

JOSE NAPOLEAO MONTE DA CRUZ

A. I. D. S. ?

PREVALÊNCIA EM DOADORES DE SANGUE E GRUPOS DE RISCO

MONTE-HEV POSITIVO

TRABALHO APRESENTADO COMO REQUISITO  
FINAL AO CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM  
HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA

CONVENIO DFC - MEC - BID III

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FORTALEZA - CEARÁ

1987

À MEUS PAIS, RAZÃO PRIMEIRA DA MINHA  
EXISTÊNCIA.

À FÁTIMA, ROSA E MOISÉS, PRESENÇA  
CONSTANTE EM MINHA VIDA.

## Í N D I C E

|                                      | PÁGINA  |
|--------------------------------------|---------|
| 1 - INTRODUÇÃO -----                 | 01      |
| 2 - MATERIAIS E MÉTODOS -----        | 04/05   |
| 3 - RESULTADOS -----                 | 06 A 10 |
| 4 - DISCUSSÃO -----                  | 11/12   |
| 5 - SUMMARY -----                    | 13      |
| 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ----- | 14 A 18 |

A. I. D. S. ?

PREVALÊNCIA EM DOADORES DE SANGUE E GRUPOS DE RISCO (\*)

ANTI - H.I.V. POSITIVO

JOSÉ NAPOLEÃO MONTE DA CRUZ \* \*

### R E S U M O

No Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará pesquisou-se o Anti-HIV (Human Immunodeficiency Vírus) em 4.727 indivíduos, pelo método ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), distribuídos em grupo: 1º) Doadores de Sangue (masculino) seropositividade 0,1%, 2º) Candidatos rejeitados pela triagem 0%, 3º) Pacientes do Hospital das Clínicas 10,53%, 4º) Hemofílicos 16,67%, 5º) Comunicantes 23,08%.

O autor fez estudos comparativos destes dados com a literatura internacional objetivando mostrar a prevalência de positividade do HIV em doadores de sangue e grupos de risco.

(\*) Trabalho realizado no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE)

(\*\*) Farmacêutico-Bioquímico do Hospital Santa Isabel  
Aracoiaba - Ceará



## INTRODUÇÃO

O começo da década de 1980 foi marcada com uma nova epidemia de origem não identificada. Os primeiros casos desta enfermidade tiveram registros nos CDC (Center of Disease Control) Norte-Americanos infocando um fato comum, todos pacientes eram Homossexuais e suceptíveis a infecções oportunistas e/ou neoplasias (Sarcoma de Kaposi). (4, 7, 10, 13, 32, 41, 56)

A primeira denominação foi GRID (Gay Related Immuno Deficiency) ao se constatar nos Homossexuais uma intensa depressão imunológica (1, 14, 28, 30, 42). No Brasil o registro do 1º (primeiro) autóctone estudado imunologicamente tratava-se de um paciente de 41 (quarenta e um) anos e Homossexuais desde os 14 (quatorze) anos.(1). Mas, esta síndrome foi também detectada em outros grupos: Indivíduos viciados em drogas de aplicação endovenosa, parceiros Heterossexuais de indivíduos pertencentes a grupos de risco, Hemofílicos, pacientes politransfundidos etc. E, até heterossexuais Haitianos que viviam na Flórida e Nova York. Estes indivíduos eram procedentes de bairros de extrema prostituição. Questiona-se que os mesmos tenham negado ser Homossexualidade ao forte preconceito (24) contra os mesmos.

O agente causal da A.I.D.S. é o vírus HTLV-III/LAV, nomenclatura usada por algum tempo, hoje denominado HIV (Human Immunodeficiency Vírus). O vírus LAV (Linfadenopatya Vírus) foi isolado pela 1ª (primeira) vez no Instituto Pasteur, na França, de pacientes com Linfadenopatya, por Dr. Luc Montagnier e Barré-Sinoussi. (9, 22, 57). Simultaneamente, também foi isolado no Instituto Nacional do Câncer em Bethesda, Maryland, (EUA), o HTLV-III. (human T-cell Lymphotropic Vírus). (27,45) E, posteriormente Levy isolou o ARV (Vírus relacionados com a AIDS) (40).

Não há mais dúvidas tratar-se de um retrovírus exógeno capaz de se replicar através de "vírions", partículas infecciosas. Os vírions medem 100nm, aproximadamente. Constitui-se de um NÚCLEO CAPSÍDEO envolvido por uma cadeia de glicoproteínas "env" e a parte interna formada de RNA, representando seu genoma viral. Possui coeficiente de sedimentação 70 S ou 70 Svedberg; "gag" que controla a síntese de proteínas, "pol" enzima que auxilia a transcriptase reversa.

A transcriptase reversa associada aos Ions  $Mg^{+2}$  transforma o RNA do vírus em D.N.A para integrar-se a célula do hospedeiro (3, 12). O vírus da AIDS tem tropismo específico pelo linfócito  $T_4$  (Helper), célula chave do sistema imune. (21, 48).

Ainda são desconhecido os fatores que, em dado momento, desencadeiam a intensa multiplicação do vírus com extrema rapidez e destruição das células. O vírus integra-se ao D.N.A do linfócito hospedeiro por tempo indeterminado, intervalo entre o início da infecção e o aparecimento dos sintomas (31). Destruídos os linfócitos  $T_4$  (Helper) todo sistema imune fica comprometido. A interleucina-1 liberada pelo macrófago ativa o linf  $T_4$  (Helper) mas estes são incapazes de sensibilizar os linfócitos B a se diferenciar em plasmócitos para a produção de Ig implicando numa resposta negativa aos testes de hipersensibilidade tardia (anergia cutânea). (60). O desenvolvimento de neoplasias está relacionado a alteração do Interferon que ativaria os linfócitos NK (Natural Killer) sintetizada pelo Linf  $T_4$ , Helper (55). Existe um aumento relativo de Linf  $T_8$  (Supressor) chegando a inverter-se a relação  $T_4/T_8$  (38).

O antígeno de superfície CD4 do Linfócito Helper é o receptor do HTLV-III/LAV/ARC (37) e é bem identificado pelo Ac monoclonal OKT<sub>4</sub> (ORTH0) ou Leu 3 (Becton-Dyckison).

A profunda alteração imunológica faz desencadear nos pacientes Infecções oportunistas (viróticas, bacterianas e/ou parasitárias) (2, 19, 52) e neoplasias (Sarcoma de Kaposi, Linfomas etc). É um vírus neurotrópico e foi bem detectado no LCR levando a acreditar na possível replicação no cérebro. Com frequência, observa-se nos pacientes sinais de demência progressiva e alterações psiquiátricas. Pode causar encefalopatia difusa, meningite aguda ou crônica (34), esclerose amiotrófica lateral (35) e na fase avançada da doença observa-se alterações no comportamento, depressão, ansiedade, confusão mental, perda da memória e até perda total da consciência (36, 54).

Os sintomas e sinais da A.I.D.S. são muito inespecíficos. As manifestações clínicas devem ser profundamente analisadas, exames complementares como: radiologia do tórax, tomografia computadorizada, provas laboratoriais etc é sugestivo para melhor esclarecimento.

Antes da descoberta do vírus, o diagnóstico laboratorial baseava-se em provas de deficiência imunológica ocasionada pela destruição do linfócito  $T_4$  e cultura de células, inaplicável no diagnóstico rotineiro. Hoje são comumente usados métodos de detecção do Ac (Anti-HIV): Imunofluorescência Indireta (IFI), Enzyme-Linked Immunosorbent assay (ELISA), Rádio Imunoprecipitação (RIPA), Western Blot etc.

Fazendo-se aplicações de técnicas de anticorpos, IFI e/ou ELISA resolveu-se investigar a presença de HIV em doadores de sangue no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE). Iniciou-se com a IFI mas foi posteriormente substituído pela método ELISA que permite uma maior automação. O universo pesquisado englobou-se com amostras de sangue de Hemofílicos e pacientes com patologia a esclarecer do Hospital das Clínicas, além de pessoas que suspeitavam ter dito contacto com o vírus (comunicantes).

O objetivo principal desta pesquisa é identificar indivíduo infectado com o vírus. Encaminha-los aos Serviços Médicos Especializados, colaborando para diminuir a disseminação do HIV.

## MATERIAIS E MÉTODOS

A amostra estudada foi formada por soro de 4.727 indivíduos distribuídos nos seguintes grupos:

- 1º Grupo - Doadores de sangue selecionados conforme triagem de rotina nos Bancos de Sangue de acordo com a OMS.
- 2º Grupo - Candidatos a doadores de sangue, triados normalmente segundo normas da OMS (Organização Mundial de Saúde), considerados inaptos por apresentarem os seguintes fatores: Aumento de pressão arterial, aumento de temperatura, peso, estatura e hemoglobina incompatíveis para doação etc.
- 3º Grupo - Hemofílicos acompanhados pelo Serviço Médico do Hospital das Clínicas.
- 4º Grupo - Pacientes do Hospital das Clínicas com patologia a esclarecer.
- 5º Grupo - Indivíduos que procuravam, voluntariamente, o Setor de Sorologia por suspeitar ter tido contacto com o vírus; ou por ter convivido com adicticos, ou por ter tomado transfusão, ou por ser homossexual ativo etc.

O sangue destes indivíduos foi colhido com rigoroso cuidado aséptico, centrifugado e separado o soro. Todos os testes foram realizados nas primeiras 24 (vinte e quatro) horas, com raríssimas exceções. Quando isto ocorria o soro era conservado a menos 20°C.

Os métodos empregados foram: a)- Imunofluorescência Indireta (IFI), b)- Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) e c)- Western Blot. Trabalhou-se inicialmente com o método IFI (34a) obedecendo a seguinte técnica, (resumidamente):

Na placa contendo células infectada com o vírus coloca-se 10µl (dez microlitos) do soro diluído 1:8 e 1:16, incuba-se a



37°C em câmara úmida, retira-se o excesso com o tampão PBS (Phosphate Buffered Saline) trata-se com o conjugado Anti-globulina humana com azul de Evans em título previamente conhecido, aplica-se 10 µl deste conjugado na placa com o material a testar, volta a estufa para nova incubação por 30 (trinta) minutos. retira-se o excesso da placa, seca-a e monta (placa - lamínula) com glicerina tampão pH = 7,2.

Devido a falta de automação o método foi substituído pelo método ELISA (8) aplicando a seguinte técnica:

Faz-se a diluição do soro teste na proporção de 1:21 com um diluente próprio. As amostras diluídas são distribuídas em placas escavadas. Coloca-se 10µl de soro por dia em 3 (três) orifícios da placa (controle) e 10µl de soro negativo (controle) em 2 (dois) orifícios da placa. A todos orifícios da placa acrescenta-se 200 µl do diluente próprio e 1 (uma) esfera recoberta com o antígeno HIV. Incuba-se a placa, com o material em estudo, a 37°C por uma hora. Lava-se cada esfera com água destilada por 3 (três) vezes e acrescenta-se 200 µl de anti-globulina humana a todos os orifícios, incuba-se novamente por duas horas. Lava-se mais uma vez as esferas, transfere-se para tubos de ensaios e adiciona-se 300µl de OPD (O-Phenyle-Diamine) deixa-se por 30 (trinta) minutos a temperatura ambiente ao abrigo da luz. Decorrido os trinta minutos coloca-se um ml de ácido sulfúrico 1N a cada tubo. Faz-se a leitura no espectrofotômetro Quantum Analyzer no comprimento de onda 492 nm. O resultado é considerado positivo quando os valores de absorbância é superior ao "Cut-off" em pelo menos duas vezes. I.é, quando positivo prepara-se outra vez para confirmar. Determina-se também uma zona cinza(ZC), é uma faixa de 10% acima e abaixo do "Cut-off". Absorbância de teste nesta região é considerado um teste duvidoso e faz necessário coletar uma nova amostra para submetê-la novamente toda técnica.

#### NOTAS:

- \* As placas infectadas com o HIV (antígeno) para os testes de imunofluorescência foram preparadas pelo Instituto Oswaldo Cruz.
- \* O material técnica usado para o método ELISA foi adquirido a ABBOTT LABORATORIES e seguido rigorosamente suas instruções.
- \* Alguns testes positivos do nosso trabalho foram confirmados pelo o Instituto Oswaldo Cruz usando o método Western Blots.

## RESULTADOS

Estão apresentados em gráficos e tabelas com uma estimação por ponto e por intervalo.

TABELA - 1

ANTI-HIV EM DOADORES DE SANGUE DO HEMOCE

| S E X O | S O R O  |          | TOTAL |
|---------|----------|----------|-------|
|         | POSITIVO | NEGATIVO |       |
| F       | 0        | 359      | 359   |
| M       | 4        | 3.897    | 3.901 |
| TOTAL   | 4        | 4.256    | 4.260 |

1.a) Estimação da proporção dos casos positivos (M.F)

$$\text{por ponto } \hat{p} = \frac{4}{4.260} = 0,00093, \text{ i.é, } 0,093\%$$

$$\text{por intervalo } [0,00003 ; 0,0018], \text{ i.é;}$$

$$[0,003\% ; 0,18\%]$$

1.b) Estimação da proporção de casos positivos do sexo masculino em relação aos doadores do sexo masculino

$$\text{por ponto } \hat{p} = \frac{4}{3.901} = 0,001, \text{ i.é; } 0,1\%$$

$$\text{por intervalo } [0,00012 ; 0,00188], \text{ i.é,}$$

$$[0,012\% ; 0,188\%]$$

OBS.: Vemos uma maior proporção de casos positivos no se xo masculino.

TABELA - 1

Doadores que não passaram na triagem, ináptos (temporariamente) para doação de sangue

| S E X O | S O R O  |          | TOTAL |
|---------|----------|----------|-------|
|         | POSITIVO | NEGATIVO |       |
| F       | 0        | 98       | 98    |
| M       | 0        | 287      | 287   |
| TOTAL   | 0        | 385      | 385   |

TABELA - 3

Pacientes do Hospital das Clínicas com alguma sintomatologia ou patologia a esclarecer

| S E X O | S O R O  |          | TOTAL |
|---------|----------|----------|-------|
|         | POSITIVO | NEGATIVO |       |
| F       | 1        | 0        | 1     |
| M       | 3        | 34       | 37    |
| TOTAL   | 4        | 34       | 38    |

3.a) Estimação da proporção de casos positivos (M.F.) em relação ao total de pacientes

$$\text{Por ponto } \hat{p} = \frac{4}{38} = 0,1053 \text{ ou } 10,53\%$$

Por intervalo

$$[0,0077 ; 0,1029], \text{ i.é, } [0,77\% ; 10,29\%]$$

3.b) Estimação da proporção de casos positivos do sexo masculino com relação ao total dos doadores do sexo masculino

$$\hat{p} = \frac{3}{37} = 0,0811 \text{ ou } 8,1\%$$

TABELA - 4

PACIENTES HEMOFÍLICOS DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS

| S E X O | S O R O  |          | TOTAL |
|---------|----------|----------|-------|
|         | POSITIVO | NEGATIVO |       |
| F       | 0        | 1        | 1     |
| M       | 3        | 14       | 17    |
| TOTAL   | 3        | 15       | 18    |

4.a) Estimação da proporção de casos positivos (F.M.) em relação ao total de doadores

por ponto  $\hat{p} = \frac{3}{18} = 0,1667$  ou 16,67%

por intervalo  $[0; 0,3389]$  ou  $[0\% ; 33,89\%]$

4.b) Estimação da proporção de casos positivos no sexo masculino em relação ao total de pacientes do sexo masculino

por ponto  $\frac{3}{17} = 0,1765$  ou 17,65%

por intervalo  $[0; 0,3577]$  ou  $[0\% ; 35,77\%]$

TABELA - 5

Comunicantes, pessoas que suspeitam ter tido o contato com o vírus

| S E X O | S O R O  |          | TOTAL |
|---------|----------|----------|-------|
|         | POSITIVO | NEGATIVO |       |
| F       | 0        | 1        | 1     |
| M       | 6        | 19       | 25    |
| TOTAL   | 6        | 20       | 26    |



5.a) Estimação da proporção de casos positivos em relação ao total

por ponto  $\hat{p} = \frac{6}{26} = 0,2308$  ou 23,08%

por intervalo  $[0,0688 ; 0,3928]$  ou  $[6,88\% ; 39,28\%]$

5.b) Estimação de proporção de casos positivos do sexo masculino em relação ao total do sexo masculino

por ponto  $\hat{p} = \frac{6}{25} = 0,24$  ou 24%

por intervalo  $[0,0726 ; 0,4074]$  ou  $[7,26\% ; 40,74\%]$

TABELA - 6

Tabela de valores observados em Hemofílicos, paciente do Hospital das Clínicas e Comunicantes

| S E X O | S O R O  |          | TOTAL |
|---------|----------|----------|-------|
|         | POSITIVO | NEGATIVO |       |
| F       | 1        | 2        | 3     |
| M       | 12       | 67       | 79    |
| TOTAL   | 13       | 69       | 82    |

6.a) Estimação da proporção de casos positivos em relação ao total de doadores

por ponto  $\hat{p} = \frac{13}{82} = 0,1583$  ou 15,83%

por intervalo  $[0,0795 ; 0,2375]$  ou  $[7,95\% ; 23,75\%]$

6.b) Estimação da proporção dos casos positivos do sexo masculino em relação aos pacientes masculinos

por ponto  $\hat{p} = \frac{1}{3} = 0,3333$  ou 33,33%

por intervalo  $[0 ; 0,8667]$  ou  $[0\% ; 86,67\%]$

TABELA - 7

Tabela dos valores observados envolvendo todos grupos estudados

| S E X O | S Q R O  |          | TOTAL |
|---------|----------|----------|-------|
|         | POSITIVO | NEGATIVO |       |
| F       | 1        | 459      | 460   |
| M       | 16       | 4.251    | 4.267 |
| TOTAL   | 17       | 4.610    | 4.627 |

7.a) Estimação de proporção de pessoas soropositivos em relação ao total de pessoas

$$\text{por ponto } \hat{p} = \frac{17}{4.727} = 0,0036, \text{ i.é, } 0,36\%$$

7.b) Estimação da proporção

por intervalo  $[0,00 ; 0,0091]$ , i.é,

$[0\% \text{ a } 0,91\%]$

A análise estatística dos dados foi processada:

a)- por ponto  $\hat{p} = \frac{\text{Nº de pessoas Anti-HIV (positivo)}}{\text{Nº total das pessoas do grupo}}$

b)- por intervalo  $= \hat{p} \pm Z_{\alpha/2} \cdot \sqrt{\frac{\hat{p} \cdot \hat{q}}{n}}$

$\alpha$  - nível de significância, fixado em 5%

Z - valor tabelado na curva normal

$$Z_{0,025} = \pm 1,96$$

## DISCUSSÃO

A presença do anticorpo, ou Anti-HIV positivo, não significa que o indivíduo está com AIDS mas seu sangue não deve ser transfundido. (45)

No nosso trabalho, doadores de sangue, indivíduos aparentemente saudáveis, formam o grupo 1. A positividade no sexo masculino foi de 0,1%, 4 em 3.901. A estimação por proporção em intervalo apresentou [0,003% ; 0,18%] em toda amostra estudada. Percentual relativamente alto, mas coincidente com o anteriormente encontrado, para esta população em Fortaleza. (53). Em Londres a seropositividade é de 0,9% e 0,16% foi encontrado na Alemanha (33). O valor encontrado se compara a literatura mundial que tem mostrado ser inferior a 1% em vários centros estudados. (50, 57, 58).

A ausência do Anti-HIV não implica em total segurança para a transfusão. Uma conduta que já se tornou de rotina é a inativação do vírus pelo calor permitindo uma maior segurança para o seu uso. (47). O grupo 2 não apresentou caso positivo. O teste sorológico positivo, Anti-HIV no soro, inferé que o indivíduo teve contacto com o vírus sendo preconizado o teste de Western Blot pelo CDC de Atlanta. (46). De alguns pacientes foram enviados para confirmação no Instituto Oswaldo Cruz por a metodologia proposta.

Foi pesquisado HIV num outro grupo de pacientes. O grupo 3, constituído por doentes do Hospital das Clínicas, com sintomatologia diversas e diagnóstico a esclarecer. De 38 indivíduos estudados, 37 do sexo masculino e 01 do sexo feminino, o resultado de 10,1%, 4 em 38, pode ser considerado alto mas não foi investigado se alguma vez houve transfusão nestes pacientes. Admite-se que uma certa quantidade possa pertencer a algum grupo de risco.

Nos Estados Unidos acima de 2% dos casos de AIDS tem como causa de transmissão transfusões sanguíneas. (15, 16, 17, 22, 29, 33, 39, 49, 59). Os  $\beta$  - talassêmicos, politransfundidos (44) e Hemofílicos (26,38) são os que apresentam alto percentual de positividade para os testes de detecção do vírus. O nosso grupo 4 era formado por 18 Hemofílicos. A estimação da proporção foi de 16,67%. As estatísticas mostram um percentual bem mais elevado para os pacientes que tomam concentrados de fator VIII ou IX comerciais, chegando a mais de 70% dos casos em alguns estudos (20, 43). Outros

achados mostram ficarem 10 a 40% os Hemofílicos que tomam crioprecipitado e/ou são tratados por outros esquemas terapêuticos. (11)

O grupo 5, foi o grupo mais heterogêneo pesquisado, apresentou uma prevalência de 23,08%, 6 em 26. Devido as dificuldades de classificá-los nos grupos de risco que admitimos pertencer ficamos impossibilitados de estudá-los comparativamente. Apenas, procedemos a estimação por ponto e por intervalo: [6,88%;39,28%].

Casos relatados de transmissão da doença por transfusão de sangue (Hemofílicos,  $\beta$ -talassêmicos etc) (5, 11, 16, 18, 25) desencadeou a necessidade dos Bancos de Sangue em evitar a disseminação do vírus.

O Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), local onde realizou esse trabalho, utiliza de rotina o teste ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) e tem estrutura para aplicar também a Imunofluorescência. (IFI). Acredita-se que em determinar a prevalência de positividade em Doadores, Hemofílicos, Comunicantes etc e encaminhá-los aos Serviços Médicos Especializados damos a nossa parcela de colaboração contra a difusão do vírus.



## S U M M A R Y

Anti-HIV was studied in 4.727 individuals seen at the Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará, using the ELISA method. The rates of positive results for 5 different groups were the following : 1. Male blood donors, 0.10%; 2. candidates for donating blood who were rejected by routine screening, 0%; 3. Patients from Hospital das Clínicas, 10.53%; 4. Hemophiliacs, 16,67%; 5. contacts of individuals with positive serology 23.08%.

These results are compared with those cited in the international literature to show the prevalence of positive serology to HIV in blood donors and groups at risk.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. AMATO, N.V. et alii. Síndrome da Immunodeficiência (AIDS): descrição do primeiro caso autóctone do Brasil e estudo imunológico. Rev. Paul. Med., 101 (4): 165-68, 1983.
02. ALLEGRA, S. R. et alii. Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). Light microscopic, ultrastructural and immunocytochemical studies of one case. J. S. Cytol., 16:561-68, 1984.
03. AGYA, S. L. et alii. Homology of genome of AIDS. Associated virus with genomes of human T-cell leukemia viruses. SCIENCE, 225:927-30, 1984.
04. AUHUBER, I. et alii. The first case of AIDS in Tyrol. Wien Klin Wochensche, 96:426-37, 1984.
05. AABB/CCBC/ARC. Joint statement on tests for HTLV-III antidotes: recommendations for notification of HTLV-III antibody positive donors and for recipients of products from previous donation. Bune 7, 1985.
06. BUDIANSKI, S. AIDS control: problems of new blood test. NATURE, 309:106-11, 1984.
07. BELDA, W. et alii. Considerações sobre a Síndrome de imunodeficiência Adquirida (AIDS). Boletim Informativo De La Union, 9:2-5, 1984.
08. BUDIANSKI, S. AIDS development: NIH to licence HTLV. NATURE, 309:577-5, 1984.
09. BARRE, S. F. et alii. Isolation of a T-lymotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immunodeficiency Syndrome (AIDS). SCIENCE, 220:868-71, 1983.
10. BAYER, W. L. et alii. The significance of nom-A, nom-B Hepatitis, cytomegalovirus and the Acquired Immunodeficiency Syndrome in transfusion practice. Clin. Haematol., 13:235-69, 1984.
11. BLATTNER, W. A. et alii. Epidemiology of human T-Lymphotropic virus Type-III and the risk of the Acquired Immunodeficiency Syndrome. Ann. Inter. Med., 103:665-70, 1985.
12. CHERMANN, J. C. et alii. Isolation of a new retrovirus in a patient at risk for Acquired Immunodeficiency Syndrome. Antibiot. Chemother, 32:48-53, 1984.

13. CONANT, M. A. Speculations on the viral etiology of Acquired Immune Deficiency Syndrome and Kaposi's Sarcoma. The Journal of Investigative Dermatology, 83:57s-62s, 1983.
14. CAVAILLE, C. M. et alii. Immunological evolution of Acquired Immunodeficiency Syndrome patients in France. Preliminary results. Antibiot. Chemother., 32:105-11, 1984.
15. CONTRERAS, M. et alii. Slood donors at high risk of transmitting the Acquired Immunodeficiency Syndrome. Med. J., 290:749-50, 1985.
16. CHAMBERLAND, M. E. et alii. Acquired Immunodeficiency Syndrome in tha United States:an analysis of cases outside high-incidence groups. Ann. Inter. Med., 101:617-23, 1984.
17. CURRAN, J. W. et alii. Acquired Immunodeficiency Syndrome associated with transfusions. N. Eng. J. Med., 310:69-75, 1984.
18. DERRIER, J. B. AIDS and the use of blood components and derivatives: The Canadian Perspective. Canadian Medical Association Journal, 131:20-22, 1984.
19. DE MAUBEUGE, J. et alii. Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) revealed by severe recurrent genital herpes simplex. Tho cases. Dermatologica, 168:105-11, 1984.
20. EVATT, B. L. et alii. Antibodies to human T-cell leukaemia virus associated membrane antigens in Maemophiliacs: evidence for infection before. LANCET, 24:698-700, 1983.
21. EDWARDS, K. M. et alii. Seven combined immunodeficiency associated with absent T4+ helper cells. The Journal of Pediatrics, 105:70-2, 1984.
22. FEORINO, P. M. et alii. Lymptsdenopathy associated virus infection of a blood donor-recipient pair with Acquired Immunodeficiency Syndrome. SCIENCE, 225:69-82, 1984.
23. FEORINO, P. M. et alii. Transfusion associated Acquired Immunodeficiency Syndrome. N. Engl. J. Med., 290-6, 1985.
24. FOLLANSBEE, S. E. et alii. In outbreak of Pneumocystis carinii pneumonia in homosexual men. Ann. Inter. Med., 96:705-13, 1982.
25. GORDON, S. M. et alii. Acquired Immune Deficiency Syndrome possibly related to transfusion in an adult without known disease-risk factors. The Journal of Infectious Diseases, 149:1030-2, 1984.

26. GERSTEIN, H. C. et alii. AIDS in a patient with hemophilic receiving mainly cryoprecipitate. Canadian Medical Association Journal, 131:45-7, 1984.
27. GALLO, R. C. et alii. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. SCIENCE, 224:500-2, 1984.
28. GOEDERT, J. J. & GALLO; R. C. et alii. Natural history of HTLV-III. Seropositive persons from AIDS risk groups. R.B.C.T., 15: 272-5, 1985.
29. GORDON, R. S. More on blood transfusion and AIDS. The New England Journal of Medicine, 6:1742, 1984
30. GOING, O. J. Groups at high risk for AIDS. The New England Journal of Medicine, 7:124.1984.
31. HANRAHAM, J. P. et alii. Prolonged incubation period of AIDS in intravenous drug abusers: epidemiological evidence in prison inmates. The Journal of Infectious Diseases, 150:263-6, 1984.
32. HURLEN, B. et alii. AIDS: Complications in dental treatment. Int. J. Oral Surg., 13:148-50, 1984.
33. HUNSSMAN, G. et alii. HTLV-III antibody positive blood donors. LANCET, 1:1223, 1985.
34. HO, D.D. et alii. Isolation of HTLV-III from cerebrospinal fluid and neural tissues of patients with neurologic syndromes related to the Acquired Immunodeficiency Syndrome. N. Engl. J. Med. 313(24):1493, 1985.
- 34a. HO, D.D. & GALLO, R. C. et alii. Detection of human anti-HTLV-III antibodies by indirect immunofluorescence using fixed cells. Transfusion, 25 (4): 308-12, 1983.
35. HOFFMAN, P. et alii, Isolation of LAV/HTLV-III from a patient with amyotrophic lateral sclerosis. N. Engl. J. Med. 313(5): 324.1985.
36. HOLLAND, J & TROSS, S. The psychosocial and neuropsychiatric sequelae of the Acquired Immunodeficiency Syndrome and related disorders. Ann. Inter. Med., 103:760, 1985.
37. JAFFE, H. W. et alii. Transfusion associated AIDS. Serologic evidence of human T-cell leukemia virus infection of donors. SCIENCE, 223:1309-12, 1984.
38. JASON, I.M. et alii. Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) in hemophiliacs. Scand. J. Haematol., 33:349-56, 1984.



39. JAFFE, H.W. et alii. Infection with HTLV-III/LAV and transfusion associated AIDS. J. A. M. A., 254:770-3, 1985.
40. LEVY, J. A. et alii. Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. SCIENCE, 225:840-2, 1984.
41. MOSKOWITZ, E. M. The treatment of dental patients with AIDS, New York Journal of Dentistry, 54:119-20, 1984.
42. MARMOR, M. et alii. HTLV-III seropositivity and its relationship to disease in a prospective study of homosexual males. R. B. C. T., 15:275, 1986.
43. MELBYE, M. et alii. HTLV-III seropositivity in European haemophiliacs exposed to factor VIII concentrate imported from the U.S.A. LANCET, 22:1444-46, 1984.
44. MARTINO, M. et alii. Antibodies to HTLV-III and the lymphodeno<sub>2</sub> pathy syndrome in multitransfused-B talassemia patients. Vox Sang, 49:230, 1985.
45. PROPOVIC, M. et alii. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. SCIENCE, 224:497-500, 1984.
46. P. P. H. S. I. Agency Recommendations for Screening donated blood and plasma for antibody to the virus causing Acquired Immunodeficiency Syndrome. M. M. W. R. 34,1:1-5, 1985.
47. ROUZINOUX, C. et alii. Absence of antibodies to AIDS virus in haemophiliacs treated with heat-treated factor VIII concentrate. LANCET, 2:271, 1985.
48. SARNGADHARAN, M. G. & GALLO, R. C. et alii. Antibodies reactive with human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) in the serum of patients with AIDS. SCIENCE, 224:506-8, 1984.
49. SCHNEIDER, J. et alii. Antibodies to HTLV-III in German blood donors. LANCET, 1:276-6, 1985.
50. SAFAI, B. et alii. Seroepidemiological studies of human T-lymphotropic retrovirus type III in Acquired Immune deficiency Syndrome. LANCET, 30:1438-40, 1984.
51. SALAHUDDIN, S. et alii. HTLV-III in symptom-free seronegative persons. LANCET, 22:1418-20, 1984.
52. STANISLAWSKI, E. C. et alii. Un caso de Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida de sujeto homosexual masculino en México. I. Aspectos microscópicos y ultraestructurales. Rev. Med. I. M. S. S., 22:121, 1984.

53. SOARES, J. A. J. et alii. AIDS-Sorologia em Fortaleza. Jan-Dez, 1986.
54. THOMAS, C. S. et alii. HTLV-III and psychiatric disturbance. LANCET, 2:395, 1985.
55. UILCEF, J. Adverse effects of interferon in virus infections au toimmune diseasres and Acquired Immunodeficiency. Prog. Med. Virol, 30:62-16, 1984.
56. VIERA, J. et alii. Acquired Immune Deficiency in hartrans: oportunistic infections in previously healthy hartian immi— grants. J. Med., 308:125-29, 1983.
57. VEZINET, F. B. et alii. Detection of IgG antibodies to lymphadenopathy - associated virus in patients with AIDS on lym— phadenopathy syndrome. LANCET, 9:1253-56, 1984.
58. WEISS, S. H. et alii. Screeming tests for HTLV-III antibodies. J. A. M. A., 253:221-5, 1985.
59. WENDEL, S.N. et alii. AIDS and blood donors in Brasil. LANCET, 2:506. 1985.
60. ZAKUTH, E. et. alii. Interleukim-2 production and response to exogenous interleukim-2 in a patient with the acquired immu ne deficiency syndrome (AIDS). Clin. exp. Immunol., 56:14— 17, 1984.

