphy et al. 1989b, Figueroa et al. 1995, Kaplan et al. 1996, Figueroa et al. 1997, Giuliani et al. 2000).

No passado, a transfusão de sangue, ou de outros componentes sanguíneos como plaquetas, constituiu a principal fonte de infecção devido à sua eficiência, com taxa de soroconversão de 60%, no Japão (Okochi et al. 1984,

Sullivan et al. 1991, Manns et al. 1992). Além disso, essa via de infecção está ligada ao desenvolvimento das doenças associadas ao HTLV-1 após curto período de incubação (Chen et al. 1989, Osame et al. 1990). Em 1986, o Japão adotou a triagem para o vírus nos bancos de sangue, reduzindo consideravelmente a taxa de infecção (Kamihira et al. 1987, Osame et al. 1990).

A via parenteral tem adquirido relevância na transmissão do HTLV-1 pelo compartilhamento de seringas e agulhas contaminadas, principalmente, entre os usuários de drogas injetáveis. Adicionalmente, esses usuários apresentam comportamentos sexuais de risco, tornando-os um grupo vulnerável para esta infecção (Lee et al. 1990, Barcellos et al. 2006).

### 1.6.2 Prevalência

Estima-se que 15 a 25 milhões de indivíduos estejam infectados pelo HTLV em todo o mundo, sendo que 5% desses podem desenvolver doenças graves como ATL e HAM/TSP. A prevalência do HTLV varia consideravelmente de acordo com a região geográfica e grupo étnico. Além disso, observa-se o aumento da prevalência com a idade, sendo maior em mulheres, o que evidencia a maior eficiência de transmissão homem-mulher (de Thé & Kazanji 1996, Manns et al. 1999a, Edlich et al. 2000, Brasil 2004, Proietti et al. 2005).

Inicialmente, o sudoeste do Japão foi identificado como área de maior endemicidade para o HTLV-1 no mundo, com índices próximos a 30% (Mueller et al. 1996). Entretanto, a implantação de medidas de prevenção favoreceu o declínio da prevalência (Yamaguchi 2001). Outras regiões geográficas foram também identificadas como de endemicidade elevada, como a Melanésia (14%) (Yanagihara et al. 1990), alguns países africanos (superior a 5%) (Andersson et al. 1997, Proietti et al. 2005, Forbi et al. 2007), áreas do Caribe (cerca de 5%) (Reeves et al. 1988) e países da América do Sul (1% a 3%) (Leon et al. 2003, Sanchez-Palacios et al. 2003, Gastaldello et al. 2004).

Regiões de baixa endemicidade apresentam taxas inferiores a 1%, como a Europa, América do Norte, restante da Ásia e outras regiões do mundo. Entretanto, a carência de inquéritos populacionais dificulta a estimativa da real positividade para infecção pelo HTLV-1 (Catalan-Soares et al. 2001, Vrielink & Reesink 2004, Proietti et al. 2005, Carneiro-Proietti et al. 2006).

Estima-se que o Brasil seja o país com maior número absoluto de casos de infecção por HTLV-1, com cerca de dois milhões de portadores (Carneiro-Proietti et al. 2002, Catalan-Soares et al. 2005). Estudos identificaram a cidade de Salvador, Bahia, como a de maior prevalência para o HTLV-1 no País (1,7%) (Galvão-Castro et al 1997, Dourado et al. 2003). Fato que fortalece a hipótese de introdução do HTLV no Brasil por escravos africanos, já que a população de Salvador é constituída predominantemente por indivíduos afro-descendentes (Britto et al.1998).

No inquérito populacional realizado nas 26 capitais do Brasil, além do Distrito Federal, verificou-se uma distribuição heterogênea do vírus em doadores de sangue. A prevalência observada variou de 0,04% a 1%, sendo superior nas Regiões Norte e Nordeste do território nacional (Catalan-Soares et al. 2005).

No Quadro 3, estão listados os estudos sobre HTLV-1/2 realizados no Brasil nos últimos 10 anos. A prevalência varia de acordo com o grupo estudado, evidenciando o gradual aumento nas taxas de acordo com os fatores de risco da população. Na Região Centro-Oeste, a prevalência verificada em doadores de sangue variou de 0,2% a 0,7% (Catalan-Soares et al. 2005), enquanto que em gestantes em Goiás e Mato Grosso do Sul foi de 0,1% (Oliveira & Avelino 2006, Figueiró-Filho et al. 2007).

Quadro 3 – Estudos de prevalência do HTLV-1/2 no Brasil, publicados no período de 1998 a 2008.

<b>População</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>Referência</b>
População do interior da Bahia (BA)	1.536	0,3*	Britto et al. (1998)
Familiares de pacientes com ATL (Região Sudeste)	66	21,2*	Borducchi et al. (1998)
Hemofílicos (MG)	226	4,9	Carneiro-Proietti et al. (1998)
Pacientes HIV positivos (PA)	149	2,7*	Vallinoto et al. (1998)
Usuários de drogas injetáveis (BA)	216	35,2	Dourado et al. (1999)
Pacientes neurológicos (BA)	320	20,9*	Gomes et al. (1999)
Presidiários (MG)	63	1,6	Catalan-Soares et al. (2000)
Pacientes HIV positivos (SP)	499	6,0*	Etzel et al. (2001)
Usuários de drogas injetáveis (RJ)	175	12,6*	Guimarães et al. (2001)
Gestantes (BA)	6.754	0,8*	Bittencourt et al. (2001)
População Indígena (Região Norte)	1.004	0,2*	Shindo et al. (2002)
População geral (BA)	1.385	1,7*	Dourado et al. (2003)
Doadores de sangue (AC)	11.121	0,7*	Colin et al. (2003)
Doadores de sangue (CE)	264.593	0,6	Souza et al. (2003)
Gestantes (SP)	913	0,1	Olbrich Neto & Meira (2004)
Pacientes neurológicos (PA)	190	5,3*	Macêdo et al. (2004)
Imigrantes japoneses (AM)	168	2,3*	Vallinoto et al. (2004)
Pacientes HIV positivos (PR)	784	0,8*	Morimoto et al. (2005)
Pacientes testados para HIV (RS)	2.985	1,4*	Barcellos et al. (2006)
Profissionais do sexo (SC)	90	1,1*	Caterino-de-Araújo et al. (2006)



Gestantes (GO)	15.485	0,1*	Oliveira & Avelino (2006)
Doadores de sangue (BA)	104.835	0,5	Mota et al. (2006)
Doadores de sangue (PR)	28.194	0,7	Veit et al. (2006)
Quilombos afro-brasileiros semi-isolados (PA)	259	1,6*	Vallinoto et al. (2006)
Pacientes com linfoma (SP)	77	4,0	Silva et al. (2007)
Gestantes (MS)	35.512	0,1	Figueiró-Filho et al. (2007)
Pacientes dermatológicos (MG)	1.229	0,7*	Nobre et al. (2007)
Usuários de drogas (BA)	125	4,0	Nunes et al. (2007)
População de alto risco (SP)	2.312	5,8*	Jacob et al. (2008)
Gestantes (BA)	408	1,0*	Magalhães et al. (2008)
Doadores de sangue (AC)	219	0,5*	Mota-Miranda et al. (2008)
Mulheres lactantes (PB)	1.033	0,7*	Pimenta et al. (2008)

\* HTLV-1

### 1.6.3 Distribuição dos subtipos

O subtipo HTLV-1a ou Cosmopolita está distribuído mundialmente (Figura 3), sendo encontrado em áreas endêmicas e não endêmicas para a infecção. Por análise filogenética, verificou-se a ocorrência de agrupamentos de isolados de acordo com a região geográfica, dando origem a subgrupos (Miura et al. 1994, Vandamme et al. 1994). O subgrupo A ou Transcontinental circula em diversas regiões do mundo. Por outro lado, o subgrupo B foi encontrado no Japão e Índia, o C no oeste da África e Caribe, o D no norte da África e o subgrupo E no Peru (Miura et al. 1994, Yamashita et al. 1996, Carneiro-Proietti et al. 2006).

Os demais subtipos (b-g) encontram-se distribuídos em áreas ou grupos restritos. A África é o continente com maior diversidade de subtipos, sendo encontrado o 1b na África Central, 1d e 1g em Camarões, 1e em pigmeus do Congo e 1f de Gabão (Vandamme et al. 1994, Mahieux et al. 1997, Salemi et al. 1998, Rego et al. 2008). A estreita relação de subtipos do HTLV-1 e STLVs, bem

como a proximidade da população africana com espécies de macacos por meio da caça sugerem a sucessão de transmissões interespecie de PTLVs (Salemi et al. 1998).

O subtipo c ou Melanésico é o mais divergente com heterogeneidade superior a 11% nas suas sequências de nucleotídeos. É restrito a áreas da Melanésia e Austrália. Foi isolado de habitantes da Papua Nova Guiné e Ilhas Salomão (Yamashita et al. 1996, Cassar et al. 2005).

Na América do Sul, inclusive no Brasil, o subtipo 1a, subgrupo Transcontinental, é predominante (Balcázar et al. 2003, Carneiro-Proietti et al. 2006, Mota et al. 2007, Zehender et al. 2007). Tal distribuição é, provavelmente, resultante da extensa migração de africanos devido ao comércio de escravos no Novo Mundo por volta dos séculos XVII e XVIII (Rego et al. 2008), apesar de estudos indicarem prévia introdução do retrovírus por asiáticos que atravessaram o estreito de Bering (Yamashita et al. 1998, Kashima et al. 2006). Adicionalmente, o subgrupo B chegou à América Latina por imigração japonesa no início do século XX (Vallinoto et al. 2004, de Queiroz et al. 2007).

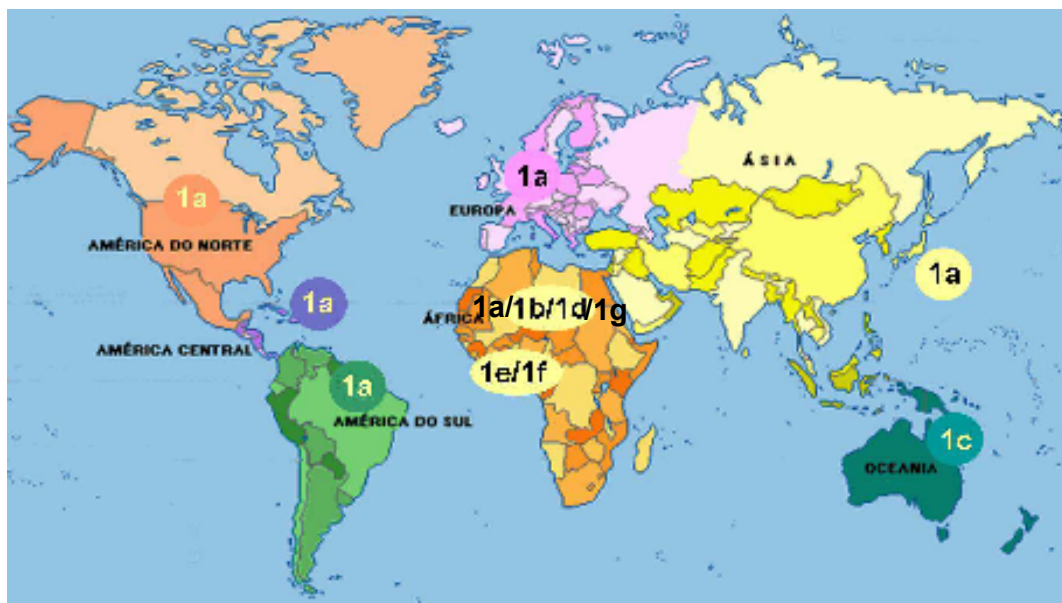


Figura 3 – Distribuição geográfica dos subtipos de HTLV-1

Fonte: Lima 2006 (modificada)

## 1.7 Prevenção e controle da infecção pelo HTLV-1

A baixa variabilidade genômica do HTLV-1 apresenta-se como principal ponto favorável para elaboração de vacinas contra a infecção. No entanto, o desenvolvimento desse imunobiológico ainda enfrenta alguns obstáculos. Os estudos utilizam peptídeos com epítomos recombinantes de regiões do genoma para indução de anticorpos neutralizantes contra *env* e imunidade celular contra *gag*. Contudo, a definição da composição dos epítomos e a não disponibilidade de um modelo animal adequado são fatores limitantes para o desenvolvimento da vacina (de Thé & Kazanji 1996, Kazanji et al. 2006).

A implantação da triagem para o HTLV nos bancos de sangue representa a principal medida de prevenção da infecção. O Japão foi o primeiro país a implantar a triagem para o vírus, seguido dos Estados Unidos em 1988 (Kamihira et al. 1987, Osame et al. 1990, Sullivan et al. 1991). Atualmente, diversos países utilizam a metodologia de ELISA para testagem do sangue e seus componentes (Carneiro-Proietti et al. 2006). No Brasil, a portaria nº 1.376 de 19 de novembro de 1993 torna obrigatória a triagem para HTLV-1/2 em todos os bancos de sangue do território nacional (Brasil 1993).

A transmissão vertical representa a principal fonte de manutenção da infecção em áreas endêmicas. Assim, as gestantes podem ser consideradas importantes elementos na cadeia de transmissão do vírus. A triagem das gestantes, a suspensão do aleitamento materno ou a redução no tempo de amamentação das crianças de mães positivas são medidas que reduzem consideravelmente o risco de transmissão do HTLV por essa via (Kashiwagi et al. 2004). No Brasil, Programas de Proteção à Gestante estão sendo implantados em alguns estados (Goiás, Mato Grosso do Sul e Alagoas), para conhecimento do status sorológico da mãe e adequado aconselhamento pré e pós-parto (Dal Fabbro et al. 2008).

Além disso, medidas relacionadas ao sexo seguro devem ser tomadas considerando a eficiência da transmissão por essa via. O conhecimento do status sorológico do indivíduo, estratégias de aconselhamento, o uso de preservativo regularmente e a diminuição do número de parceiros sexuais são estratégias

fundamentais para o controle do HTLV-1 (Figuerola et al. 1997, Carneiro-Prietti et al. 2006).

Outras medidas devem ser tomadas como o não compartilhamento de seringas e agulhas, principalmente por usuários de drogas, e o esclarecimento dos profissionais de saúde reforçando a necessidade do uso das Precauções-Padrão instituídas (Lee et al. 1990, Edlich et al. 2000).

Considerando a distribuição mundial do vírus, a relevante morbimortalidade das doenças associadas à infecção pelo HTLV-1 e a falta de tratamento eficaz e vacina, ressalta-se a importância de estratégias de saúde pública que visem à diminuição da transmissão do vírus e esclarecimento da população a respeito da infecção (Carneiro-Poiatti et al. 2006, Verdonck et al. 2007).

### **1.8 Remanescentes de quilombos no Brasil Central**

A partir de 1500, a colonização do Brasil foi iniciada pela chegada de portugueses que utilizaram a abundância da terra para o plantio da cana-de-açúcar, principal mercadoria de exportação do País. Esse cultivo e a consequente necessidade de mão-de-obra impulsionaram o comércio de escravos da África para o Brasil (Ministério da Educação 2001).

No século XVI, os africanos chegaram ao Brasil em navios negreiros provenientes da costa ocidental, oriental e noroeste do continente africano. Ao desembarcarem nos portos, eram levados aos mercados de escravos e assim distribuídos por todo litoral para trabalharem nos engenhos e fazendas de gado (Ministério da Educação 2001).

A escravidão no Brasil Central se efetivou no início do século XVIII pelo “tráfico interno”, com a atividade de bandeirantes e aventureiros na exploração de minérios. Nessa região, houve predominância de povos bantos, procedentes do Zaire, Angola, Congo e Moçambique, além de Sudaneses da Nigéria, Costa do Ouro e Gâmbia (Figura 4) (Silva 2003).

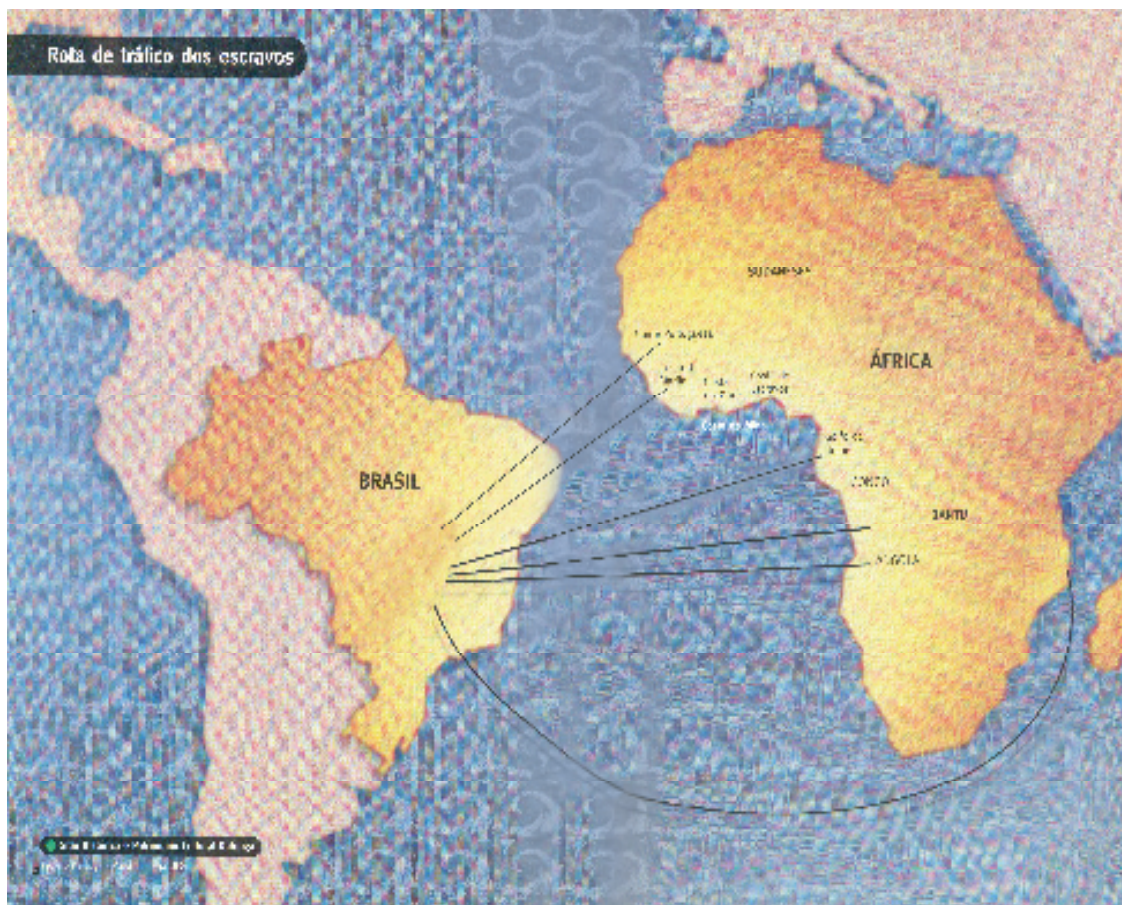


Figura 4 - Rota do tráfico de escravos da África para o Brasil

Fonte: Baiocchi 1999 (modificada)

O ciclo do ouro e, posteriormente a pecuária, promoveram a ocupação desordenada do interior do País em busca de riquezas conquistadas pelo trabalho árduo de escravos. Os castigos impiedosos, as condições desumanas de alimentação, trabalho e moradia, associados à falta de liberdade levaram os escravos a promoverem movimentos de resistência (Ministério da Educação 2001, Silva 2003).

A característica do relevo regional, formado por vales, serras e extensa rede fluvial, favoreceu a união de escravos fugidos em locais de difícil acesso. Esses agrupamentos se organizaram em sociedades alternativas conhecidas como “quilombos” que, além da liberdade, buscavam o resgate dos valores culturais africanos (Leite 2000, Silva 2003, Seppir 2005).

A Associação Brasileira de Antropologia define quilombo como: “toda comunidade negra rural que agrupe descendentes de escravos vivendo da agricultura de subsistência e onde as manifestações culturais têm forte vínculo com o passado” (Silva 2003).

O surgimento de quilombos significou a luta para a sobrevivência física e cultural de escravos fugidos e a preservação da dignidade de seus descendentes. Mesmo após a abolição da escravidão (1888), muitas comunidades permanecem agregadas até os dias atuais, afastadas de centros urbanos com manutenção de práticas de resistência e identidade étnica singular, sendo denominadas de remanescentes de quilombos (Seppir 2005).

Segundo levantamento realizado pela Fundação Cultural Palmares, do Ministério da Cultura, existem comunidades remanescentes de quilombos em praticamente todos os estados brasileiros, sendo que 3.524 foram mapeadas. O Governo Federal vem intensificando estratégias e ações desde a Constituição Federal de 1988 com o objetivo de assegurar o direito à preservação da cultura, identidade e titulação das terras dos quilombolas (Seppir 2008).

#### 1.8.1 Remanescentes de quilombos em Goiás

Na região nordeste do Estado de Goiás, a 600 quilômetros (Km) da capital, situa-se a maior comunidade quilombola do Brasil. A população Kalunga, composta por aproximadamente 3.000 habitantes, ocupa área de 237.000 hectares nos municípios de Cavalcante, Teresina de Goiás e Monte Alegre (Figura 5) (Baiocchi 1999).

A origem bantu africana da palavra Kalunga nos remete ao significado de divindade do culto bantu ou campo sagrado para repouso dos ancestrais. Para os moradores locais, Kalunga é “um lugar sagrado que não pode pertencer a uma só pessoa ou família” (Baiocchi 1999).

Escravos africanos, trazidos do nordeste do País para as minas de Goyas e Tocantins, durante o ciclo do ouro, refugiaram-se às margens do rio Paraná, nas regiões de vãos e serras e, por volta de 1722, foi fundada a comunidade afrodescendente Kalunga (Baiocchi 1999, Silva 2003). Os Kalungas se estabeleceram em propriedades mais ou menos isoladas do vasto território, formando quatro

núcleos principais de população: a região da Contenda, Vão do Kalunga, Vão de Almas, Vão do Moleque e Ribeirão dos Bois (Ministério da Educação 2001). Desde 1962, sabia-se da existência da comunidade, porém somente em 1982 foi possível sua descrição por estudos antropológicos apoiados pela Universidade Federal de Goiás, sendo que em 1991, a lei nº. 11.469 instituiu-se o “Sítio Histórico e Patrimônio Cultural Kalunga” (Baiocchi 1999).

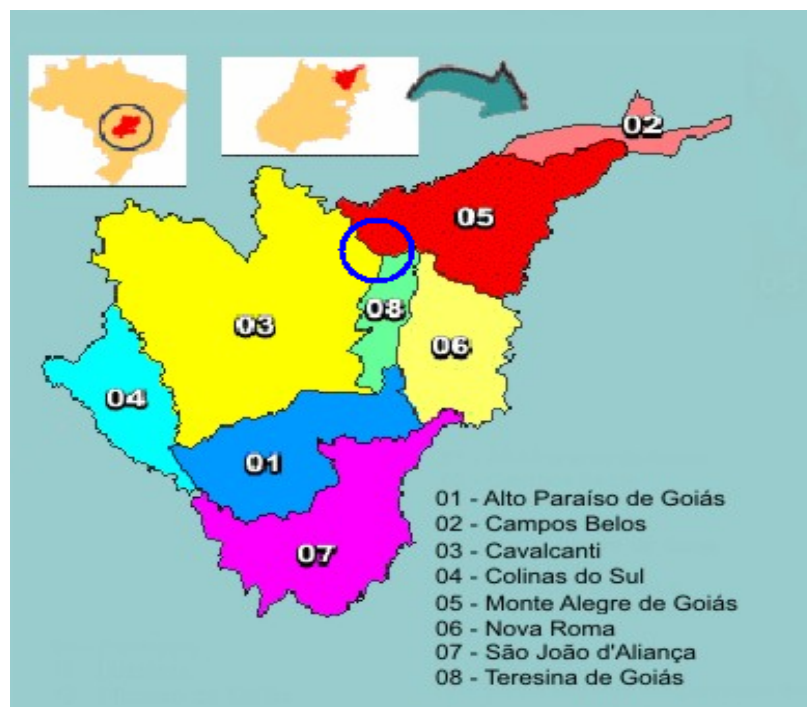


Figura 5 - Localização geográfica da comunidade Kalunga

Fonte: [http://www.agdr.goias.gov.br/prog\\_desenv\\_nordeste.htm](http://www.agdr.goias.gov.br/prog_desenv_nordeste.htm)

Cerca de 90% do território Kalunga permanece intacto (Cântia & Boloni 2004). A população é preservada até os dias atuais devido ao difícil acesso, bem como ao fortalecimento dos laços de parentesco promovido por casamentos entre primos de segundo e terceiro graus e à preservação da cultura, tradições e festas (Ministério da Educação 2001).

#### 1.8.2 Remanescentes de quilombos em Mato Grosso do Sul

No Estado de Mato Grosso do Sul, diversas comunidades menores remanescentes de quilombos foram identificadas tendo como atividade básica a



agricultura de subsistência, com preservação da cultura, tradições e rituais de seus antepassados africanos. Essas comunidades foram formadas a partir do ano de 1820, período da pecuária extensiva, onde se intensificou a migração de escravos para a região (Silva 2003) (Figura 6).



Figura 6 - Distribuição geográfica das comunidades quilombolas de Mato Grosso do Sul Fonte: Motta-Castro *et al.* 2005 (modificada)

“Furnas da Boa Sorte” é uma das principais comunidades que conservam as características de seus ancestrais. Os escravos libertos ou fugidos de Minas Gerais, Rio de Janeiro e Goiás se estabeleceram, no final do século XIX, nas furnas da serra de Maracaju a 24 km do município de Corguinhos. Hoje, cerca de 250 pessoas vivem na comunidade (Silva 2003).

Estima-se que “Furnas dos Dionísios”, situada no município de Jaraguari, a 50 km da capital, Campo Grande, que abriga mais de 100 famílias, tenha cerca de 140 anos de existência (Silva 2003).



No norte de Mato Grosso do Sul, no município de Aquidauana, a 240 km de Campo Grande, cerca de 17 famílias descendentes de escravos procedentes de Minas Gerais constituem a comunidade “Furnas dos Baianos”. Já no centro do Estado, no município de Camapuã, a 200 km da capital, 30 famílias divididas em dois núcleos populacionais constituem a comunidade de “Malaquias” (Silva 2003).

A população rural de “São Miguel”, também conhecida como “Vista Alegre”, constituída por 11 famílias, pertence ao município de Maracaju a sudoeste de Campo Grande, enquanto que a urbana pertence a Nioaque a 180 km da capital (Silva 2003, Motta-Castro, comunicação pessoal).

Situada no perímetro urbano de Campo Grande “São Benedito” é a principal comunidade negra da capital do Estado, fundada no início do século XIX por escravos procedentes do sudoeste de Goiás. Ainda nesse perímetro urbano, “Morro do Limão” abriga 10 famílias afro-brasileiras (Silva 2003, Motta-Castro, comunicação pessoal).

A comunidade “Quintinos”, localizada no município de Pedro Gomes, a 450 km de Campo Grande, é formada por cerca de 50 pessoas distribuídas em 10 famílias (Motta-Castro, comunicação pessoal).

As comunidades quilombolas “Amarelinhos”, “Jerônimos” e “Orolândia” estão localizadas nos municípios de Sidrolândia, Terenos e Rio Negro, respectivamente, sendo a última constituída por familiares provenientes da Bahia (Motta-Castro, comunicação pessoal).

## 1.9 Justificativa

Estima-se que 15 a 25 milhões de indivíduos estejam infectados pelo HTLV, sendo que a prevalência varia consideravelmente com a região geográfica e grupo étnico. Estudos têm mostrado o continente africano como área endêmica com ampla diversidade genética de isolados virais (Edlich et al. 2000, Proietti et al. 2005, Diop et al. 2006, Etenna et al. 2008).

O Brasil pode ser considerado o país com maior número absoluto de casos de infecção pelo HTLV-1, sendo a cidade de Salvador, constituída predominantemente por afro-brasileiros, a que apresenta a maior prevalência dessa infecção no País (Dourado et al. 2003, Catalan-Soares et al. 2005). No Brasil Central, são raros os estudos epidemiológicos para essa infecção (Oliveira & Avelino 2006, Figueiró-Filho et al. 2007).

Investigações de variabilidade genômica do vírus têm revelado informações epidemiológicas importantes a respeito da migração de populações humanas e da transmissão viral, sendo os mesmos escassos no Brasil (Vallinoto et al. 2004, Azran et al. 2004) e, inexistentes em nossa região.

Considerando a possível origem africana do HTLV-1 e que várias comunidades remanescentes de quilombos no Brasil Central permanecem como isoladas ou semi-isoladas, bem como a inexistência de estudos epidemiológicos e moleculares para o HTLV nessas comunidades, a presente dissertação foi desenvolvida com o intuito de conhecer o perfil epidemiológico e molecular dessa infecção em remanescentes de quilombos do Brasil Central, além de investigar a variabilidade genética das amostras virais circulantes nestas comunidades, possibilitando elucidar os possíveis mecanismos envolvidos na disseminação deste vírus, para que ações de saúde visando à prevenção e controle desta virose sejam adequadamente planejadas.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

- O presente estudo teve como objetivo geral investigar o perfil epidemiológico e molecular da infecção pelo HTLV em remanescentes de quilombos no Brasil Central, visando proporcionar informações para prevenção e controle dessa infecção na população estudada.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Estimar a prevalência da infecção pelo HTLV em remanescentes de quilombos no Brasil Central;
- Verificar as características de risco nos indivíduos infectados;
- Identificar os subtipos virais circulantes nestas comunidades;
- Associar a variabilidade genômica dos isolados virais obtidos com possíveis mecanismos de transmissão desta infecção na população estudada.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Delineamento**

Estudo observacional, de corte transversal realizado em remanescentes de quilombos no Brasil Central.

#### **3.2 População-alvo e amostra**

Em Goiás, os Kalungas, ocupam uma área de 237 mil hectares nos municípios de Cavalcante, Teresina de Goiás e Monte Alegre de Goiás. Em Mato Grosso do Sul, são doze as comunidades de afro-descendentes: Furnas dos Dionísios (município de Jaguari); Furnas da Boa Sorte (município de Corguinho); Quintinos (município de Pedro Gomes); Malaquias (município de Camapuã); Orolândia (município de Rio Negro); Furnas dos Baianos (município Aquidauana); Jerônimos (município de Terenos); Morro do Limão (município de Campo Grande); São Benedito (município de Campo Grande); São Miguel (município de Maracajú); São Miguel (município de Nioaque) e Amarelinho (município de Sidrolândia). A população total é constituída por aproximadamente 4.500 indivíduos.

Para obter uma prevalência estimada de 0,3%, com uma precisão de 0,2%, fez-se necessário estudar o mínimo de 1.757 indivíduos, considerando um poder estatístico de 80% ( $\beta=0,20$ ) e nível de significância de 95% ( $\alpha=0,05$ ). Assim sendo, a amostra deste estudo foi constituída de 1.837 indivíduos.

Inicialmente foram realizadas visitas às comunidades com o objetivo de conhecer a realidade local e divulgar a importância do estudo junto à população-alvo. Nesta ocasião, foram agendados os locais (escolas e centros comunitários) e o período para coleta de dados e amostras sanguíneas. Todos os remanescentes de quilombos que compareceram aos locais previamente definidos foram recrutados de forma sucessiva de acordo com a ordem de chegada (amostra de conveniência).

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Materno Infantil (Protocolo CEPHA – HMI nº 025/05).

### 3.3 Entrevista e coleta de sangue

As entrevistas foram realizadas, de julho de 2004 a julho de 2005, aos finais de semana, após informação prévia da população sobre os objetivos, metodologia da pesquisa e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, ou da coleta de impressão digital dos indivíduos analfabetos. Para menores de idade, o referido termo foi assinado pelos pais ou responsáveis. Foi utilizado um questionário padronizado para obtenção de dados sócio-demográficos (idade, sexo, estado civil, grau de instrução, ocupação e renda familiar) e possíveis fatores associados à infecção pelo HTLV (aleitamento materno, números de parceiros sexuais, relato de doenças sexualmente transmissíveis, transfusão de sangue e uso de drogas injetáveis).

Em seguida, foram obtidas as amostras de sangue (10 ml) de cada participante por punção da veia cubital. As amostras sanguíneas foram centrifugadas, sendo os soros separados em duas alíquotas, identificados com o número do registro de cada participante e congelados a -20°C. As amostras de soro foram transportadas para o Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (IPTSP/UFG), onde foram armazenadas nas mesmas condições, até a realização dos testes sorológicos.

Posteriormente, retornamos às comunidades para coletar uma segunda amostra dos indivíduos soro reagentes visando à confirmação por *western blot*, bem como a realização dos testes moleculares. As amostras sanguíneas obtidas foram distribuídas em dois tubos, sendo um sem anticoagulante, cujo conteúdo foi centrifugado e o soro separado em duas alíquotas identificadas e, em outro tubo contendo anticoagulante (etilenodiaminotetra cético -EDTA), resultando em mais duas alíquotas de sangue total. Todas as alíquotas foram armazenadas a -20°C até a realização dos ensaios.

### 3.4 Testes Sorológicos

#### 3.4.1 Ensaio de triagem

Inicialmente, todas as amostras de soro foram testadas para a detecção de anticorpos contra HTLV-I e HTLV-2 pelo ensaio imunoenzimático (ELISA), empregando-se reagentes comerciais (Murex HTLV-I+II, GE80/81, Murex Diagnostics, UK). Este teste consiste em um ELISA qualitativo de terceira geração.

Em microplaca, as amostras e controles foram incubados em câmaras revestidas com proteínas transmembrana e peptídeos sintéticos do envelope de ambos os vírus, além de uma proteína transmembrana recombinante do HTLV-2. Após a lavagem, o conjugado (antígenos de HTLV marcados com peroxidase) foi adicionado e, novo procedimento de incubação, seguido de lavagem foram realizados. A solução cromógena de tetrametilbenzidina (TMB) juntamente com o substrato da enzima (peróxido de hidrogênio) foram adicionados, resultando na cor púrpura nas câmaras que apresentavam anticorpos específicos (controle positivo e amostras soro reagentes). A reação foi interrompida pela adição de ácido sulfúrico, sendo a intensidade da coloração laranja final diretamente relacionada à concentração de anticorpos detectados.

Conforme as instruções do fabricante, a leitura espectrofotométrica da reação foi realizada utilizando um filtro de 450 nm. Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram absorbâncias maiores ou igual ao valor do *cut-off*, obtido pela média das absorbâncias dos controles negativos + 0,200.

#### 3.4.2 Ensaio confirmatório

A segunda amostra obtida dos indivíduos soro reagentes por ELISA foi testada pelo ensaio confirmatório *western blot*, empregando-se reagentes comerciais (HTLV Blot 2.4, Genelabs, Cingapura). Esse ensaio utiliza fitas individuais de nitrocelulose contendo proteínas virais nativas e recombinantes das regiões *gag* e *env* do HTLV-1 e 2, para confirmar e diferenciar a reatividade para os vírus. A diferenciação é feita por meio das proteínas recombinantes MTA-1 e K55, exclusivas do HTLV-1 (rgp-I) e HTLV-2 (rgd-II), respectivamente.

As amostras e controles foram adicionados às fitas re-hidratadas com solução tampão. Após incubação, procedeu-se a lavagem de cada tira e a adição do conjugado (anticorpo caprino anti-IgG humana conjugado à fosfatase alcalina). Após nova incubação e lavagem, foi adicionado o substrato (5 bromo - 4 cloro - 3 indolil - fosfato - BCIP e azul de nitrotetrazólio –NBT) e, sob agitação, observou-se o aparecimento de bandas nas tiras reagentes. A reação foi interrompida pela remoção do substrato e enxágue das fitas. Os resultados foram interpretados conforme as instruções do fabricante (Quadro 4)

Quadro 4 - Interpretação dos resultados no teste *Western Blot*

Interpretação	Padrão
Soronegativo	Ausência de reatividade às proteínas específicas do HTLV
Soropositivo para HTLV-1	Reatividade às proteínas codificadas pelo gene <i>gag</i> (p19 e/ou p24) e <i>env</i> (GD21 e rgp46-I)
Soropositivo para HTLV-2	Reatividade às proteínas codificadas por <i>gag</i> (p19 e/ou p24) e <i>env</i> (GD21 e rgp46-II)
Soropositivo para HTLV	Reatividade às proteínas codificadas por <i>gag</i> (p19 e p24) e <i>env</i> (GD21)
Indeterminado	Reatividade com bandas específicas para o HTLV, mas que não preenchem os critérios de soropositividade para HTLV-1, HTLV-2 ou HTLV

### 3.5 Testes Moleculares

#### 3.5.1 Extração do DNA

Amostras de sangue total dos indivíduos, com resultados soro reagentes ou indeterminados no teste confirmatório, foram submetidas à extração do DNA utilizando os reagentes da Qiagen (QIAamp DNA Minikit, Qiagen, Hilden), de acordo com as instruções do fabricante.

As amostras de sangue total dos pacientes foram adicionadas nos tubos contendo proteinase K e tampão de lise, procedendo a homogeneização das mesmas e incubação. Em seguida, adicionou-se o etanol e efetuou-se uma breve centrifugação. A solução foi transferida para o dispositivo da coluna e, após centrifugação e troca de sua base, foi acrescentado o tampão de lavagem 1, sendo então, centrifugada. Novo procedimento de lavagem, entretanto com o tampão de lavagem 2, foi realizado seguido de centrifugação.

O DNA retido na coluna foi eluído, em duas etapas, pela adição do tampão de eluição e, posterior incubação em temperatura ambiente e centrifugação, resultando em duas séries de tubos armazenados a - 20° C.

O DNA obtido foi amplificado com iniciadores do gene mitocondrial (mtDNA) humano pela reação em cadeia da polimerase (PCR), para avaliar a qualidade da extração e certificar a presença do DNA humano.

#### 3.5.2 *Nested*-PCR

O DNA viral foi amplificado por *nested*-PCR com iniciadores para as regiões *tax* (Quadro 5) e LTR (Quadro 6) do genoma do HTLV-1.



Quadro 5 - Iniciadores específicos para a região *tax* do HTLV-1

Iniciadores		Sentido	Localização	Seqüência 5'-3'
externos	Taxhtlv1f1	Sense	7280 - 7299	TCGAAACAGCCCTGCAGATA
	Taxhtlv1r2	Antisense	8397 - 8416	AGACGTCAGAGCCTTAGTCT
internos	Taxhtlv1f2	Sense	7297 - 7316	ATACAAAGTTAACCATGCTT
	Taxhtlv1r1	Antisense	8470 - 8490	TGAGCTTATGATTTGTCTTCA

Quadro 6 - Iniciadores para a região LTR do HTLV-1

Iniciadores		Sentido	Localização	Seqüência 5'-3'
externos	Hfl1	Sense	24 - 39	GACAATGACCATGAGC
	Hfl6	Antisense	881 - 901	GTTAAGCCAGTGATGAGCGGC
internos	Hfl9	Sense	124 - 144	AAGGCTCTGACGTCTCCCCC
	Hfl10	Antisense	779 - 796	TCCCGGACGACGAGCCCCAA

Na primeira PCR, além dos iniciadores externos, as reações de amplificação (*tax* e LTR) foram constituídas de dNTP's (deoxinucleotídeos trifosfatados), tampão, MgCl<sub>2</sub> (cloreto de magnésio), Taq DNA polimerase (Promega) e água miliQ, resultando no volume de 46 µl. Quatro µl do DNA de cada amostra, bem como os controles negativo e positivo, foram adicionados à mistura da reação e, em seguida, levados ao termociclador (MasterCycler Eppendorf AG 22331 Hamburg) com o seguinte programa: 96°C por 3 minutos (desnaturação inicial), 40 ciclos de 96°C por 30 segundos, 50°C por 30 segundos e 72°C por 1 minuto e 30 segundos (desnaturação, anelamento e extensão, respectivamente).

A segunda PCR foi realizada empregando-se os iniciadores internos correspondentes às regiões selecionadas e os demais reagentes descritos anteriormente, substituindo a adição do DNA extraído pelo produto final da primeira etapa. No termociclador, foi utilizado o mesmo programa descrito na primeira etapa.

### 3.5.3 Eletroforese em gel de agarose

Os produtos da segunda PCR foram submetidos à eletroforese e, visualizados em gel de agarose a 1,5% em tampão TAE (Tris-Acetato EDTA), corado com brometo de etídeo, sob luz ultravioleta com auxílio de um transluminador, e comparados aos controles positivos (1.194 pb e 673 pb para as regiões tax e LTR, respectivamente).

### 3.5.4 Sequenciamento e análise filogenética

Inicialmente, os produtos da PCR para a região LTR foram purificados utilizando-se o Kit Montage PCR Centrifugal Filter Devices (Millipore), conforme as instruções do fabricante. Os produtos purificados foram diretamente sequenciados utilizando-se os iniciadores para a região LTR e o Kit BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems Foster City, CA, USA). No termociclador, foram programados 25 ciclos de 96°C por 10 segundos, 50°C por 5 segundos e 60°C por 4 minutos.

As sequências obtidas foram lidas e editadas pelo programa CHROMAS versão 1.45 (Griffith University). Em seguida, as mesmas foram alinhadas usando o programa *Clustal W*. Para análise filogenética, foi construída uma árvore pelo método de *Neighbor-joining*, usando o programa Paup v.1.4. Os subtipos das amostras do HTLV-1 deste estudo foram determinados acrescentando-se sequências de referência representativas dos principais subtipos do vírus, disponíveis no GenBank.

### **3.6 Processamento e análise dos dados**

Os dados das entrevistas e os resultados dos testes sorológicos e moleculares foram digitados em microcomputador e analisados no programa “Epi Info 6” versão 3.04 (2007), desenvolvido pelo “Centers for Disease and Control”, Estados Unidos da América. A prevalência foi calculada com intervalo de confiança de 95%.

## **4. RESULTADOS**

### **4.1 Características da população estudada**

Em relação aos dados sócio-demográficos da população remanescente de quilombos estudada, observou-se que a idade variou de 1 a 108 anos, com média de 29 anos (desvio padrão: 20,1) e a distribuição por faixa etária é mostrada na Tabela 1. A maioria era do sexo feminino (56,3%).

Quanto ao estado civil, 42,1% eram casados ou unidos consensualmente, 34,8% solteiros e 23,1% eram separados ou viúvos.

A maior parte dos indivíduos estudados (62,6%) cursou ou estava cursando o ensino fundamental, 13,6% o ensino médio e apenas 1,8% o ensino superior. Outrossim, 22% não apresentavam qualquer grau de instrução.

Quanto à ocupação, 45,6% eram lavradores, 20,3% do lar, 13,2% estudantes e 20,9% relataram outra ocupação como aposentados, professores, dentre outras. Com relação à renda familiar, 55% dos indivíduos referiram renda menor que um salário mínimo.

**Tabela 1 - Características sócio-demográficas dos 1.837 remanescentes de quilombos estudados no Brasil Central**

<b>Característica</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Média de Idade (dp) 29 anos (20,1)</b>		
<b>Faixa etária (anos)</b>		
<10	380	20,7
11 - 20	408	22,2
21 - 30	269	14,7
31 - 40	267	14,5
41 - 50	201	10,9
51 - 60	160	8,7
>60	152	8,3
<b>Sexo</b>		
Feminino	1035	56,3
Masculino	802	43,7
<b>Estado Civil*</b>		
Solteiro	471	34,8
Casado / União Consensual	569	42,1
Separado / Viúvo	312	23,1
<b>Grau de instrução**</b>		
Nenhum	361	22,0
Ensino Fundamental	1026	62,6
Ensino Médio	222	13,6
Ensino Superior	29	1,8
<b>Ocupação***</b>		
Lavrador	578	45,6
Do Lar	258	20,3
Estudante	168	13,2
Outra	265	20,9
<b>Renda Familiar</b>		
< 1 salário mínimo	1010	55,0
≥ 1 salário mínimo	827	45,0

dp = desvio padrão \*Foram considerados indivíduos acima de 12 anos (n=1352) \*\*Foram considerados apenas indivíduos acima de 6 anos (n=1638) \*\*\*Foram considerados apenas indivíduos acima de 14 anos (n=1269)

Quanto às características de risco para a infecção pelo HTLV na população estudada, verificou-se que 28,7% relataram múltiplos parceiros sexuais, 12,9% antecedentes de DST e 7,5% transfusão de sangue (Tabela 2). Além disso, todos os entrevistados referiram história de aleitamento materno. Por outro lado, não se observou relato de uso de drogas injetáveis nesta população (dados não mostrados).

**Tabela 2 - Características de risco para infecção pelo HTLV relatadas pelos remanescentes de quilombos estudados no Brasil Central**

<b>Característica</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Nº de parceiros sexuais*</b>		
Nenhum	201	14,9
<5	763	56,4
>5	388	28,7
<b>Doença Sexualmente Transmissível**</b>		
Não	1003	87,1
Sim	148	12,9
<b>Transfusão de sangue</b>		
Não	1698	92,4
Sim	138	7,5
S/inf	1	0,1

\*Foram consideradas apenas indivíduos acima de 12 anos (n=1352) \*\*Foram considerados apenas indivíduos que relataram atividade sexual (n=1151)

#### 4.2 Detecção de anticorpos anti-HTLV e do DNA viral

Inicialmente, as 1.837 amostras da população remanescente de quilombos foram triadas para detecção de anticorpos para HTLV-1 e HTLV-2, sendo nove reagentes pelo ELISA. Em seguida, coletou-se uma segunda amostra dos indivíduos soro reagentes visando à confirmação por *western blot*. Das nove amostras anti-HTLV reagentes pelo ELISA, oito (88,9%) foram positivas para o HTLV-1 e uma (11,1%) indeterminada para HTLV1/2 no *western blot* (Figura 7).

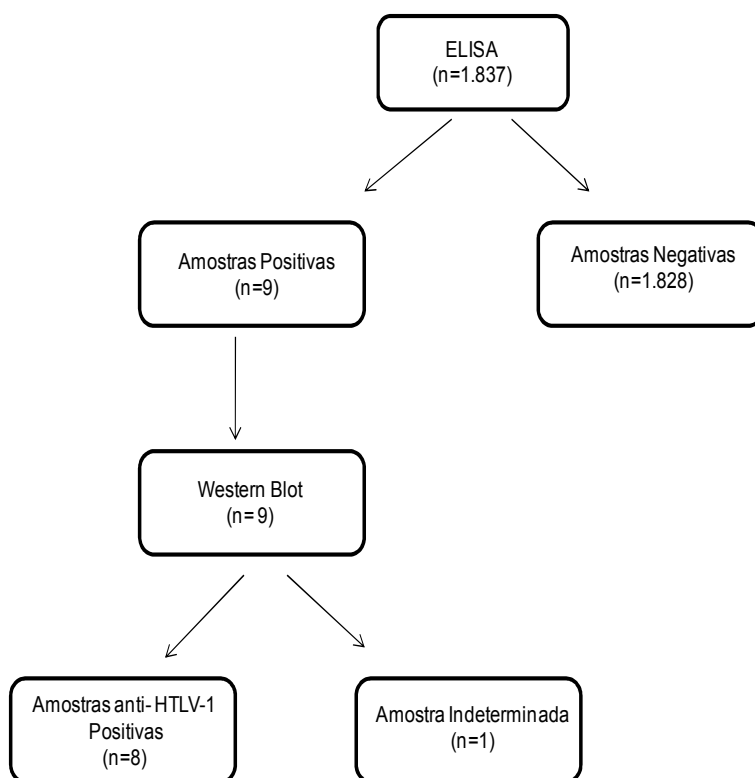


Figura 7 – Fluxograma dos testes sorológicos realizados para anti-HTLV

Na Tabela 3, observa-se que as nove amostras anti-HTLV reagentes (ELISA) apresentaram reatividade com as proteínas codificadas por *gag* (p19 e p24) no *western blot*, bem como para as proteínas codificadas por *env*, exceto a amostra K-245 (indeterminada). Verificou-se que as oito amostras positivas foram classificadas como HTLV-1, tendo em vista a reatividade para GD21 e rgp-46I. Nenhuma amostra apresentou anticorpos para a proteína rgp-46II, que é específica para o HTLV-2

**Tabela 3 – Reatividade sorológica das amostras ELISA soro reagentes para as proteínas do HTLV pelo *western blot***

Proteínas do HTLV	Amostras								
	K-245	K-344	K-535	K-710	BS-1	BS-71	BS-130	BS-131	BS-132
p19	+	+	+	+	+	+	+	+	+
p24	+	+	+	+	+	+	+	+	+
GD21	-	+	+	+	+	+	+	+	+
rgp-46I	-	+	+	+	+	+	+	+	+
rgp-46II	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Conclusão</b>	<b>Ind.</b>	<b>HTLV-1</b>	<b>HTLV-1</b>	<b>HTLV-1</b>	<b>HTLV-1</b>	<b>HTLV-1</b>	<b>HTLV-1</b>	<b>HTLV-1</b>	<b>HTLV-1</b>

Ind: Indeterminado

As amostras ELISA reagentes para HTLV foram submetidas também à detecção do HTLV-DNA para as regiões *tax* e LTR (Tabela 4). Das oito amostras testadas para o DNA viral, sete foram positivas para as duas regiões. A amostra K-245, com padrão indeterminado no *western blot*, foi positiva para a região *tax* e negativa para LTR. Assim, nove amostras foram positivas nos testes confirmatórios (*western blot* e/ou PCR), resultando em uma prevalência de 0,5% (IC 95% 0,2-1,0) para a infecção pelo HTLV-1.



**Tabela 4 – Detecção de anticorpos anti-HTLV por *western blot* e do DNA viral pela PCR nas nove amostras ELISA soro reagentes**

Amostras	Anti-HTLV-1 ( <i>western blot</i> )	HTLV- DNA	
		<i>Tax</i>	LTR
K-245	Ind.	+	-
K-344	+	+	+
K-535	+	+	+
K-710	+	+	+
BS-1	+	+	+
BS-71	+	+	+
BS-130	+	NT	NT
BS-131	+	+	+
BS-132	+	+	+

Ind: Indeterminado; NT: Não testado (amostra insuficiente)

### 4.3 Características de risco para a infecção pelo HTLV-1

A Tabela 5 apresenta as características de risco para infecção pelo HTLV nos indivíduos infectados. Observou-se que a idade variou de 11 a 82 anos, sendo a maioria do sexo feminino, quatro residentes em Goiás e cinco em Mato Grosso do Sul. Todos os indivíduos infectados relataram que foram amamentados. Além disso, foram referidas as seguintes características de risco: antecedentes de transfusão de sangue (2/9), sendo um episódio anterior a 1993 (antes da triagem para anti-HTLV em bancos de sangue) e outro em 1998. A idade da primeira relação sexual foi informada por seis indivíduos, variando de 13 a 20 anos. O número de parceiros sexuais relatado variou de um a mais de 15 parceiros, sendo que houve apenas um relato de história de doença sexualmente transmissível (DST).

Além destes dados, constatou-se que os indivíduos da comunidade de Boa Sorte (BS) são membros de uma mesma família. A relação de parentesco dos familiares de remanescentes de quilombos infectados pelo HTLV-1 de Mato Grosso do Sul e Goiás estão representados nas Figuras 8 e 9, respectivamente.

**Tabela 5 - Características de risco para a infecção pelo HTLV relatadas pelos remanescentes de quilombos infectados no Brasil Central**

Características	Remanescentes de quilombos								
	K-245	K-344	K-535	K-710	BS-1	BS-71	BS-130	BS-131	BS-132
Idade (anos)	42	61	82	71	32	11	63	55	27
Sexo	M	F	F	F	F	F	M	F	F
Localidade	GO	GO	GO	GO	MS	MS	MS	MS	MS
Foi amamentado	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Tempo de amamentação	S/inf	< 6 m	S/inf	≥ 6 m	> 6 m	> 6 m	> 6m	S/inf	> 6m
Antecedentes de transfusão de sangue	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
Idade da 1ª relação sexual	S/inf	20	15	S/inf	19	-	13	17	16
Número de parceiros sexuais	>15	2	2	2	1	-	>15	1	5
História de DST	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não

M= masculino; F = feminino; S/inf. = sem informação; m= meses.

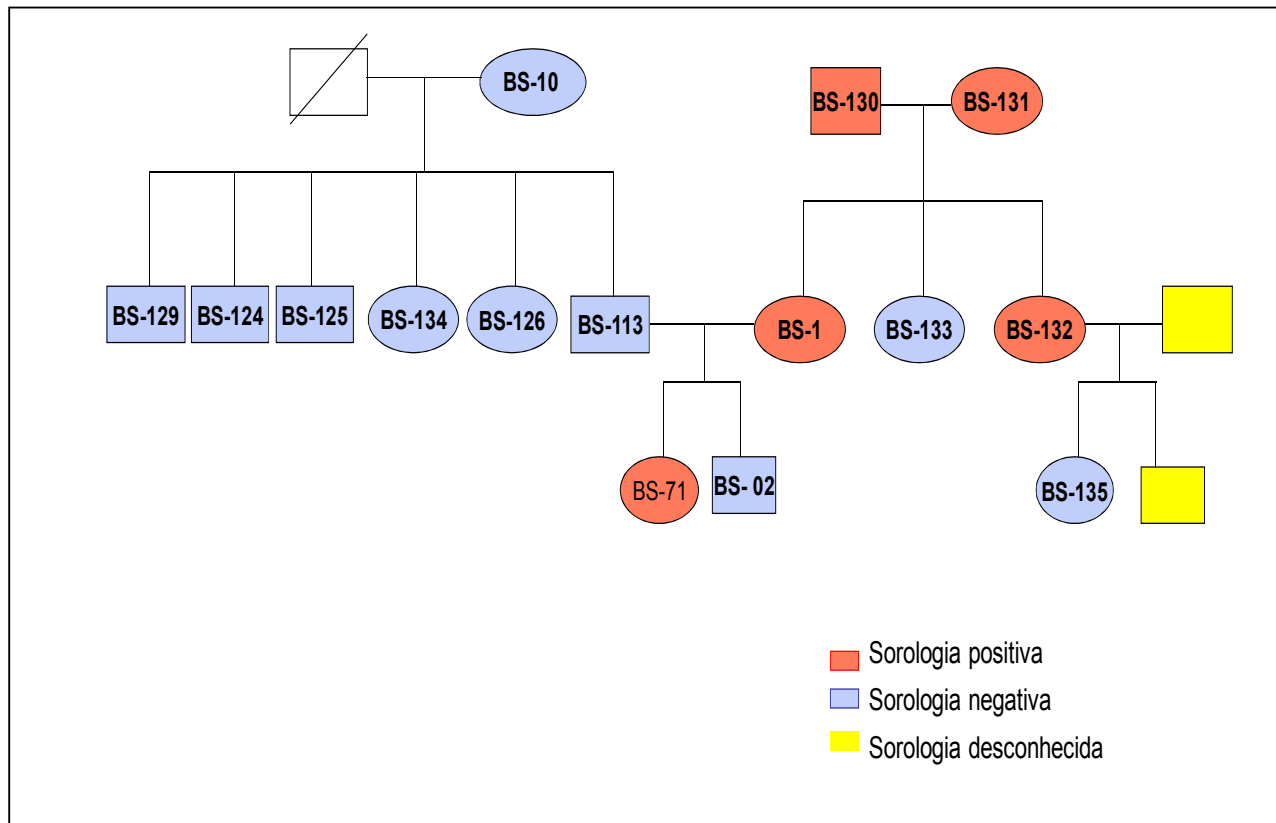


Figura 8 - Heredograma dos familiares dos remanescentes de quilombos infectados pelo HTLV-1 em Mato Grosso do Sul

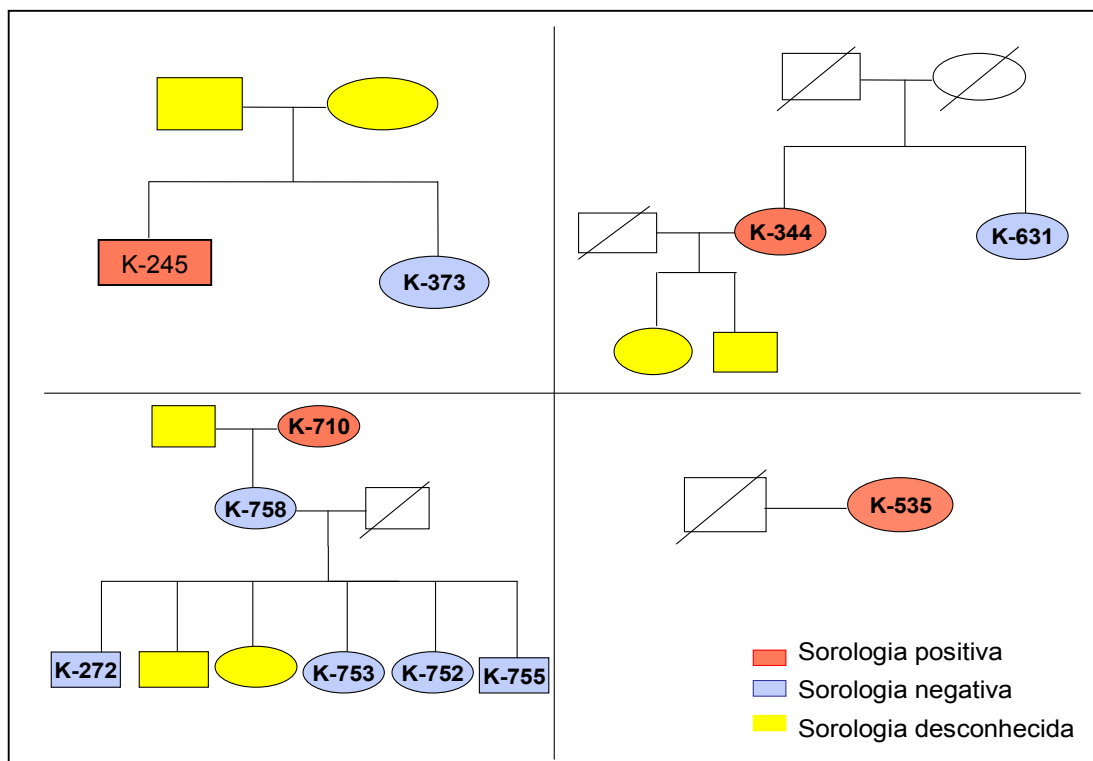


Figura 9 - Heredograma dos familiares dos remanescentes de quilombos infectados pelo HTLV-1 em Goiás

#### 4.4 Análise filogenética da região LTR

Foi possível sequenciar a região LTR em sete amostras DNA positivas, sendo todas elas pertencentes ao subtipo Cosmopolita (HTLV-1a), subgrupo Transcontinental (A). Com a representação destas amostras na árvore filogenética (Figura 9), observou-se que quatro foram agrupadas no mesmo cluster (BS-1, BS-71, BS-131 e BS-132), sendo membros da mesma família (Figura 8).

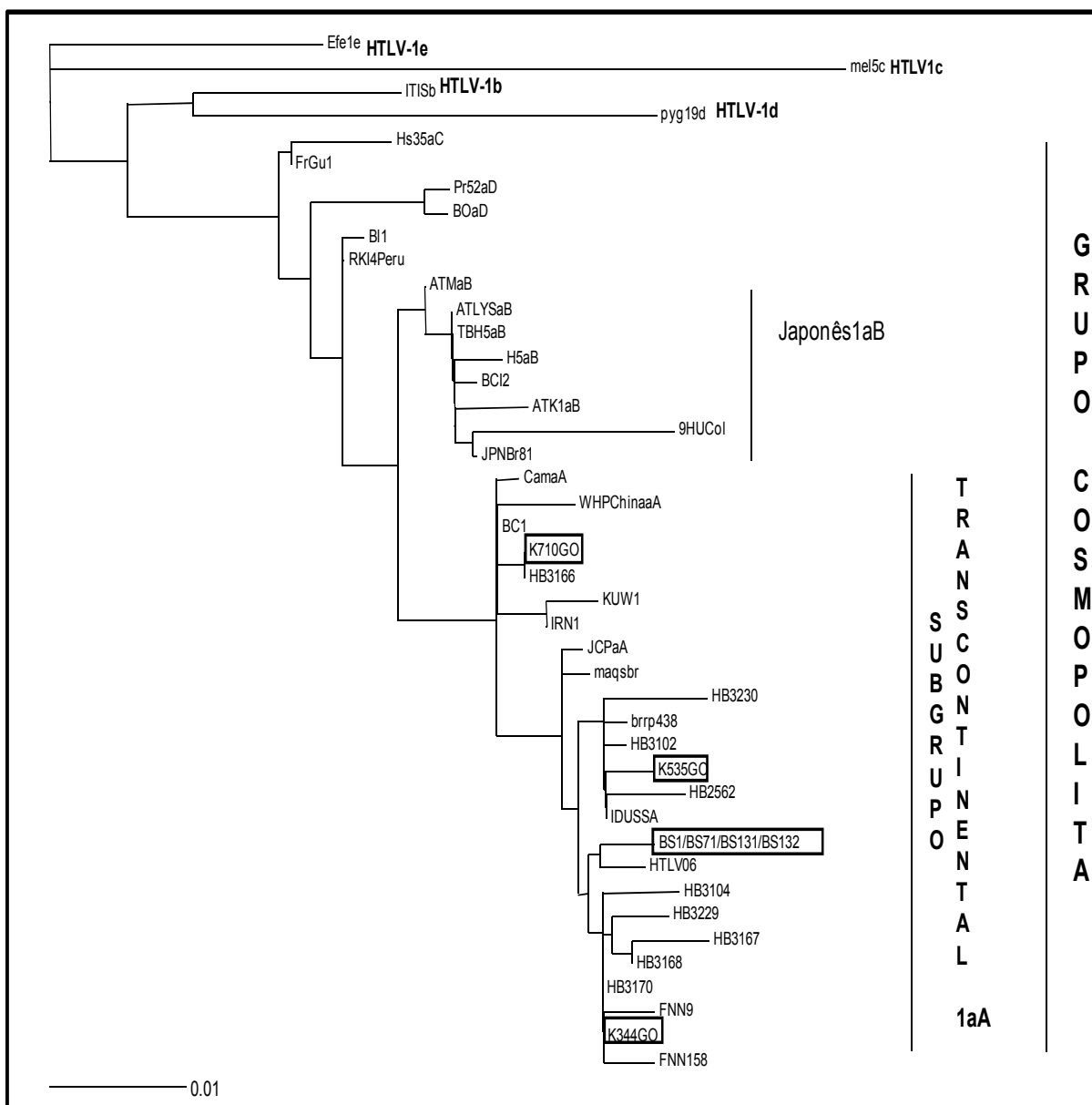


Figura 10 – Árvore Filogenética da região LTR do HTLV-1, incluindo sete isolados de remanescentes de quilombos no Brasil Central e seqüências do GenBank dos subtipos a-e

## 5. DISCUSSÃO

A distribuição mundial do HTLV-1 é atribuída à migração dos povos (Gessain et al. 1992) e, o continente africano parece ter papel relevante na origem e na disseminação do vírus (Song et al. 1994). Considerando que a população brasileira foi inicialmente constituída por indígenas, europeus (portugueses) e africanos (Alves-Silva et al. 2000), o estudo sobre o HTLV-1 em comunidades afro-descendentes semi-isoladas é fundamental na investigação da introdução e disseminação do vírus no País. Portanto, este é o primeiro estudo epidemiológico do HTLV-1 em remanescentes de quilombos no Brasil Central, no qual foi estimada a prevalência e os isolados virais caracterizados por sequenciamento, com posterior análise filogenética.

A população estudada foi composta por remanescentes de quilombos de todas as faixas etárias, com maior representatividade de indivíduos menores que 31 anos (57,6%). Houve predominância do sexo feminino (56,3%) e de indivíduos com níveis baixos de renda familiar e escolaridade. Dados similares foram encontrados em um estudo realizado na cidade de Salvador, nordeste do País, cuja população é constituída por 80% de afro-descendentes (Dourado et al. 2003).

A maior frequência de mulheres na população pôde também ser observada em outras comunidades semi-isoladas, como a de quilombos afro-brasileiros no Estado do Pará (Vallinoto et al. 2006), provavelmente, pelo deslocamento de indivíduos do sexo masculino para a região urbana em busca de trabalho e renda. Verificou-se, ainda, que a maioria dos indivíduos desenvolvia atividades na lavoura, revelando a vida simples dos remanescentes de quilombos que praticam a agricultura de subsistência.

Em relação às características de risco da população para a infecção pelo HTLV, notou-se que história de aleitamento materno foi relatada por todos os indivíduos estudados, entretanto, características relacionadas à via parenteral como transfusão de sangue e uso de drogas injetáveis foram observadas em frequências baixas. Já a respeito da via de transmissão sexual, verificou-se que, 28,7% dos entrevistados referiram múltiplos parceiros sexuais e 12,9%

antecedentes de DST, sendo estes constituídos, na sua maioria, por indivíduos do sexo masculino. Resultados semelhantes foram relatados em estudos conduzidos em doadores de sangue (Catalan-Soares et al. 2003, Mota et al. 2006), população também considerada de baixo risco para esta infecção.

Neste estudo, das nove amostras soro reagentes pelo ELISA, oito foram positivas para o HTLV-1 no *Western Blot*, resultando em um índice de confirmação da infecção de 88,9%, o qual corresponde ao limite superior (83,2%; IC95%: 50,88-97,06) observado em investigações realizadas em doadores de sangue no Brasil, cujos índices variaram de 7,6% a 83,2% (Catalan-Soares et al. 2003, Colin et al. 2003, Santos et al. 2003).

Nos remanescentes de quilombos estudados, uma amostra (11,1%) foi indeterminada pelo *western blot*, com reatividade para proteínas codificadas por *gag* (p19 e p24), índice este inferior aos verificados em populações de baixo risco, como doadores de sangue (45,4% a 61,8%) (Catalan-Soares et al. 2003, Santos et al. 2003). Nessas populações, a ocorrência de reações cruzadas com antígenos de agentes infecciosos deve ser considerada (Gastaldello et al. 2001). Mahieux et al. (2000) também observaram reatividade cruzada com p19 no *western blot*, que foi atribuída à presença de anticorpos no soro contra antígenos do *Plasmodium falciparum*. Além disso, outros autores sugerem que a reatividade apenas para p19 e p24 pode ser explicada por uma infecção recente, já que os anticorpos contra *gag* surgem primeiramente (Lal et al. 1992, Lal et al. 1994, Gastaldello et al. 2001). Dessa forma, faz-se necessária a detecção do DNA viral em todas as amostras inconclusivas no *western blot*, para o esclarecimento do diagnóstico e acompanhamento do indivíduo infectado (Costa et al. 2005).

A prevalência de 0,5% (IC 95%: 0,2-1,0), verificada neste trabalho, foi similar a outras observadas na África, como em doadores de sangue no Senegal (0,16%; IC 95%: 0,07-0,34) (Diop et al. 2006) e na população geral de Moçambique (1,1%; IC 95%: 0,65-1,76) (Cunha et al. 2007). Por outro lado, foi inferior às encontradas na população rural de Camarões (11,8%; IC 95%: 9,6-14,4) (Machuca et al. 2005) e em gestantes de Gana (2,1%; IC 95%: 1,3-3,3) (Armah et al. 2006), bem como na população da cidade de Salvador, Bahia, constituída, predominantemente, por afro-descendentes (1,7%; IC 95%: 1,08-2,52) (Dourado et al. 2003).

Ainda no Brasil, a prevalência para HTLV em doadores de sangue de todas as regiões do País variou de 0,04% a 1% (Catalan-Soares et al. 2005), em gestantes no Recôncavo Baiano foi de 0,98% (IC 95%: 0,31-2,67) (Magalhães et al. 2008) e em mulheres lactantes da Paraíba de 0,68% (IC 95%: 0,30-1,46) (Pimenta et al. 2008), sendo essas concordantes com a verificada em remanescentes de quilombos neste estudo. Adicionalmente, na investigação realizada em quilombos afro-brasileiros no Pará, a prevalência global foi de 1,15% (IC 95%: 0,30-3,63) (Vallinoto et al. 2006), sendo semelhante à encontrada no presente estudo. Contudo, esta prevalência foi superior às estimadas em gestantes em Goiás (0,1%; IC 95%: 0,06-0,17) e Mato Grosso do Sul (0,1%; IC 95%: 0,08-0,16) (Oliveira & Avelino 2006, Figueiró-Filho et al. 2007).

Quanto às características dos nove remanescentes de quilombos infectados pelo HTLV-1, observou-se a maior frequência de indivíduos do sexo feminino (7/9), sendo concordante com outras investigações (Murphy et al. 1989a, Kaplan et al. 1996, Mota et al. 2006), o que pode ser atribuído à maior eficiência da transmissão sexual do vírus no sentido homem-mulher. Os dois homens infectados relataram múltiplos parceiros sexuais (>15) e antecedentes de DST (1/2), sugerindo a ocorrência da transmissão sexual (Roucoux et al. 2005). Além disso, antecedentes de hemotransfusão foram relatados por dois indivíduos, sendo um com episódio anterior ao ano de 1993 (sangue não triado para HTLV), ratificando a importância da triagem dos doadores de sangue (Catalan-Soares et al. 2003, Moxoto et al. 2007). Além disso, o aleitamento materno foi referido por todos os indivíduos infectados pelo vírus. Esse dado corrobora o de outros estudos (Fujino & Nagata 2000, Ando et al 2004, Pimenta et al. 2008).

Na análise filogenética, observou-se a formação de um cluster com as amostras BS-1, BS-71, BS-131 e BS-132, que associado aos dados epidemiológicos e os apresentados no heredograma, sugere a transmissão intrafamiliar do HTLV-1 por três gerações. Tendo em vista que a via sexual é uma importante rota de transmissão do vírus, especialmente no sentido homem mulher (Kaplan et al. 1996), a mesma pode ser considerada na transmissão viral entre os indivíduos BS-130 e BS-131. Adicionalmente, a detecção do vírus em duas filhas (BS-1 e BS-132) e uma neta (BS-71) do casal reforça a infecção vertical ou mesmo horizontal entre estes familiares, o que é concordante com outras



investigações (Take et al. 1993, Ramalingam et al. 2001, Iga et al. 2002, Gastaldello et al. 2005).

Os sete isolados do HTLV-1, caracterizados pela análise filogenética, foram classificados no subtipo Cosmopolita (HTLV-1a), subgrupo Transcontinental (A). Este possui distribuição mundial e tem sido identificado em países da América do Sul, incluindo o Brasil (Segurado et al. 2002, Laurentino et al. 2005, Kashima et al. 2006), sendo o subgrupo mais prevalente na população geral da Bahia (Rego et al. 2008) e em quilombos afro-brasileiros no Pará (Vallinoto et al. 2006).

Como os remanescentes de quilombos infectados pelo HTLV-1 vivem em duas comunidades ainda isoladas (Boa Sorte - MS e Kalunga - GO), acredita-se que a introdução do vírus possa estar vinculada ao tráfico de escravos da África para o Brasil e, provavelmente a manutenção da infecção, se deva principalmente pela transmissão vertical e/ou horizontal. Entretanto, outros estudos moleculares são necessários para a elucidação da possível origem africana do HTLV-1 nas comunidades remanescentes de quilombos no Brasil.

O presente trabalho apresenta algumas limitações no que se refere, inicialmente, ao tamanho da amostra, pois não há registros oficiais da população das comunidades remanescentes de quilombos no Brasil Central. Assim, apesar dos esforços em coletar uma amostra representativa, a mesma foi de conveniência, isto é, foram recrutados, de forma sucessiva de acordo com a ordem de chegada, todos os remanescentes de quilombos que compareceram aos locais previamente definidos. Além disso, o estudo foi desenhado com o objetivo de estimar a prevalência, analisar fatores associados à infecção e caracterizar os isolados virais circulantes. Assim sendo, apesar dos achados de transmissão intrafamiliar do HTLV-1 na comunidade de Mato Grosso do Sul, o desenho proposto não permitiu avaliar esse aspecto em todos os familiares dos indivíduos soropositivos.

Diante dos achados deste estudo e considerando o risco dos indivíduos infectados desenvolverem doenças graves como ATL e TSP/HAM, além de outras associadas (Verdonck et al. 2007), medidas incluindo a triagem para o HTLV durante o pré-natal, aconselhamento das gestantes infectadas em relação à suspensão da amamentação, ou a redução da mesma pelo fornecimento de

fórmulas infantis, devem ser implementadas com o objetivo de reduzir a transmissão vertical do HTLV-1. Adicionalmente, faz-se necessária a adoção de estratégia para o incentivo à prática sexual segura, como o uso regular de preservativo.

## 6. CONCLUSÕES

- A prevalência da infecção pelo HTLV-1 de 0,5% em remanescentes de quilombos no Brasil Central indica uma baixa endemicidade para esta infecção nas comunidades estudadas;
- Características de risco como múltiplos parceiros sexuais, antecedentes de DST, hemotransfusão e aleitamento materno foram relatadas pelos indivíduos infectados, sugerindo a ocorrência da transmissão sexual, parenteral e vertical;
- Os isolados virais caracterizados foram classificados no subtipo Cosmopolita (HTLV-1a), subgrupo Transcontinental (A), o que corrobora os achados de outros estudos no Brasil, mostrando, assim, a predominância deste no País;
- A análise filogenética associada aos dados epidemiológicos sugere a transmissão intrafamiliar do HTLV-1 por três gerações de uma família da comunidade de Boa Sorte – MS, evidenciando a ocorrência da disseminação do vírus pela via vertical e/ou horizontal entre estes indivíduos.

## 7. REFERÊNCIAS

- Albrecht B, Lairmore MD 2002. Critical role of human T-lymphotropic virus type 1 accessory proteins in viral replication and pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev* 66(3):396-406.
- Alves-Silva J, da Silva Santos M, Guimaraes PE, Ferreira AC, Bandelt HJ, Pena SD, Prado VF 2000. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. *Am J Hum Genet* 67(2):444-61.
- Andersson S, Dias F, Mendez PJ, Rodrigues A, Biberfeld G 1997. HTLV-I and -II infections in a nationwide survey of pregnant women in Guinea-Bissau, West Africa. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 15(4):320-2.
- Andersson S, Thorstensson R, Ramirez KG, Krook A, von Sydow M, Dias F, Biberfeld G 1999. Comparative evaluation of 14 immunoassays for detection of antibodies to the human T-lymphotropic virus types I and II using panels of sera from Sweden and West Africa. *Transfusion* 39(8):845-51.
- Ando Y, Ekuni Y, Matsumoto Y, Nakano S, Saito K, Kakimoto K, Tanigawa T, Kawa M, Toyama T 2004. Long-term serological outcome of infants who received frozen-thawed milk from human T-lymphotropic virus type-I positive mothers. *J Obstet Gynaecol Res* 30(6):436-8.
- Armah HB, Narter-Olaga EG, Adjei AA, Asomaning K, Gyasi RK, Tettey Y 2006. Seroprevalence of human T-cell lymphotropic virus type I among pregnant women in Accra, Ghana. *J Med Microbiol* 55(Pt 6):765-70.
- Azran I, Schavinsky-Khrapunsky Y, Aboud M 2004. Role of Tax protein in human T-cell leukemia virus type-I leukemogenicity. *Retrovirology* 1:20.
- Baiocchi MN 1999. Kalunga Povo da Terra, 1nd ed., Ministério da Justiça, Secretaria do Estado dos Direitos Humanos, Brasília , 124 p.
- Balcazar N, Sanchez GI, Garcia-Vallejo F 2003. Sequence and phylogenetic analysis of human T cell lymphotropic virus type 1 from Tumaco, Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98(5):641-8.
- Bangham CR 2003. The immune control and cell-to-cell spread of human T-lymphotropic virus type 1. *J Gen Virol* 84(Pt 12):3177-89.
- Barcellos NT, Fuchs SC, Mondini LG, Murphy EL 2006. Human T lymphotropic virus type I/II infection: prevalence and risk factors in individuals testing for

- HIV in counseling centers from Southern Brazil. *Sex Transm Dis* 33(5):302-6.
- Bartholomew C, Saxinger WC, Clark JW, Gail M, Dudgeon A, Mahabir B, Hull-Drysdale B, Cleghorn F, Gallo RC, Blattner WA 1987. Transmission of HTLV-I and HIV among homosexual men in Trinidad. *Jama* 257(19):2604-8.
- Berini CA, Susana Pascuccio M, Bautista CT, Gendler SA, Eirin ME, Rodriguez C, Pando MA, Biglione MM 2008. Comparison of four commercial screening assays for the diagnosis of human T-cell lymphotropic virus types 1 and 2. *J Virol Methods* 147(2):322-7.
- Biddison WE, Kubota R, Kawanishi T, Taub DD, Cruikshank WW, Center DM, Connor EW, Utz U, Jacobson S 1997. Human T cell leukemia virus type I (HTLV-I)-specific CD8+ CTL clones from patients with HTLV-I-associated neurologic disease secrete proinflammatory cytokines, chemokines, and matrix metalloproteinase. *J Immunol* 159(4):2018-25.
- Biggar RJ, Saxinger C, Gardiner C, Collins WE, Levine PH, Clark JW, Nkrumah FK, Blattner WA 1984. Type-I HTLV antibody in urban and rural Ghana, West Africa. *Int J Cancer* 34(2):215-9.
- Bittencourt AL, Dourado I, Filho PB, Santos M, Valadao E, Alcantara LC, Galvao-Castro B 2001. Human T-cell lymphotropic virus type 1 infection among pregnant women in northeastern Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr* 26(5):490-4.
- Bittencourt AL, Sabino EC, Costa MC, Pedroso C, Moreira L 2002. No evidence of vertical transmission of HTLV-I in bottle-fed children. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 44(2):63-5.
- Blattner WA, Gibbs WN, Saxinger C, Robert-Guroff M, Clark J, Lofters W, Hanchard B, Campbell M, Gallo RC 1983. Human T-cell leukaemia/lymphoma virus-associated lymphoreticular neoplasia in Jamaica. *Lancet* 2(8341):61-4.
- Blayney DW, Jaffe ES, Blattner WA, Cossman J, Robert-Guroff M, Longo DL, Bunn PA, Jr., Gallo RC 1983. The human T-cell leukemia/lymphoma virus associated with American adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood* 62(2):401-5.

- Borducchi DM, Oliveira JS, Bordin JO, Kerbaux J 1998. HTLV-I infection among relatives of patients with adult T-cell leukemia/lymphoma in Brazil: analysis of infection transmission. *Leuk Lymphoma* 31(3-4):411-6.
- Borducchi DM, Kerbaux J, de Oliveira JS 1999. [Lymphoma/leukemia of T cells in adults]. *Rev Assoc Med Bras* 45(1):63-70.
- Brasil 1993. Ministério da Saúde. Portaria nº 1.376 em 19 de novembro de 1993. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/1376-93.pdf>. Acesso em 15 de novembro de 2008.
- Brasil. Ministério da Saúde 2004. Guia do manejo clínico do paciente com HTLV. Série Manuais nº 58, 54p.
- Britto AP, Galvao-Castro B, Straatmann A, Santos-Torres S, Tavares-Neto J 1998. [HTLV-I/II infection in the state of Bahia]. *Rev Soc Bras Med Trop* 31(1):35-41.
- Brodine SK, Kaime EM, Roberts C, Turnicky RP, Lal RB 1993. Simultaneous confirmation and differentiation of human T-lymphotropic virus types I and II infection by modified western blot containing recombinant envelope glycoproteins. *Transfusion* 33(11):925-9.
- Busch MP, Switzer WM, Murphy EL, Thomson R, Heneine W 2000. Absence of evidence of infection with divergent primate T-lymphotropic viruses in United States blood donors who have seroindeterminate HTLV test results. *Transfusion* 40(4):443-9.
- Calattini S, Chevalier SA, Duprez R, Bassot S, Froment A, Mahieux R, Gessain A 2005. Discovery of a new human T-cell lymphotropic virus (HTLV-3) in Central Africa. *Retrovirology* 2:30.
- Cântia A & Boloni L 2004. Projeto Brasil Quilombola. *Labcom*. Disponível em: <http://www.labcom.ubi.pt/agoranet/04/cantia-aline-boloni-leonardo-quilombo-kalunga.pdf> Acesso em 15 de janeiro de 2009.
- Carneiro-Proietti AB, Lima-Martins MV, Passos VM, Carmo RA, Pinheiro SR, Rocha PR, Proietti FA, Ferreira PC, Rocha VG 1998. Presence of human immunodeficiency virus (HIV) and T-lymphotropic virus type I and II (HTLV-I/II) in a haemophiliac population in Belo Horizonte, Brazil, and correlation with additional serological results. *Haemophilia* 4(1):47-50.

- Carneiro-Proietti AB, Catalan-Soares B, Proietti FA 2002. Human T cell lymphotropic viruses (HTLV-I/II) in South America: should it be a public health concern? *J Biomed Sci* 9(6 Pt 2):587-95.
- Carneiro-Proietti AB, Catalan-Soares BC, Castro-Costa CM, Murphy EL, Sabino EC, Hisada M, Galvao-Castro B, Alcantara LC, Remondegui C, Verdonck K and others 2006. HTLV in the Americas: challenges and perspectives. *Rev Panam Salud Publica* 19(1):44-53.
- Cassar O, Capuano C, Meertens L, Chungue E, Gessain A 2005. Human T-cell leukemia virus type 1 molecular variants, Vanuatu, Melanesia. *Emerg Infect Dis* 11(5):706-10.
- Catalan-Soares BC, Almeida RT, Carneiro-Proietti AB 2000. Prevalence of HIV-1/2, HTLV-I/II, hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV), *Treponema pallidum* and *Trypanosoma cruzi* among prison inmates at Manhuacu, Minas Gerais State, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 33(1):27-30.
- Catalan-Soares BC, Proietti FA, Carneiro-Proietti ABF 2001. Os vírus linfotrópicos na última década (1990-2000) Aspectos epidemiológicos. *Rev Bras Epidemiol* 4(2): 81-95.
- Catalan-Soares B, Carneiro-Proietti AB, Proietti FA 2003. HTLV-I/II and blood donors: determinants associated with seropositivity in a low risk population. *Rev Saúde Pública* 37(4): 470-6.
- Catalan-Soares B, Carneiro-Proietti AB, Proietti FA 2005. 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 Saude Publica* 21(3):926-31.
- Caterino-de-Araujo A, Santos-Fortuna E, Magri MC, Schuelter-Trevisol F, Silva MV 2006. Unpredicted HTLV-1 infection in female sex worker from Imbituba, Santa Catarina, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 48(4):237-8.
- Catovsky D, Greaves MF, Rose M, Galton DA, Goolden AW, McCluskey DR, White JM, Lampert I, Bourikas G, Ireland R and others 1982. Adult T-cell lymphoma-leukaemia in Blacks from the West Indies. *Lancet* 1(8273):639-43.
- Chen YC, Wang CH, Su IJ, Hu CY, Chou MJ, Lee TH, Lin DT, Chung TY, Liu CH, Yang CS 1989. Infection of human T-cell leukemia virus type I and development of human T-cell leukemia lymphoma in patients with

- hematologic neoplasms: a possible linkage to blood transfusion. *Blood* 74(1):388-94.
- Clark J, Saxinger C, Gibbs WN, Lofters W, Lagranade L, Deceulaer K, Ensroth A, Robert-Guroff M, Gallo RC, Blattner WA 1985. Seroepidemiologic studies of human T-cell leukemia/lymphoma virus type I in Jamaica. *Int J Cancer* 36(1):37-41.
- Colin DD, Alcantara Junior LC, Santos FL, Uchoa R, Tavares-Neto J 2003. [Seroprevalence of human T cell lymphotropic virus infection and associated factors of risk in blood donors of Rio Branco city, AC, Brazil (1998-2001)]. *Rev Soc Bras Med Trop* 36(6):677-83.
- communities. *J Med Virol* 77:188-193.
- Costa JMP 2005. Western Blot indeterminado anti-HTLV: avaliação molecular in Simpósio Internacional sobre HTLV no Brasil, São Paulo. *BJID* (9): 101.
- Cunha L, Plouzeau C, Ingrand P, Gudo JP, Ingrand I, Mondlane J, Beauchant M, Agius G 2007. Use of replacement blood donors to study the epidemiology of major blood-borne viruses in the general population of Maputo, Mozambique. *J Med Virol* 79(12):1832-40.
- Daenke S, Nightingale S, Cruickshank JK, Bangham CR 1990. Sequence variants of human T-cell lymphotropic virus type I from patients with tropical spastic paraparesis and adult T-cell leukemia do not distinguish neurological from leukemic isolates. *J Virol* 64(3):1278-82.
- Dal Fabbro MM, Cunha RV, Boia MN, Portela P, Botelho CA, Freitas GM, Soares J, Ferri J, Lupion J 2008. [HTLV 1/2 infection: prenatal performance as a disease control strategy in State of Mato Grosso do Sul]. *Rev Soc Bras Med Trop* 41(2):148-51.
- de Queiroz AT, Mota-Miranda AC, de Oliveira T, Moreau DR, Urpia Cde C, Carvalho CM, Galvao-Castro B, Alcantara LC 2007. Re-mapping the molecular features of the human immunodeficiency virus type 1 and human T-cell lymphotropic virus type 1 Brazilian sequences using a bioinformatics unit established in Salvador, Bahia, Brazil, to give support to the viral epidemiology studies. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102(2):133-9.
- de The G, Kazanji M 1996. An HTLV-I/II vaccine: from animal models to clinical trials? *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 13 Suppl 1:S191-8.



- Delamarre L, Rosenberg AR, Pique C, Pham D, Callebaut I, Dokhelar MC 1996. The HTLV-I envelope glycoproteins: structure and functions. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 13 Suppl 1:S85-91.
- Diop S, Calattini S, Abah-Dakou J, Thiam D, Diakhate L, Gessain A 2006. Seroprevalence and molecular epidemiology of human T-Cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2 in blood donors from Dakar, Senegal. *J Clin Microbiol* 44(4):1550-4.
- Dourado I, Andrade T, Carpenter CL, Galvao-Castro B 1999. Risk factors for human T cell lymphotropic virus type I among injecting drug users in northeast Brazil: possibly greater efficiency of male to female transmission. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94(1):13-8.
- Dourado I, Alcantara LC, Barreto ML, da Gloria Teixeira M, Galvao-Castro B 2003. HTLV-I in the general population of Salvador, Brazil: a city with African ethnic and sociodemographic characteristics. *J Acquir Immune Defic Syndr* 34(5):527-31.
- Edlich RF, Arnette JA, Williams FM 2000. Global epidemic of human T-cell lymphotropic virus type-I (HTLV-I). *J Emerg Med* 18(1):109-19.
- Etenna SL, Caron M, Besson G, Makuwa M, Gessain A, Mahe A, Kazanji M 2008. New insights into prevalence, genetic diversity, and proviral load of human T-cell leukemia virus types 1 and 2 in pregnant women in Gabon in equatorial central Africa. *J Clin Microbiol* 46(11):3607-14.
- Etzel A, Shibata GY, Rozman M, Jorge ML, Damas CD, Segurado AA 2001. HTLV-1 and HTLV-2 infections in HIV-infected individuals from Santos, Brazil: seroprevalence and risk factors. *J Acquir Immune Defic Syndr* 26(2):185-90.
- Ferreira OC, Jr., Planelles V, Rosenblatt JD 1997. Human T-cell leukemia viruses: epidemiology, biology, and pathogenesis. *Blood Rev* 11(2):91-104.
- Feuer G, Green PL 2005. Comparative biology of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2. *Oncogene* 24(39):5996-6004.
- Figueiró-Fliho EA, Lopes AHA, Senefonte RA, Souza Jr VG, Botelho CA, Duarte G 2005. Infecção pelo vírus de células T humanas e transmissão vertical em gestantes de estado da Região Centro-Oeste do Brasil. *Rev Bras Ginecol Obstet* 27(12): 719-25.

- Figueiro-Filho EA, Senefonte FR, Lopes AH, de Moraes OO, Souza Junior VG, Maia TL, Duarte G 2007. [Frequency of HIV-1, rubella, syphilis, toxoplasmosis, cytomegalovirus, simple herpes virus, hepatitis B, hepatitis C, Chagas disease and HTLV I/II infection in pregnant women of State of Mato Grosso do Sul]. *Rev Soc Bras Med Trop* 40(2):181-7.
- Figuerola JP, Morris J, Brathwaite A, Ward E, Peruga A, Hayes R, Vermund SH, Blattner W 1995. Risk factors for HTLV-I among heterosexual STD clinic attenders. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 9(1):81-8.
- Figuerola JP, Ward E, Morris J, Brathwaite AR, Peruga A, Blattner W, Vermund SH, Hayes R 1997. Incidence of HIV and HTLV-1 infection among sexually transmitted disease clinic attenders in Jamaica. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 15(3):232-7.
- Forbi JC, Odetunde AB 2007. Human T-cell lymphotropic virus in a population of pregnant women and commercial sex workers in South Western Nigeria. *Afr Health Sci* 7(3):129-32.
- Franchini G 1995. Molecular mechanisms of human T-cell leukemia/lymphotropic virus type I infection. *Blood* 86(10):3619-39.
- Franchini G, Fukumoto R, Dunder M, Valeri VW 2005. HTLV-1 p12 and p30 proteins in viral persistence and pathogenesis in II International Symposium on Oncovirology. *BJID* (9):447-9.
- Fujino T, Nagata Y 2000. HTLV-I transmission from mother to child. *J Reprod Immunol* 47(2):197-206.
- Fujisawa J, Seiki M, Kiyokawa T, Yoshida M 1985. Functional activation of the long terminal repeat of human T-cell leukemia virus type I by a trans-acting factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82(8):2277-81.
- Fujiyama C, Fujiyoshi T, Matsumoto D, Tamashiro H, Sonoda S 1995. Evaluation of commercial HTLV-1 test kits by a standard HTLV-1 serum panel. *Bull World Health Organ* 73(4):515-21.
- Gallego S, Mangano A, Gastaldello R, Sen L, Medeiros S 2004. Usefulness of a Nested-polymerase chain reaction for molecular diagnosis of human T-cell lymphotropic virus type I/II. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99(4):377-80.
- Gallo RC 1985. The human T-cell leukemia/lymphotropic retroviruses (HTLV) family: past, present, and future. *Cancer Res* 45(9 Suppl):4524s-4533s.

- Gallo RC 2002. Human retroviruses after 20 years: a perspective from the past and prospects for their future control. *Immunol Rev* 185:236-65.
- Gallo RC 2005a. History of the discoveries of the first human retroviruses: HTLV-1 and HTLV-2. *Oncogene* 24(39):5926-30.
- Gallo RC 2005b. The discovery of the first human retrovirus: HTLV-1 and HTLV-2. *Retrovirology* 2:17.
- Galvao-Castro B, Loures L, Rodrigues LG, Sereno A, Ferreira Junior OC, Franco LG, Muller M, Sampaio DA, Santana A, Passos LM and others 1997. Distribution of human T-lymphotropic virus type I among blood donors: a nationwide Brazilian study. *Transfusion* 37(2):242-3.
- Gastaldello R, Gallego S, Isa MB, Maturano E, Sileoni S, Nates S, Medeiros S 2001. Immunofluorescence assay reactivity patterns of serum samples presenting indeterminate Western blot results for antibodies to HIV-1 and HTLV-I/II in Cordoba, Argentina. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 43(5):277-82.
- Gastaldello R, Hall WW, Gallego S 2004. Seroepidemiology of HTLV-I/II in Argentina: an overview. *J Acquir Immune Defic Syndr* 35(3):301-8.
- Gastaldello R, Otsuki K, Barbas MG, Vicente AC, Gallego S 2005. Molecular evidence of HTLV-1 intrafamilial transmission in a non-endemic area in Argentina. *J Med Virol* 76(3):386-90.
- Gessain A, Barin F, Vernant JC, Gout O, Maurs L, Calender A, de The G 1985. Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet* 2(8452):407-10.
- Gessain A, Gallo RC, Franchini G 1992. 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* 66(4):2288-95.
- Gessain A, Boeri E, Yanagihara R, Gallo RC, Franchini G 1993. Complete nucleotide sequence of a highly divergent human T-cell leukemia (lymphotropic) virus type I (HTLV-I) variant from melanesia: genetic and phylogenetic relationship to HTLV-I strains from other geographical regions. *J Virol* 67(2):1015-23.
- Gessain A, Mahieux R, de The G 1996. Genetic variability and molecular epidemiology of human and simian T cell leukemia/lymphoma virus type I. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 13 Suppl 1:S132-45.

- Giuliani M, Rezza G, Lepri AC, Di Carlo A, Maini A, Crescimbeni E, Palamara G, Prignano G, Caprilli F 2000. Risk factors for HTLV-I and II in individuals attending a clinic for sexually transmitted diseases. *Sex Transm Dis* 27(2):87-92.
- Gomes I, Melo A, Proietti FA, Moreno-Carvalho O, Loures LA, Dazza MC, Said G, Larouze B, Galvao-Castro B 1999. Human T lymphotropic virus type I (HTLV-I) infection in neurological patients in Salvador, Bahia, Brazil. *J Neurol Sci* 165(1):84-9.
- Goncalves DU, Guedes AC, Carneiro-Proietti AB, Pinheiro SR, Catalan-Soares B, Proietti FA, Lambertucci JR 1999. Simultaneous occurrence of HTLV-I associated myelopathy, uveitis and smouldering adult T cell leukaemia. GIPH (Interdisciplinary HTLV-I/II Research Group). *Int J STD AIDS* 10(5):336-7.
- Gray GS, White M, Bartman T, Mann D 1990. Envelope gene sequence of HTLV-1 isolate MT-2 and its comparison with other HTLV-1 isolates. *Virology* 177(1):391-5.
- Guerreiro JB, Santos SB, Morgan DJ, Porto AF, Muniz AL, Ho JL, Teixeira AL, Jr., Teixeira MM, Carvalho EM 2006. Levels of serum chemokines discriminate clinical myelopathy associated with human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) disease from HTLV-1 carrier state. *Clin Exp Immunol* 145(2):296-301.
- Guimaraes ML, Bastos FI, Telles PR, Galvao-Castro B, Diaz RS, Bongertz V, Morgado MG 2001. Retrovirus infections in a sample of injecting drug users in Rio de Janeiro City, Brazil: prevalence of HIV-1 subtypes, and co-infection with HTLV-I/II. *J Clin Virol* 21(2):143-51.
- Hahn BH, Shaw GM, Popovic M, Lo Monico A, Gallo RC, Wong-Staal F 1984. Molecular cloning and analysis of a new variant of human T-cell leukemia virus (HTLV-ib) from an African patient with adult T-cell leukemia-lymphoma. *Int J Cancer* 34(5):613-8.
- Hatanaka M, Nam SH 1989. Identification of HTLV-I gag protease and its sequential processing of the gag gene product. *J Cell Biochem* 40(1):15-30.
- Hattori S, Kiyokawa T, Imagawa K, Shimizu F, Hashimura E, Seiki M, Yoshida M 1984. Identification of gag and env gene products of human T-cell leukemia virus (HTLV). *Virology* 136(2):338-47.

- Hidaka M, Inoue J, Yoshida M, Seiki M 1988. Post-transcriptional regulator (rex) of HTLV-1 initiates expression of viral structural proteins but suppresses expression of regulatory proteins. *Embo J* 7(2):519-23.
- Hino S, Doi H, Yoshikuni H, Sugiyama H, Ishimaru T, Yamabe T, Tsuji Y, Miyamoto T 1987. HTLV-I carrier mothers with high-titer antibody are at high risk as a source of infection. *Jpn J Cancer Res* 78(11):1156-8.
- Hino S, Katamine S, Miyamoto T, Doi H, Tsuji Y, Yamabe T, Kaplan JE, Rudolph DL, Lal RB 1995. Association between maternal antibodies to the external envelope glycoprotein and vertical transmission of human T-lymphotropic virus type I. Maternal anti-env antibodies correlate with protection in non-breast-fed children. *J Clin Invest* 95(6):2920-5.
- Hinuma Y, Nagata K, Hanaoka M, Nakai M, Matsumoto T, Kinoshita KI, Shirakawa S, Miyoshi I 1981. Adult T-cell leukemia: antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. *Proc Natl Acad Sci U S A* 78(10):6476-80.
- Hiramatsu K, Nishida J, Naito A, Yoshikura H 1987. Molecular cloning of the closed circular provirus of human T cell leukaemia virus type I: a new open reading frame in the gag-pol region. *J Gen Virol* 68 ( Pt 1):213-8.
- Hisada M, Maloney EM, Sawada T, Miley WJ, Palmer P, Hanchard B, Goedert JJ, Manns A 2002. Virus markers associated with vertical transmission of human T lymphotropic virus type 1 in Jamaica. *Clin Infect Dis* 34(12):1551-7.
- Houinato D, Verdier M, Preux PM, Josse R, Letenneur L, Ayed Z, Avode G, Massit B, Boutros-Toni F, Denis F and others 1998. Intrafamilial clustering and 4-year follow-up of asymptomatic human T-cell leukaemia virus type I (HTLV-I) infection in Benin (West Africa). *Int J Epidemiol* 27(1):146-52.
- Ibrahim F, de The G, Gessain A 1995. Isolation and characterization of a new simian T-cell leukemia virus type 1 from naturally infected celeb macaques (*Macaca tonkeana*): complete nucleotide sequence and phylogenetic relationship with the Australo-Melanesian human T-cell leukemia virus type 1. *J Virol* 69(11):6980-93.
- ICTV 2006. HTLV. In *ICTVdB - The Universal Virus Database*, version 4. Büchen-Osmond, C. (Ed), Columbia University, New York, USA. Disponível em:

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/index.htm>. Acesso em 10 de novembro de 2008.
- Iga M, Okayama A, Stuver S, Matsuoka M, Mueller N, Aoki M, Mitsuya H, Tachibana N, Tsubouchi H 2002. Genetic evidence of transmission of human T cell lymphotropic virus type 1 between spouses. *J Infect Dis* 185(5):691-5.
- Ijichi S, Osame M 1995. Human T lymphotropic virus type I (HTLV-I)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP): recent perspectives. *Intern Med* 34(8):713-21.
- Ishida T, Yamamoto K, Omoto K, Iwanaga M, Osato T, Hinuma Y 1985. Prevalence of a human retrovirus in native Japanese: evidence for a possible ancient origin. *J Infect* 11(2):153-7.
- Jacob F, Santos-Fortuna Ede L, Azevedo RS, Caterino-de-Araujo A 2007. Performances of HTLV serological tests in diagnosing HTLV infection in high-risk population of Sao Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 49(6):361-4.
- Jacob F, Santos-Fortuna E, Azevedo RS, Caterino-de-Araujo A 2008. Serological patterns and temporal trends of HTLV-1/2 infection in high-risk populations attending Public Health Units in Sao Paulo, Brazil. *J Clin Virol* 42(2):149-55.
- Johnson JM, Harrod R, Franchini G 2001. Molecular biology and pathogenesis of the human T-cell leukaemia/lymphotropic virus Type-1 (HTLV-1). *Int J Exp Pathol* 82(3):135-47.
- Kajiyama W, Kashiwagi S, Ikematsu H, Hayashi J, Nomura H, Okochi K 1986. Intrafamilial transmission of adult T cell leukemia virus. *J Infect Dis* 154(5):851-7.
- Kalyanaraman VS, Sarngadharan MG, Robert-Guroff M, Miyoshi I, Golde D, Gallo RC 1982. A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II) associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia. *Science* 218(4572):571-3.
- Kamihira S, Nakasima S, Oyakawa Y, Moriuti Y, Ichimaru M, Okuda H, Kanamura M, Oota T 1987. Transmission of human T cell lymphotropic virus type I by blood transfusion before and after mass screening of sera from seropositive donors. *Vox Sang* 52(1-2):43-4.

- Kaplan JE, Osame M, Kubota H, Igata A, Nishitani H, Maeda Y, Khabbaz RF, Janssen RS 1990. The risk of development of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis among persons infected with HTLV-I. *J Acquir Immune Defic Syndr* 3(11):1096-101.
- Kaplan JE, Khabbaz RF, Murphy EL, Hermansen S, Roberts C, Lal R, Heneine W, Wright D, Matijas L, Thomson R and others 1996. Male-to-female transmission of human T-cell lymphotropic virus types I and II: association with viral load. The Retrovirus Epidemiology Donor Study Group. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 12(2):193-201.
- Karopoulos A, Silvester C, Dax EM 1993. A comparison of the performance of nine commercially available anti-HTLV-I screening assays. *J Virol Methods* 45(1):83-91.
- Kashima S, Alcantara LC, Takayanagui OM, Cunha MA, Castro BG, Pombo-de-Oliveira MS, Zago MA, Covas DT 2006. Distribution of human T cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) subtypes in Brazil: genetic characterization of LTR and tax region. *AIDS Res Hum Retroviruses* 22(10):953-9.
- Kashiwagi K, Furusyo N, Nakashima H, Kubo N, Kinukawa N, Kashiwagi S, Hayashi 2004. A decrease in mother-to-child transmission of human T lymphotropic virus type I (HTLV-I) in Okinawa, Japan. *Am J Trop Med Hyg* 70(2):158-63.
- Katz RA, Skalka AM 1994. The retroviral enzymes. *Annu Rev Biochem* 63:133-73.
- Kawai H, Nishida Y, Takagi M, Nakamura S, Saito S 1989. [HTLV-I associated myelopathy (HAM) with adult T-cell leukemia (ATL)]. *Rinsho Shinkeigaku* 29(5):588-92.
- Kazanji M, Heraud JM, Merien F, Pique C, de The G, Gessain A, Jacobson S 2006. Chimeric peptide vaccine composed of B- and T-cell epitopes of human T-cell leukemia virus type 1 induces humoral and cellular immune responses and reduces the proviral load in immunized squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). *J Gen Virol* 87(Pt 5):1331-7.
- Kiyokawa T, Seiki M, Iwashita S, Imagawa K, Shimizu F, Yoshida M 1985. p27x-III and p21x-III, proteins encoded by the pX sequence of human T-cell leukemia virus type I. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82(24):8359-63.

- Komurian F, Pelloquin F, de The G 1991. In vivo genomic variability of human T-cell leukemia virus type I depends more upon geography than upon pathologies. *J Virol* 65(7):3770-8.
- Komurian-Pradel F, Pelloquin F, Sonoda S, Osame M, de The G 1992. Geographical subtypes demonstrated by RFLP following PCR in the LTR region of HTLV-I. *AIDS Res Hum Retroviruses* 8(4):429-34.
- Koralnik IJ, Gessain A, Klotman ME, Lo Monaco A, Berneman ZN, Franchini G 1992. Protein isoforms encoded by the pX region of human T-cell leukemia/lymphotropic virus type I. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89(18):8813-7.
- Kubota R, Umehara F, Izumo S, Ijichi S, Matsumuro K, Yashiki S, Fujiyoshi T, Sonoda S, Osame M 1994. HTLV-I proviral DNA amount correlates with infiltrating CD4+ lymphocytes in the spinal cord from patients with HTLV-I-associated myelopathy. *J Neuroimmunol* 53(1):23-9.
- Kwok S, Lipka JJ, McKinney N, Kellogg DE, Poiesz B, Fong SK, Sninsky JJ 1990. Low incidence of HTLV infections in random blood donors with indeterminate western blot patterns. *Transfusion* 30(6):491-4.
- Lal RB, Rudolph DL, Coligan JE, Brodine SK, Roberts CR 1992. Failure to detect evidence of human T-lymphotropic virus (HTLV) type I and type II in blood donors with isolated gag antibodies to HTLV-I/II. *Blood* 80(2):544-50.
- Lal RB, Owen SM, Mingle J, Levine PH, Manns A 1994. Presence of human T lymphotropic virus types I and II in Ghana, west Africa. *AIDS Res Hum Retroviruses* 10(12):1747-50.
- Laurentino RV, Lopes IG, Azevedo VN, Machado LF, Moreira MR, Lobato L, Ishak MO, Ishak R, Vallinoto AC 2005. Molecular characterization of human T-cell lymphotropic virus coinfecting human immunodeficiency virus 1 infected patients in the Amazon region of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100(4):371-6.
- Le Blanc I, Grange MP, Delamarre L, Rosenberg AR, Blot V, Pique C, Dokhelar MC 2001. HTLV-1 structural proteins. *Virus Res* 78(1-2):5-16.
- Lee HH, Weiss SH, Brown LS, Mildvan D, Shorty V, Saravolatz L, Chu A, Ginzburg HM, Markowitz N, Des Jarlais DC and others 1990. Patterns of HIV-1 and HTLV-I/II in intravenous drug abusers from the middle atlantic and central regions of the USA. *J Infect Dis* 162(2):347-52.



- Leite IB 2000. Os quilombos no Brasil: questões conceituais e normativas. *Etnográfica* IV(2): 333-354.
- Lemey P, Pybus OG, Van Dooren S, Vandamme AM 2005. A Bayesian statistical analysis of human T-cell lymphotropic virus evolutionary rates. *Infect Genet Evol* 5(3):291-8.
- Leon G, Quiros AM, Lopez JL, Hung M, Diaz AM, Goncalves J, Da Costa O, Hernandez T, Chirinos M, Gomez R 2003. [Seropositivity for human T-lymphotropic virus types I and II among donors at the Municipal Blood Bank of Caracas and associated risk factors]. *Rev Panam Salud Publica* 13(2-3):117-23.
- Li HC, Biggar RJ, Miley WJ, Maloney EM, Cranston B, Hanchard B, Hisada M 2004. Provirus load in breast milk and risk of mother-to-child transmission of human T lymphotropic virus type I. *J Infect Dis* 190(7):1275-8.
- Lillehoj EP, Alexander SS, Dubrule CJ, Wiktor S, Adams R, Tai CC, Manns A, Blattner WA 1990. Development and evaluation of a human T-cell leukemia virus type I serologic confirmatory assay incorporating a recombinant envelope polypeptide. *J Clin Microbiol* 28(12):2653-8.
- Lima MA, Bica RB, Araujo AQ 2005. Gender influence on the progression of HTLV-I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76(2):294-6.
- Lima TVR 2006. Caracterização sorológica e detecção molecular do HTLV em amostras de pacientes com distúrbios nuerológicos no Estado do Pará (1996-2005). Dissertação de Mestrado 104p.
- Liu H, Shah M, Stramer SL, Chen W, Weiblen BJ, Murphy EL 1999. Sensitivity and specificity of human T-lymphotropic virus (HTLV) types I and II polymerase chain reaction and several serologic assays in screening a population with a high prevalence of HTLV-II. *Transfusion* 39(11-12):1185-93.
- Macedo O, Ribeiro-Lima TV, Linhares Ade O, de Moura A, Gomes Mde L, Linhares AC 2004. Human T-cell lymphotropic virus types I and II infections in a cohort of patients with neurological disorders in Belem, Para, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 46(1):13-7.
- Machuca A, Wood O, Lee S, Daniel S, Rios M, Wolfe ND, Carr JK, Eitel MN, Tamoufe U, Torimiro JN and others 2005. Seroprevalence of human T cell

- leukemia virus in HIV antibody-negative populations in rural Cameroon. *Clin Infect Dis* 40(11):1673-6.
- Magalhaes T, Mota-Miranda AC, Alcantara LC, Olavarria V, Galvao-Castro B, Rios-Grassi MF 2008. Phylogenetic and molecular analysis of HTLV-1 isolates from a medium sized town in northern of Brazil: tracing a common origin of the virus from the most endemic city in the country. *J Med Virol* 80(11):2040-5.
- Maguer-Satta V, Gazzolo L, Dodon MD 1995. Human immature thymocytes as target cells of the leukemogenic activity of human T-cell leukemia virus type I. *Blood* 86(4):1444-52.
- Mahieux R, Ibrahim F, Mauciere P, Herve V, Michel P, Tekaiia F, Chappey C, Garin B, Van Der Ryst E, Guillemain B and others 1997. Molecular epidemiology of 58 new African human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) strains: identification of a new and distinct HTLV-1 molecular subtype in Central Africa and in Pygmies. *J Virol* 71(2):1317-33
- Mahieux R, Horal P, Mauciere P, Mercereau-Puijalon O, Guillotte M, Meertens L, Murphy E, Gessain A 2000. Human T-cell lymphotropic virus type 1 gag indeterminate western blot patterns in Central Africa: relationship to *Plasmodium falciparum* infection. *J Clin Microbiol* 38(11):4049-57.
- Mahieux R, Gessain A 2008. The human HTLV-3 and HTLV-4 retroviruses: New members of the HTLV family. *Pathol Biol (Paris)*.(Article in Press).
- Maloney EM, Cleghorn FR, Morgan OS, Rodgers-Johnson P, Cranston B, Jack N, Blattner WA, Bartholomew C, Manns A 1998. Incidence of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) in Jamaica and Trinidad. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 17(2):167-70.
- Manns A, Wilks RJ, Murphy EL, Haynes G, Figueroa JP, Barnett M, Hanchard B, Blattner WA 1992. A prospective study of transmission by transfusion of HTLV-I and risk factors associated with seroconversion. *Int J Cancer* 51(6):886-91.
- Manns A, Hisada M, La Grenade L 1999a. Human T-lymphotropic virus type I infection. *Lancet* 353(9168):1951-8.
- Manns A, Miley WJ, Wilks RJ, Morgan OS, Hanchard B, Wharfe G, Cranston B, Maloney E, Welles SL, Blattner WA and others 1999b. Quantitative proviral

- DNA and antibody levels in the natural history of HTLV-I infection. *J Infect Dis* 180(5):1487-93.
- Matsumoto C, Mitsunaga S, Oguchi T, Mitomi Y, Shimada T, Ichikawa A, Watanabe J, Nishioka K 1990. Detection of human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I) provirus in an infected cell line and in peripheral mononuclear cells of blood donors by the nested double polymerase chain reaction method: comparison with HTLV-I antibody tests. *J Virol* 64(11):5290-4.
- Ministério da Educação 2001. Uma história do povo Kalunga. Secretaria de Educação Fundamental - MEC, 120p.
- Miura T, Fukunaga T, Igarashi T, Yamashita M, Ido E, Funahashi S, Ishida T, Washio K, Ueda S, Hashimoto K and others 1994. Phylogenetic subtypes of human T-lymphotropic virus type I and their relations to the anthropological background. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91(3):1124-7.
- Montanheiro PA, Oliveira AC, Posada-Vergara MP, Milagres AC, Tauil C, Marchiori PE, Duarte AJ, Casseb J 2005. Human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) proviral DNA viral load among asymptomatic patients and patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Braz J Med Biol Res* 38(11):1643-7.
- Montanheiro P, Olah I, Fukumori LM, Smid J, Oliveira AC, Kanzaki LI, Fonseca LA, Duarte AJ, Casseb J 2008. Low DNA HTLV-2 proviral load among women in Sao Paulo City. *Virus Res* 135(1):22-5.
- Moore GR, Traugott U, Scheinberg LC, Raine CS 1989. Tropical spastic paraparesis: a model of virus-induced, cytotoxic T-cell-mediated demyelination? *Ann Neurol* 26(4):523-30.
- Morimoto HK, Caterino-De-Araujo A, Morimoto AA, Reiche EM, Ueda LT, Matsuo T, Stegmann JW, Reiche FV 2005. Seroprevalence and risk factors for human T cell lymphotropic virus type 1 and 2 infection in human immunodeficiency virus-infected patients attending AIDS referral center health units in Londrina and other communities in Parana, Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses* 21(4):256-62.
- Moriuchi M, Moriuchi H 2004. Seminal fluid enhances replication of human T-cell leukemia virus type 1: implications for sexual transmission. *J Virol* 78(22):12709-11.

- Mota A, Nunes C, Melo A, Romeo A, Boasorte N, Dourado I, Alcântara LC, Galvão-Castro B 2006. A case-control study of HTLV-infection among blood donors in Salvador, Bahia, Brazil – Associated risk factors and trend towards declining prevalence. *Rev Bras Hematol Hemoter* 28(2):120-26.
- Mota AC, Van Dooren S, Fernandes FM, Pereira SA, Queiroz AT, Gallazzi VO, Vandamme AM, Galvao-Castro B, Alcantara LC 2007. The close relationship between South African and Latin American HTLV type 1 strains corroborated in a molecular epidemiological study of the HTLV type 1 isolates from a blood donor cohort. *AIDS Res Hum Retroviruses* 23(4):503-7.
- Mota-Miranda AC, Araujo SP, Dias JP, Colin DD, Kashima S, Covas DT, Tavares-Neto J, Galvao-Castro B, Alcantara LC 2008. HTLV-1 infection in blood donors from the Western Brazilian Amazon region: seroprevalence and molecular study of viral isolates. *J Med Virol* 80(11):1966-71.
- Motta-Castro AR, Martins RM, Yoshida CF, Teles SA, Paniago AM, Lima KM, Gomes SA 2005. Hepatitis B virus infection in isolated Afro-Brazilian communities. *J Med Virol* 77(2):188-93.
- Moxoto I, Boa-Sorte N, Nunes C, Mota A, Dumas A, Dourado I, Galvao-Castro B 2007. [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(1):37-41.
- Mueller N, Okayama A, Stuver S, Tachibana N 1996. Findings from the Miyazaki Cohort Study. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 13 Suppl 1:S2-7.
- Murphy EL, Hanchard B, Figueroa JP, Gibbs WN, Lofters WS, Campbell M, Goedert JJ, Blattner WA 1989a. Modelling the risk of adult T-cell leukemia/lymphoma in persons infected with human T-lymphotropic virus type I. *Int J Cancer* 43(2):250-3.
- Murphy EL, Figueroa JP, Gibbs WN, Brathwaite A, Holding-Cobham M, Waters D, Cranston B, Hanchard B, Blattner WA 1989b. Sexual transmission of human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I). *Ann Intern Med* 111(7):555-60.
- Murphy EL 1996. The clinical epidemiology of human T-lymphotropic virus type II (HTLV-II). *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 13 Suppl 1:S215-9.

- Nagai M, Brennan MB, Sakai JA, Mora CA, Jacobson S 2001. CD8(+) T cells are an in vivo reservoir for human T-cell lymphotropic virus type I. *Blood* 98(6):1858-61.
- Nakano S, Ando Y, Ichijo M, Moriyama I, Saito S, Sugamura K, Hinuma Y 1984. Search for possible routes of vertical and horizontal transmission of adult T-cell leukemia virus. *Gann* 75(12):1044-5.
- Nam SH, Hatanaka M 1986. Identification of a protease gene of human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I) and its structural comparison. *Biochem Biophys Res Commun* 139(1):129-35.
- Nam SH, Kidokoro M, Shida H, Hatanaka M 1988. Processing of gag precursor polyprotein of human T-cell leukemia virus type I by virus-encoded protease. *J Virol* 62(10):3718-28.
- Nerurkar VR, Song KJ, Saitou N, Melland RR, Yanagihara R 1993. Interfamilial and intrafamilial genomic diversity and molecular phylogeny of human T-cell lymphotropic virus type I from Papua New Guinea and the Solomon Islands. *Virology* 196(2):506-13.
- Nobre V, Guedes AC, Proietti FA, Martins ML, Nassif G, Serufo JC, Lambertucci JR 2007. Increased prevalence of human T cell lymphotropic virus type 1 in patients attending a Brazilian dermatology clinic. *Intervirology* 50(4):316-8.
- Nunes CL, Andrade T, Galvao-Castro B, Bastos FI, Reingold A 2007. Assessing risk behaviors and prevalence of sexually transmitted and blood-borne infections among female crack cocaine users in Salvador--Bahia, Brazil. *Braz J Infect Dis* 11(6):561-6.
- Nyambi PN, Ville Y, Louwagie J, Bedjabaga I, Glowaczower E, Peeters M, Kerouedan D, Dazza M, Larouze B, van der Groen G and others 1996. Mother-to-child transmission of human T-cell lymphotropic virus types I and II (HTLV-I/II) in Gabon: a prospective follow-up of 4 years. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 12(2):187-92.
- Ohshima K 2007. Pathological features of diseases associated with human T-cell leukemia virus type I. *Cancer Sci* 98(6):772-8.
- Okochi K, Sato H, Hinuma Y 1984. A retrospective study on transmission of adult T cell leukemia virus by blood transfusion: seroconversion in recipients. *Vox Sang* 46(5):245-53.

- Olbrich Neto J, Meira DA 2004. [Soroprevalence of HTLV-I/II, HIV, siphylis and toxoplasmosis among pregnant women seen at Botucatu - Sao Paulo - Brazil: risk factors for HTLV-I/II infection]. *Rev Soc Bras Med Trop* 37(1):28-32.
- Oliveira SR, Avelino MM 2006. Soroprevalência do vírus linfotrópico – T humano tipo I entre gestantes em Goiânia, GO, Brasil. *Rev Bras Ginecol Obstet* 28(8): 467-72.
- Osame M, Janssen R, Kubota H, Nishitani H, Igata A, Nagataki S, Mori M, Goto I, Shimabukuro H, Khabbaz R and others 1990. Nationwide survey of HTLV-I-associated myelopathy in Japan: association with blood transfusion. *Ann Neurol* 28(1):50-6.
- Pimenta FC, Kashima Haddad S, de Medeiros Filho JG, Costa MJ, Diniz MF, Fernandes MP, de Araujo LB, Pombo-de-Oliveira MS 2008. Prevalence ratio of HTLV-1 in nursing mothers from the state of Paraíba, Northeastern Brazil. *J Hum Lact* 24(3):289-92.
- Pique C, Tursz T, Dokhelar MC 1990. Mutations introduced along the HTLV-I envelope gene result in a non-functional protein: a basis for envelope conservation? *Embo J* 9(13):4243-8.
- Pique C, Pham D, Tursz T, Dokhelar MC 1992. Human T-cell leukemia virus type I envelope protein maturation process: requirements for syncytium formation. *J Virol* 66(2):906-13.
- Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, Bunn PA, Minna JD, Gallo RC 1980. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 77(12):7415-9.
- Poiesz BJ, Dube S, Choi D, Esteban E, Ferrer J, Leon-Ponte M, de Perez GE, Glaser J, Devare SG, Vallari AS and others 2000. Comparative performances of an HTLV-I/II EIA and other serologic and PCR assays on samples from persons at risk for HTLV-II infection. *Transfusion* 40(8):924-30.
- Pombo-de-Oliveira MS, Carvalho SM, Borducchi D, Dobbin J, Salvador J, Correa RB, Moellman A, Loureiro P, Chiattonne C, Rios M 2001. Adult T-cell leukemia/lymphoma and cluster of HTLV-I associated diseases in Brazilian settings. *Leuk Lymphoma* 42(1-2):135-44.

- Popovic M, Reitz MS, Jr., Sarngadharan MG, Robert-Guroff M, Kalyanaraman VS, Nakao Y, Miyoshi I, Minowada J, Yoshida M, Ito Y and others 1982. The virus of Japanese adult T-cell leukaemia is a member of the human T-cell leukaemia virus group. *Nature* 300(5887):63-6.
- Proietti FA, Carneiro-Proietti AB, Catalan-Soares BC, Murphy EL 2005. Global epidemiology of HTLV-I infection and associated diseases. *Oncogene* 24(39):6058-68.
- Ramalingam S, Kannangai R, Prakash KJ, Ajithkumar K, Jacob M, George R, Pradeepkumar S, Daniel D, Dennison D, Babu PG 2001. A pilot study of HTLV-I infection in high-risk individuals & their family members from India. *Indian J Med Res* 113:201-9.
- Ratner L, Philpott T, Trowbridge DB 1991. Nucleotide sequence analysis of isolates of human T-lymphotropic virus type 1 of diverse geographical origins. *AIDS Res Hum Retroviruses* 7(11):923-41.
- Reeves WC, Saxinger C, Brenes MM, Quiroz E, Clark JW, Hoh MW, Blattner WA 1988. Human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) seroepidemiology and risk factors in metropolitan Panama. *Am J Epidemiol* 127(3):532-9.
- Rego FF, Alcantara LC, Moura Neto JP, Miranda AC, Pereira Ode S, Goncalves Mde S, Galvao-Castro B 2008. HTLV type 1 molecular study in Brazilian villages with African characteristics giving support to the post-Columbian introduction hypothesis. *AIDS Res Hum Retroviruses* 24(5):673-7.
- Richardson JH, Edwards AJ, Cruickshank JK, Rudge P, Dalgleish AG 1990. In vivo cellular tropism of human T-cell leukemia virus type 1. *J Virol* 64(11):5682-7.
- Roberts BD, Fong SK, Lipka JJ, Kaplan JE, Hadlock KG, Reyes GR, Chan L, Heneine W, Khabbaz RF 1993. Evaluation of an immunoblot assay for serological confirmation and differentiation of human T-cell lymphotropic virus types I and II. *J Clin Microbiol* 31(2):260-4.
- Roucoux DF, Wang B, Smith D, Nass CC, Smith J, Hutching ST, Newman B, Lee TH, Chafets DM, Murphy EL 2005. A prospective study of sexual transmission of human T lymphotropic virus (HTLV)-I and HTLV-II. *J Infect Dis* 191(9):1490-7.
- Saksena NK, Sherman MP, Yanagihara R, Dube DK, Poiesz BJ 1992. LTR sequence and phylogenetic analyses of a newly discovered variant of

- HTLV-I isolated from the Hagahai of Papua New Guinea. *Virology* 189(1):1-9.
- Salemi M, Van Dooren S, Audenaert E, Delaporte E, Goubau P, Desmyter J, Vandamme AM 1998. Two new human T-lymphotropic virus type I phylogenetic subtypes in seroindeterminates, a Mbuti pygmy and a Gabonese, have closest relatives among African STLV-I strains. *Virology* 246(2):277-87.
- Salemi M, Desmyter J, Vandamme AM 2000. Tempo and mode of human and simian T-lymphotropic virus (HTLV/STLV) evolution revealed by analyses of full-genome sequences. *Mol Biol Evol* 17(3):374-86.
- Sanchez-Palacios C, Gotuzzo E, Vandamme AM, Maldonado Y 2003. Seroprevalence and risk factors for human T-cell lymphotropic virus (HTLV-I) infection among ethnically and geographically diverse Peruvian women. *Int J Infect Dis* 7(2):132-7.
- Santos Tde J, Costa CM, Goubau P, Vandamme AM, Desmyter J, Van Doren S, Mota RM, de Castro Costa FB, Oliveira AC, Barreto V and others 2003. 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* 7(3):202-9.
- Santos SB, Porto AF, Muniz AL, de Jesus AR, Magalhaes E, Melo A, Dutra WO, Gollob KJ, Carvalho EM 2004. Exacerbated inflammatory cellular immune response characteristics of HAM/TSP is observed in a large proportion of HTLV-I asymptomatic carriers. *BMC Infect Dis* 4:7.
- Segurado AA, Biasutti C, Zeigler R, Rodrigues C, Damas CD, Jorge ML, Marchiori PE 2002. 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 Sao Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97(3):329-33.
- Seiki M, Hattori S, Yoshida M 1982. Human adult T-cell leukemia virus: molecular cloning of the provirus DNA and the unique terminal structure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 79(22):6899-902.



- Seiki M, Hattori S, Hirayama Y, Yoshida M 1983. Human adult T-cell leukemia virus: complete nucleotide sequence of the provirus genome integrated in leukemia cell DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 80(12):3618-22.
- Seiki M, Inoue J, Takeda T, Yoshida M 1986. Direct evidence that p40x of human T-cell leukemia virus type I is a trans-acting transcriptional activator. *Embo J* 5(3):561-5.
- Seppir Secretaria Especial de Políticas de Promoção da Igualdade Racial 2005. Disponível em: [http://www.presidencia.gov.br/estrutura\\_presidencia/seppir/copy\\_of\\_acoes/](http://www.presidencia.gov.br/estrutura_presidencia/seppir/copy_of_acoes/) Acesso em 09 de outubro de 2008.
- Seppir Secretaria Especial de Políticas de Promoção da Igualdade Racial 2008. Disponível em: [http://www.presidencia.gov.br/estrutura\\_presidencia/seppir/noticias/ultimas\\_noticias/](http://www.presidencia.gov.br/estrutura_presidencia/seppir/noticias/ultimas_noticias/). Acesso em 09 de outubro de 2008.
- Shimoyama M 1991. Diagnostic criteria and classification of clinical subtypes of adult T-cell leukaemia-lymphoma. A report from the Lymphoma Study Group (1984-87). *Br J Haematol* 79(3):428-37.
- Shindo N, Alcantara LC, Van Dooren S, Salemi M, Costa MC, Kashima S, Covas DT, Teva A, Pellegrini M, Brito I and others 2002. Human retroviruses (HIV and HTLV) in Brazilian Indians: seroepidemiological study and molecular epidemiology of HTLV type 2 isolates. *AIDS Res Hum Retroviruses* 18(1):71-7.
- Silva MJ 2003. Quilombos do Brasil Central: Violência e Resistência Escrava, 1nd ed., Kelps Goiânia, 521p.
- Silva M, Fonseca FLA, Sant'Anna AVL, Oliveira CGB, Moreira APF, Schindler F, Pint JLF, Pereira VP, Gáscon TM 2007. Prevalência de HTLV-1 e II em pacientes com linfoma no Ambulatório de Onco-Hematologia da Faculdade de Medicina do ABC. *NewsLab* (82): 130-8.
- Smith MR, Greene WC 1991. Molecular biology of the type I human T-cell leukemia virus (HTLV-I) and adult T-cell leukemia. *J Clin Invest* 87(3):761-6.
- Song KJ, Nerurkar VR, Saitou N, Lazo A, Blakeslee JR, Miyoshi I, Yanagihara R 1994. Genetic analysis and molecular phylogeny of simian T-cell

- lymphotropic virus type I: evidence for independent virus evolution in Asia and Africa. *Virology* 199(1):56-66.
- Sonoda S, Li HC, Cartier L, Nunez L, Tajima K 2000. Ancient HTLV type 1 provirus DNA of Andean mummy. *AIDS Res Hum Retroviruses* 16(16):1753-6.
- Souza GF, Magalhães SMM, Costa CMC, Rocha Filho FD Mota RM 2003. Soroprevalência e perfil imunofenotípico de células linfóides T em indivíduos soropositivos para o vírus linfotrópico de células T. *Rev Bras Hemoter* 25(1):11-38.
- Sullivan MT, Williams AE, Fang CT, Grandinetti T, Poiesz BJ, Ehrlich GD 1991. Transmission of human T-lymphotropic virus types I and II by blood transfusion. A retrospective study of recipients of blood components (1983 through 1988). The American Red Cross HTLV-I/II Collaborative Study Group. *Arch Intern Med* 151(10):2043-8.
- Take H, Umemoto M, Kusuhara K, Kuraya K 1993. Transmission routes of HTLV-I: an analysis of 66 families. *Jpn J Cancer Res* 84(12):1265-7.
- Tanaka G, Okayama A, Watanabe T, Aizawa S, Stuver S, Mueller N, Hsieh CC, Tsubouchi H 2005. The clonal expansion of human T lymphotropic virus type 1-infected T cells: a comparison between seroconverters and long-term carriers. *J Infect Dis* 191(7):1140-7.
- Taylor GP 1998. Pathogenesis and treatment of HTLV-I associated myelopathy. *Sex Transm Infect* 74(5):316-22.
- Thorstensson R, Albert J, Andersson S 2002. Strategies for diagnosis of HTLV-I and -II. *Transfusion* 42(6):780-91.
- Tokudome S, Tokunaga O, Shimamoto Y, Miyamoto Y, Sumida I, Kikuchi M, Takeshita M, Ikeda T, Fujiwara K, Yoshihara M and others 1989. Incidence of adult T-cell leukemia/lymphoma among human T-lymphotropic virus type I carriers in Saga, Japan. *Cancer Res* 49(1):226-8.
- Tuke PW, Luton P, Garson JA 1992. Differential diagnosis of HTLV-I and HTLV-II infections by restriction enzyme analysis of 'nested' PCR products. *J Virol Methods* 40(2):163-73.
- Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, Takatsuki K, Uchino H 1977. Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. *Blood* 50(3):481-92.

- Uchiyama T 1997. Human T cell leukemia virus type I (HTLV-I) and human diseases. *Annu Rev Immunol* 15:15-37.
- Usui T, Yanagihara K, Tsukasaki K, Murata K, Hasegawa H, Yamada Y, Kamihira S 2008. Characteristic expression of HTLV-1 basic zipper factor (HBZ) transcripts in HTLV-1 provirus-positive cells. *Retrovirology* 5:34.
- Vallinoto AC, Azevedo VN, Santos DE, Caniceiro S, Mesquita FC, Hall WW, Ishak MO, Ishak R 1998. Serological evidence of HTLV-I and HTLV-II coinfections in HIV-1 positive patients in Belem, state of Para, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93(3):407-9.
- Vallinoto AC, Muto NA, Pontes GS, Machado LF, Azevedo VN, dos Santos SE, Ribeiro-dos-Santos AK, Ishak MO, Ishak R 2004. Serological and molecular evidence of HTLV-I infection among Japanese immigrants living in the Amazon region of Brazil. *Jpn J Infect Dis* 57(4):156-9.
- Vallinoto AC, Pontes GS, Muto NA, Lopes IG, Machado LF, Azevedo VN, Carvalhaes FA, Santos SE, Guerreiro JF, Ishak MO and others 2006. Identification of human T-cell lymphotropic virus infection in a semi-isolated Afro-Brazilian quilombo located in the Marajo Island (Para, Brazil). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101(1):103-5.
- Van Dooren S, Gotuzzo E, Salemi M, Watts D, Audenaert E, Duwe S, Ellerbrok H, Grassmann R, Hagelberg E, Desmyter J and others 1998. Evidence for a post-Columbian introduction of human T-cell lymphotropic virus [type I] [corrected] in Latin America. *J Gen Virol* 79 ( Pt 11):2695-708.
- Van Dooren S, Salemi M, Vandamme AM 2001. Dating the origin of the African human T-cell lymphotropic virus type-i (HTLV-I) subtypes. *Mol Biol Evol* 18(4):661-71
- Van Dooren S, Pybus OG, Salemi M, Liu HF, Goubau P, Remondegui C, Talarmin A, Gotuzzo E, Alcantara LC, Galvao-Castro B and others 2004. The low evolutionary rate of human T-cell lymphotropic virus type-1 confirmed by analysis of vertical transmission chains. *Mol Biol Evol* 21(3):603-11..
- Van Dooren, SJA 2005. Molecular investigation of the evolutionary history and diversity of primate Tlymphotropic virus types 1 and 3 (Tese). Disponível em:<http://igitur-archive.library.uu.nl/dissertations/2005-1101-2000003/index.htm>. Acesso em 12 de novembro de 2008.

- Vandamme AM, Liu HF, Goubau P, Desmyter J 1994. Primate T-lymphotropic virus type I LTR sequence variation and its phylogenetic analysis: compatibility with an African origin of PTLV-I. *Virology* 202(1):212-23.
- Vandamme AM, Van Laethem K, Liu HF, Van Brussel M, Delaporte E, de Castro Costa CM, Fleischer C, Taylor G, Bertazzoni U, Desmyter J and others 1997. Use of a generic polymerase chain reaction assay detecting human T-lymphotropic virus (HTLV) types I, II and divergent simian strains in the evaluation of individuals with indeterminate HTLV serology. *J Med Virol* 52(1):1-7.
- Vandamme AM, Salemi M, Desmyter J 1998. The simian origins of the pathogenic human T-cell lymphotropic virus type I. *Trends Microbiol* 6(12):477-83.
- Varma M, Rudolph DL, Knuchel M, Switzer WM, Hadlock KG, Velligan M, Chan L, Fong SK, Lal RB 1995. Enhanced specificity of truncated transmembrane protein for serologic confirmation of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2 infections by western blot (immunoblot) assay containing recombinant envelope glycoproteins. *J Clin Microbiol* 33(12):3239-44.
- Veit APR, Mella EAC, Mella-Junior SE 2006. Soroprevalência do vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV-I/II) em indivíduos doadores de sangue do hemocentro da cidade de Maringá –PR. *Arq Ciênc Saúde Unipar, Umuarama* 10 (3): 123-6.
- Verdonck K, Gonzalez E, Van Dooren S, Vandamme AM, Vanham G, Gotuzzo E 2007. Human T-lymphotropic virus 1: recent knowledge about an ancient infection. *Lancet Infect Dis* 7(4):266-81.
- Vrielink H, Reesink HW 2004. HTLV-I/II prevalence in different geographic locations. *Transfus Med Rev* 18(1):46-57.
- Wachsman W, Slamon D, Shimotohno K, Golde DW, Chen IS 1985. Human T-cell leukemia virus x gene. *Cancer Res* 45(9 Suppl):4550s-4552s.
- Wattel E, Vartanian JP, Pannetier C, Wain-Hobson S 1995. Clonal expansion of human T-cell leukemia virus type I-infected cells in asymptomatic and symptomatic carriers without malignancy. *J Virol* 69(5):2863-8.
- WHO 1989. Virus Diseases: Human T lymphotropic virus type I, HTLV-I. *Wkly Epidemiol* 49: 382-383.

- Wiktor SZ, Pate EJ, Rosenberg PS, Barnett M, Palmer P, Medeiros D, Maloney EM, Blattner WA 1997. Mother-to-child transmission of human T-cell lymphotropic virus type I associated with prolonged breast-feeding. *J Hum Virol* 1(1):37-44.
- Williams CK, Alabi GO, Junaid TA, Saxinger C, Gallo RC, Blayney DW, Blattner WA, Greaves MF 1984. Human T cell leukaemia virus associated lymphoproliferative disease: report of two cases in Nigeria. *Br Med J (Clin Res Ed)* 288(6429):1495-6.
- Williams LO, Blumer SO, Schalla WO, Robinson PH, Handsfield JH, Fehd RJ, Hancock JS, Lipman HB, Hearn TL 2000. Laboratory performance in HTLV-I/II analysis. *Transfusion* 40(12):1514-21
- Wolfe ND, Heneine W, Carr JK, Garcia AD, Shanmugam V, Tamoufe U, Torimiro JN, Prosser AT, Lebreton M, Mpoudi-Ngole E and others 2005. Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(22):7994-9.
- Yamaguchi K, Takatsuki K 1993. Adult T cell leukaemia-lymphoma. *Baillieres Clin Haematol* 6(4):899-915.
- Yamaguchi K 2001. Declining trends in HTLV-I prevalence among blood donors in Japan. *Intern Med* 40(1):1-2.
- Yamashita M, Ido E, Miura T, Hayami M 1996. Molecular epidemiology of HTLV-I in the world. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 13 Suppl 1:S124-31.
- Yamashita M, Picchio G, Veronesi R, Ohkura S, Bare P, Hayami M 1998. HTLV-Is in Argentina are phylogenetically similar to those of other South American countries, but different from HTLV-Is in Africa. *J Med Virol* 55(2):152-60.
- Yanagihara R, Jenkins CL, Alexander SS, Mora CA, Garruto RM 1990. Human T lymphotropic virus type I infection in Papua New Guinea: high prevalence among the Hagahai confirmed by western analysis. *J Infect Dis* 162(3):649-54.
- Yoshida M 2001. Multiple viral strategies of HTLV-1 for dysregulation of cell growth control. *Annu Rev Immunol* 19:475-96.
- Zaaijer HL, Cuypers HT, Dudok de Wit C, Lelie PN 1994. Results of 1-year screening of donors in The Netherlands for human T-lymphotropic virus

(HTLV) type I: significance of Western blot patterns for confirmation of HTLV infection. *Transfusion* 34(10):877-80.

Zehender G, Ebranati E, Bernini F, De Maddalena C, Giambelli C, Collins J, Valverde A, Montin Z, Galli M 2007. Phylogeny of human T cell lymphotropic virus type 1 in Peru: a high degree of evolutionary relatedness with South African isolates. *AIDS Res Hum Retroviruses* 23(9):1146-9.