

9

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA
CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ-HEMOCE

HTLV - I / II EM PACIENTES NÃO TRANSFUNDIDOS DO
AMBULATÓRIO DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO WALTER
CANTÍDIO - UFC - HEMOCE

Gianna Mendes Ribeiro

Fortaleza - Ceará
1998

Y

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA
CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ-HEMOCE

HTLV - I / II EM PACIENTES NÃO TRANSFUNDIDOS DO
AMBULATÓRIO DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO WALTER
CANTÍDIO - UFC - HEMOCE

Gianna Mendes Ribeiro

Trabalho apresentado como requisito final do
Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia

Fortaleza - Ceará
1998

ORIENTADORA:
Dra. Francisca Vânia A. F. Gomes

AGRADECIMENTOS

A DEUS, causa primária de todas as coisas.

Aos pacientes participantes do estudo.

Dra. Francisca Vânia Barreto A. F. Gomes pela compreensão e apoio.

Dr. Francisco Plácido de Sousa Basílio pelo apoio na realização da pesquisa.

Dr. Napoleão (Setor de Sorologia do HEMOCE) pela atenção dispensada para a elaboração deste trabalho.

Ao Dr. Mário Rigatto pelo aprendizado durante o Curso de Metodologia Científica.

Dra. Zilmar Fontenele pela compreensão durante o decorrer do Curso de Especialização em Hematologia.

Aos amigos do Curso de Especialização pelo companheirismo e incentivo.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Carlos Marden pelo apoio, compreensão e carinho.

Rosângela e William pela participação na elaboração gráfica deste trabalho.

As amigas Amélia Cabó e Áurea Deodato pelo apoio amigo e sincero.

À Fabíola Rolim (Setor de Hematologia do HEMOCE)

À equipe de coleta do Laboratório Central-HUWC-UFC.

À Eugênia e Newton, companheiros de trabalho, pela força e compreensão dadas durante a realização do Curso de Especialização e por terem suportado os meus momentos de mau humor.

À Vilma e Marcos pela ajuda e incentivo dado para a entrega desta monografia.

A todos que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

Resumo	6
Introdução	7
Material e Métodos	10
Resultados	12
Discussão	13
Conclusão	14
Summary	15
Referências Bibliográficas	16
Anexos	22

HTLV - I / II EM PACIENTES NÃO TRANSFUNDIDOS DO AMBULATÓRIO DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO WALTER CANTÍDIO - UFC - HEMOCE¹

Gianna Mendes Ribeiro²

RESUMO

Para avaliar a prevalência de infecção por HTLV-I e HTLV-II em pacientes do ambulatório do Hospital Universitário Walter Cantídio - HUWC- UFC, amostras de 1.013 indivíduos não transfundidos foram submetidas à análise sorológica pela reação de ELISA e os casos positivos, submetidos à análise pelo WESTERN BLOT, teste confirmatório.

O grupo constituído de 268 (26,5 %), pacientes do sexo masculino, com faixa etária entre 05 a 83 anos e de 745 (73,5%) do sexo feminino com idade entre 06 a 86 anos; 27 (2,7%) crianças (<15 anos) e 986 (97,3%) adultos.

Das 1.013 amostras analisadas, 11 (1,08%) foram sororreativas pelo ELISA, das quais 09 (0,89%) foram soropositivas e 02 (0,2%) soronegativas pelo WESTERN BLOT.

A frequência de pacientes soropositivos pelo WESTERN BLOT, mostrou predominância pelo sexo feminino (55,6%), e a faixa etária dos pacientes mais afetados foi a de 60 anos.

Dos 09 pacientes sororreativos pelo WESTERN BLOT, 04 (44,4%) estão infectados pelo vírus HTLV do tipo I, sendo 01 do sexo masculino e 03 do sexo feminino; 04 (44,4%), infectados pelo vírus HTLV do tipo II, um pertencente ao sexo masculino e 03 do sexo feminino e , apenas 01 (9,1%), do sexo masculino, infectado pelo anticorpo anti-HTLV.

Um dos pacientes apresentou uma fraca reatividade para a p24 (gag) e reatividade para a GD21 e rgp46-II (env), provavelmente um caso de soroconversão de infecção pôr anticorpos anti HTLV-II, que precisa ser posteriormente investigado.

¹ Trabalho apresentado como requisito final do XII Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia.

² Farmacêutica-Bioquímica do Hospital Universitário Walter Cantídio-UFC-Laboratório Central

INTRODUÇÃO

Os retrovírus HTLV-I e HTLV-II são vírus linfotrópicos de células T humanas, pertencentes à subfamília *Oncoviridae*, com genoma de ácido nucléico (RNA), que infectam células T maduras/indutoras, geralmente CD3+ e CD4+. Em 1980, isolou-se o vírus HTLV-I, a partir de linfócitos de paciente com linfoma cutâneo de células T (POIESZ et al., 1980). Em 1982, isolou-se o vírus HTLV-II de células esplênicas de paciente com tricoleucemia (leucemia "hairy cell"). Em 1983, isolou-se o HTLV-III e em 1985, isolou-se o HTLV-IV. Os dois últimos renominados, em 1985, pela Organização Mundial de Saúde - OMS, passando a ser chamados de HIV-1 e HIV-2, respectivamente, estes causadores da imunodeficiência humana adquirida - AIDS (KALYANARAMAN et al., 1982).

Os vírus HTLV-I e HTLV-II são partículas esféricas de aproximadamente 100 nanômetros de diâmetro, compostas de um core central que contém RNA, a enzima transcriptase reversa, característica dos retrovírus e que possibilita a síntese de DNA proviral a partir de RNA do vírus; as proteínas do capsídio protéico; além de um envelope externo composto de glicoproteínas.

Depois da entrada do vírus na célula T, seu genoma é copiado para DNA (ácido desoxirribonucleico) pela transcriptase reversa e é integrado no genoma celular, formando o provírus.

A semelhança genética observada nos vírus HTLV-I e HTLV-II é de aproximadamente 65%, o que justifica a elevada sororeatividade cruzada, observada em soros de pacientes infectados por HTLV-I ou HTLV-II (SODROSKI et al., 1984).

A organização geral do genoma do HTLV-I/II (aproximadamente 9.000 pares de bases) é constituído pelos genes GAG, POL e ENV, os quais codificam, respectivamente as proteínas internas do core viral, a enzima transcriptase reversa e as proteínas do envelope. Uma região na sequência de nucleotídios do HTLV-I/II, conhecida por longas cadeias abertas de leitura ("open readings frames", ORF), codifica uma proteína (40KD) que é o gene TAX (px40), responsável pela imortalização de células infectadas. Um outro gene designado REX parece regular a expressão de gene TAX e facilita o transporte do vírus do núcleo para o citoplasma. (YOSHIDA et al., 1980; SHAW et al., 1991).

O gene GAG, codifica as proteínas p19, p24 e p15, que são proteínas da matriz, capsídio e nucleotídio, respectivamente. No gene POL, situam-se os sinais para a produção da transcriptase reversa (p95), e a produção da integrase (IN) viral. O envelope (ENV) codifica as proteínas do envelope, gp46 e gp21. A gp46, uma proteína de superfície, tem a função de ligar o vírus ao receptor celular e a gp21, proteína transmembranar, participa dos processos acima que têm possível papel imunossupressor.

O gene X, codifica as proteínas Tax (p40x), Rex (p27x) e p21x. As duas primeiras, proteínas nucleares e a última, citoplasmática. (JOHNSON et al., 1988).

Na grande maioria das vezes, a infecção pelos vírus HTLV-I/II, não determina qualquer alteração clínica. Assim, observa-se que os portadores desses retrovírus costumam passar toda a vida sem problemas relacionados à infecção e, em geral, só

chegam a descobrir que estão infectados no ato de doar sangue, por exemplo. No entanto, sabe-se que o HTLV-I pode raramente causar duas doenças: a leucemia/linfoma de células T do adulto (ATL/L), doença descrita entre os habitantes das ilhas localizadas ao sul do Japão (TAKATSUKI et al., 1985) e a paraparesia espástica tropical ou mieloplasia associada ao HTLV-I (HAM/TSP), doença neurológica crônica inicialmente identificada em pacientes do Caribe (GESSAIN et al., 1985) e posteriormente, no Japão (OSAME et al., 1996).

Mais recentemente, pesquisadores japoneses descreveram quadro de uveíte (inflamação do globo ocular) em portadores de HTLV-I e em pacientes com HAM/TSP, especialmente no Japão (MOCHIZUKI et al., 1992).

Raros casos de mielopatias crônicas, semelhantes aos de HAM/TSP, têm-se identificado com a participação de HTLV-II (HJELLE et al., 1992 ; JACOBSON et al., 1993).

O vírus HTLV-I pode ser encontrado em vários continentes do globo, especialmente nas ilhas situadas ao sul do arquipélago japonês, onde 18% da população adulta apresenta anticorpos anti-HTLV-I (MOROFUJI-HIRATA et al., 1993); nas regiões sudoeste dos Estados Unidos da América (CANAVAGGIO et al., 1990); nas ilhas do Caribe (WATTEL et al., 1992); na América Central e do Sul (TRUJILLO et al., 1992); em algumas regiões da África, habitada por pigmeus na República de Camarões e no Zaire (FROMENT et al., 1993) e (GOUBAU et al., 1993) e ainda, na Melanésia (YANAGIHARA et al., 1990).

O HTLV-II tem maior soroprevalência entre usuário de drogas endovenosas, tanto nos Estados Unidos (KHABBAZ et al., 1992) como em países europeus (ZANETTI et al., 1992). Alta frequência da infecção por HTLV-II tem sido ainda demonstrada em populações indígenas das Américas e ainda na África, entre pigmeus da República de Camarões (FROMENT et al., 1993) e (GOUBAU et al., 1992).

No Brasil, as primeiras evidências da presença do HTLV-I/II, foram realizadas através de inquéritos soropidemiológicos entre tribos de ameríndios da Amazônia (MALONEY et al., 1992).

Hoje, vários estudos têm demonstrado a infecção por HTLV-I ou HTLV-II nos pacientes com AIDS, entre homossexuais, entre prostitutas, entre portadores assintomáticos de HIV, entre parceiros sexuais, entre pacientes com neoplasias hematológicas e, também entre os pacientes candidatos a doadores de sangue voluntários.

Os indivíduos que têm maior chance de desenvolverem a doença são os que adquiriram a infecção na infância, já que o período de incubação é longo. Apesar de poucas pessoas desenvolverem a doença, quando ela surge em geral é grave. Somente cerca de 2-4% das pessoas infectadas das áreas endêmicas, desenvolvem ATL-leucemia de células T do adulto (KONDO et al., 1985) e (MURPHY et al., 1989), e menos de 1% irão apresentar TSP- paraparesia espástica tropical (KAPLAN et al., 1990).

Os mecanismos de transmissão reconhecidos para HTLV-I incluem a transmissão vertical (de mães infectadas para seu filho), especialmente pelo leite materno (SAJI et al,

1990), e a transmissão através de transfusão sanguínea (SULLIVAN et al., 1991) ou uso comum de objetos contaminados com sangue (ROSENBLATT et al., 1990) ou ainda, por relacionamento sexual (MURPHY et al., 1989).

Com relação ao HTLV-II, admite-se que seus mecanismos de transmissão sejam os mesmos descritos para o HTLV-I e outros retrovírus humanos. Destaca-se para este vírus a importância da transmissão por agulhas e seringas contaminadas entre usuários de drogas injetáveis (EHRLICH et al., 1989), a transmissão transfusional (HJELLE et al., 1990) e sexual (GRACIA et al., 1992). Já a transmissão vertical deste vírus foi evidenciada mais recentemente (LAL et al., 1994).

O diagnóstico rotineiro da infecção por HTLV-I/II, baseia-se na detecção de anticorpos específicos no sangue dos indivíduos. Esta pesquisa de anticorpos, baseia-se em testes de triagem (ELISA) e na confirmação dos resultados, através de técnicas mais sofisticadas, como por exemplo, as de WESTERN BLOT, que utilizam como anticorpos os lisados virais totais acrescidos de peptídeos recombinantes derivados de proteína transmembranária.

Com base nos resultados dos testes de WESTERN BLOT (WB), os indivíduos são considerados: SOROPOSITIVOS, indivíduos em que se detectam anticorpos contra diversos antígenos virais, tanto do core (p24) como do envelope (gp46 ou r21-e). Tratam-se de portadores do vírus HTLV-I ou HTLV-II; INDETERMINADOS, pacientes que apresentam anticorpos séricos que reagem com alguns antígenos de HTLV-I/II, porém com padrão de reatividade incompleto, diferente dos soropositivos. Nestes, é preciso realizar testes moleculares mais sofisticados (PCR) para detectar segmentos do vírus nas células sanguíneas e, assim esclarecer se há ou não infecção por HTLV-I ou HTLV-II. Verifica-se, no entanto, após esta investigação adicional que a maioria dos soros-indeterminados não está infectada (LAL et al., 1992); NEGATIVOS, pacientes cujos soros não reagem com antígenos de HTLV e, portanto, não se encontram infectados.

O diagnóstico sorológico, baseado na reação de ELISA, embora confirme a infecção, não permite identificar o tipo de HTLV envolvido, devido a elevada sororreatividade cruzada entre HTLV-I e HTLV-II. Para saber a distinção entre HTLV-I/II, deve-se empregar testes sorológicos de última geração que utilizam nas reações de WESTERN BLOT peptídeos recombinantes, que representam epítópos tipo-específicos (LIPKA et al., 1992). O WESTERN BLOT 2.4, detecta além dos anticorpos contra peptídeos derivados da glicoproteína externa (gp46) que são específicos de HTLV-I (rgp46 I) ou de HTLV-II (rgp46 II), uma proteína do envelope, a GD21 um epítopo recombinante para HTLV-I/II.

Nesta pesquisa, foram analisadas 1.013 amostras (soros), de pacientes de ambulatórios do Hospital Universitário Walter Cantídio - UFC, com o objetivo de avaliar a prevalência de infecção por HTLV-I/II dessa população.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a detecção de anticorpos anti-HTLV-I/II, 1.013 amostras foram coletadas no período de Outubro de 1997 a Janeiro de 1998, de uma parte dos pacientes que eram encaminhados ao Laboratório Central de Análises Clínicas do HUWC-UFC para fazer exames rotineiros. Os pacientes eram submetidos a uma entrevista onde primeiramente era explicado o “porquê” e “para que” da pesquisa e colocado a não obrigatoriedade da participação e também os que já tivessem feito uso de sangue e/ou seus componentes não poderiam participar do estudo.

No protocolo de entrevista (Anexo I), estão contidas o máximo de informações à respeito do paciente entrevistado; informações estas quanto ao ambulatório de procedência (Geral ou Especializado), idade, estado civil, local de nascimento, informações sobre o aleitamento materno, uso de drogas e , ainda, informações sobre sua atividade sexual, lembrando que estas duas últimas questões deixaram muito a desejar, pois os pacientes eram entrevistados nas filas enquanto aguardavam o chamado da coleta, não existindo a privacidade de responder apenas para o entrevistador.

Após a entrevista, era feito uma marca no cartão de prontuário do paciente, a fim de não incorrer no erro daquele paciente entrar novamente na amostragem, caso o paciente tivesse que retornar ao laboratório. E por último, era entregue ao paciente um tubo de ensaio (vacutainer) , marcado com nome, data e número de ordem, que ele entregaria ao coletor na hora em que fosse chamado para a coleta de seus exames rotineiros. O sangue após a coagulação, era centrifugado, o soro separado e congelado para uso posterior (ELISA e WESTERN BLOT).

A idade dos pacientes variou entre o mínimo de 05 anos e o máximo de 86 anos, sendo 268 (26,5%) pertencentes ao sexo masculino e 745 (73,5%) do sexo feminino; 27 (2,7%) crianças menores de 15 anos e 986 (97,3%) adultos (Tabela I e Figura 1).

Quanto à procedência do ambulatório, a maior parte dos pacientes, ou seja, 256 (25,3%) dos 1.013, era de origem do Ambulatório Geral do HEMOCE, restando os 757 (74,7%) pacientes distribuídos entre os 22 ambulatórios especializados (Tabela II e Figura 2).

Os soros analisados inicialmente, pelo teste imunoenzimático qualitativo - ELISA (MUREX HTLV-I + II - GE80/81), um sanduíche sequencial de antígenos, selecionados para a máxima especificidade e sensibilidade para ambos HTLV-I/II, baseado em proteínas recombinantes derivadas de proteínas da transmembrana e peptídeos sintéticos do envelope de ambos HTLV-I e HTLV-II.

De acordo com o fabricante, resultados de densidade óptica (D.O) abaixo do *cut off* foram consideradas negativas. Aquelas acima do *cut off* foram consideradas positivas, ou seja, foram seguidas as recomendações do fabricante para a interpretação dos resultados.

Os resultados positivos pelo ELISA, teste de triagem, foram repetidos em duplicata. Os testes repetidamente positivos, foram submetidos a um segundo teste, o WESTERN BLOT (GENELABS DIAGNOSTICS - HTLV BLOT 2.4), teste confirmatório, para diferenciar o HTLV do tipo I do HTLV do tipo II.

O WESTERN BLOT é um teste imunoenzimático onde os peptídeos e glicopeptídeos antigênicos foram previamente separados, de acordo com o peso molecular por eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE) e transferidos para a membrana de nitrocelulose, que é o suporte do teste. A interpretação dos resultados é feita da análise da presença ou ausência de reatividade (anticorpos) nas bandas peptídicas. A ausência total de reatividade para as bandas específicas do HTLV-I/II, indica resultado negativo. Já o padrão de reatividade para concluir-se pela positividade, depende de critérios estabelecidos pelo fabricante.

Neste estudo foi utilizado o critério de positividade segundo o fabricante, ou seja, o paciente era considerado soropositivo para HTLV-I quando havia reatividade para as proteínas p19 ou p24 (gag) e reatividade para a GD21 e rgp46-I (env) ; soropositivo para HTLV-II, quando havia reatividade para a p24 (gag) e reatividade para a GD21 e rgp46-II (env); soropositivo para HTLV, quando havia reatividade para a p19 ou p24 (gag) e reatividade para a GD21 (env) e, finalmente, considerado INDETERMINADO, quando eram detectados bandas específicas para HTLV, mas não apresentava critérios para HTLV-I, HTLV-II ou HTLV soropositivo.

Os pacientes soropositivos pelo WESTERN BLOT serão posteriormente notificados, coletadas novas amostras, repetidos os testes e somente após confirmados os resultados, serão encaminhados para ambulatório especializado e receberem acompanhamento e aconselhamento familiar.

RESULTADOS

Das 1.013 amostras (soros) analisadas, 11 (1,08%) foram reativas no teste de triagem, ELISA. Nenhum resultado inconclusivo foi detectado neste teste. Essas 11 amostras foram submetidas a um segundo teste, WESTERN BLOT, teste confirmatório onde 02 (0,2%) foram soronegativas e 09 (0,89%) confirmadas a soropositividade. Dessa maneira, conferindo uma soropositividade de 1,08% e 0,9% aos testes de triagem (ELISA) e confirmatório (WESTERN BLOT), respectivamente (Figura 4). Desses 09 pacientes soropositivos pelo WESTERN BLOT , 03 (33,3%) eram do sexo masculino e 06 (66,7%) eram do sexo feminino.

Na Tabela III é apresentada a distribuição por sexo e idade dos pacientes soropositivos pelo WESTERN BLOT, teste considerado confirmatório no diagnóstico imunológico da infecção pelo HTLV-I/II. A Tabela III mostra também que 05 (55,6%) dos 09 pacientes soropositivos pelo WESTERN BLOT, compreendem a faixa etária entre 63 a 79 anos (Figura 3).

Com relação ao tipo de HTLV envolvido, das 09 amostras reativas pelo WESTERN BLOT, 04 (44,4%) foram sororreativas para o HTLV do tipo I, sendo 01 do sexo masculino e 03 do sexo feminino; 04 (44,4%) sororreativas para HTLV do tipo II, 01 pertencendo ao sexo masculino e 03 ao sexo feminino e, apenas 01 (9,2%) do sexo masculino, sororreativa para o HTLV (Tabela IV - Figura 5). Nenhum resultado indeterminado foi observado.

No que se refere ao sexo, o feminino teve uma maior frequência de soropositividade pelo WESTERN BLOT. (Figura 6)

Quanto ao ambulatório de origem, dos 09 pacientes sororreativos pelo WESTERN BLOT, 04 (44,5%) eram do Ambulatório Geral do HEMOCE; 02 (22,2%) do Ambulatório de Cardiologia; 01 (11,1%) do Ambulatório de Endocrinologia; 01 (11,1%) do Ambulatório de Oftalmologia e 01 (11,1%) do Ambulatório de Gastroenterologia. (Figura 7).

Tabela I - Distribuição por sexo e idade de 1.013 pacientes não transfundidos do ambulatório do HUWC-UFC, no período de outubro de 1997 a janeiro de 1998.

IDADE (anos)	MASC.	FEM.	TOTAL	%
05 - 14	13	14	27	2,7
15 - 22	33	70	103	10,2
23 - 30	33	104	137	13,5
31 - 38	29	118	147	14,5
39 - 46	41	116	157	15,5
47 - 54	43	128	171	16,9
55 - 62	26	87	113	11,1
63 - 70	27	65	92	9,1
71 - 78	20	30	50	4,9
79 - 86	03	13	16	1,6
TOTAL	268	745	1.013	100,0
%	26,5	73,5		

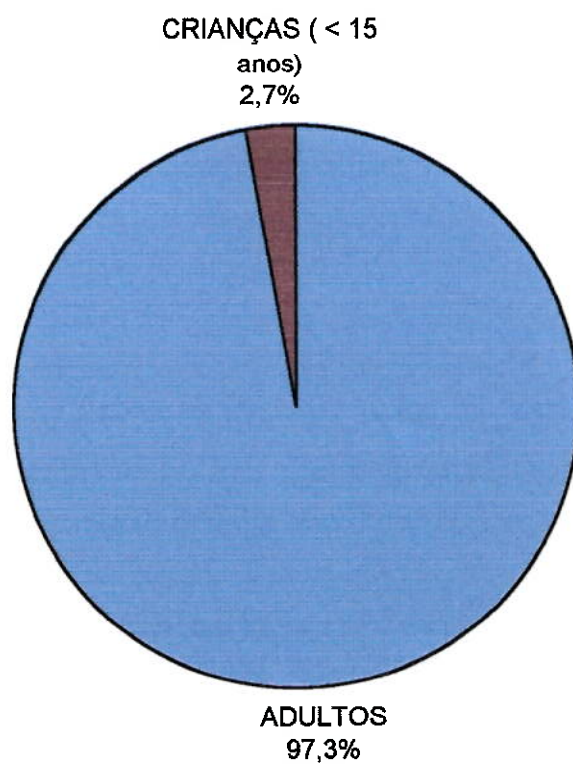


Figura 1 - Percentual de adultos e crianças dos 1.013 pacientes do ambulatório do HUWC-UFC.

Tabela II - Distribuição por sexo e ambulatório de pacientes não transfundidos do HUWC-UFC no período de outubro de 1997 a janeiro de 1998.

AMBULATÓRIO	MAS.	FEM.	TOTAL	%
ENDOCRINOLOGIA	37	151	188	18,5
OFTALMOLOGIA	1	5	6	0,6
CARDIOLOGIA	26	59	85	8,4
GERAL/HEMOCE	64	192	256	25,3
CLÍNICA MÉDICA	30	81	111	10,9
GASTROENTEROLOGIA	11	27	38	3,7
REUMATOLOGIA	9	51	60	5,9
OTORRINOLARINGOLOGIA	4	8	12	1,2
SERVIDOR/DIV. MÉDICA	8	19	27	2,7
UROLOGIA	0	1	1	0,1
NEUROLOGIA	5	10	15	1,5
HEPATOLOGIA	2	0	2	0,2
DERMATOLOGIA	23	64	87	8,6
PNEUMOLOGIA	4	13	17	1,7
CIRURGIA	22	23	45	4,4
TRAUMATOLOGIA	7	11	18	1,8
PEDIATRIA	1	3	4	0,4
PROCTOLOGIA	0	3	3	0,3
SUS	3	4	7	0,7
NEFROLOGIA	7	10	17	1,7
ESPECIALIDADE CLÍNICA	0	2	2	0,2
TRANSPLANTE RENAL	3	8	11	1,1
TOTAL	268	745	1013	100
%	26,5	73,5		

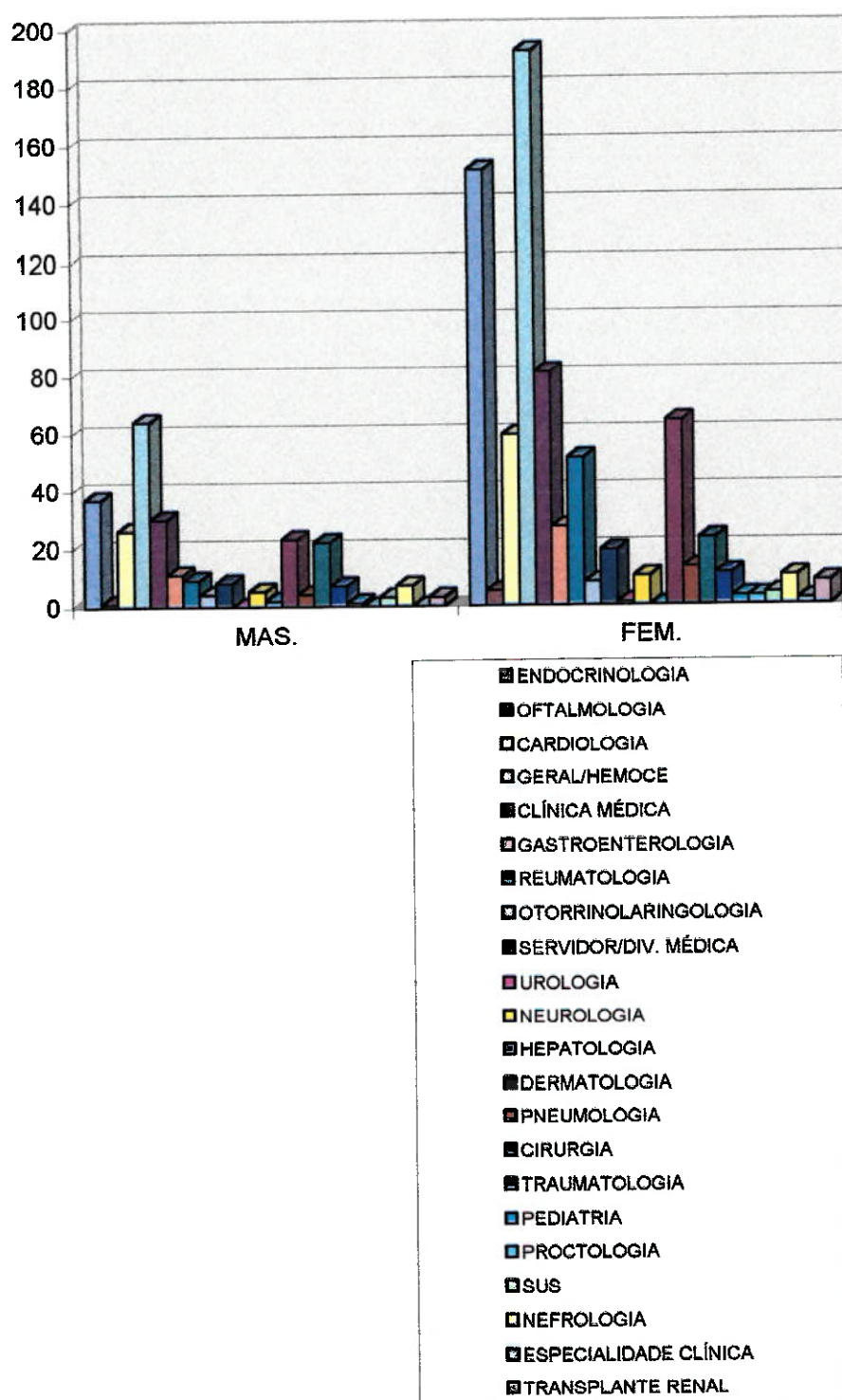


Tabela III - Distribuição por sexo e idade dos pacientes soropositivos pelo WESTERN BLOT.

IDADE (anos)	MASC.	FEM.	TOTAL	%
30 - 45	1	1	2	22,2
46 - 62	1	1	2	22,2
63 - 79	1	4	5	55,6
TOTAL	3	6	9	100,0
%	33,3	66,7		

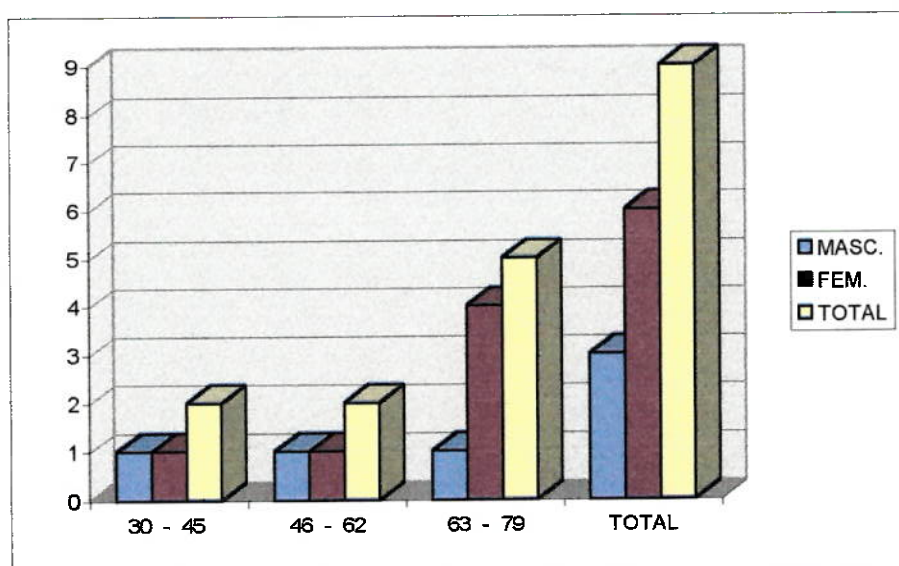


Figura 3 - Número absoluto de pacientes soropositivos pelo WESTERN BLOT segundo sexo e faixa etária.

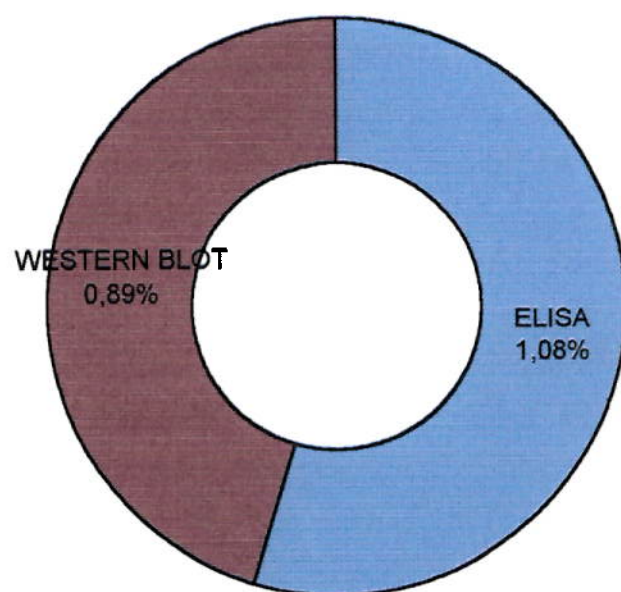


Figura 4 - Perfil sorológico dos testes de triagem, ELISA e confirmatório, WESTERN BLOT de pacientes infectados por anti-HTLV, obtidos em 1.013 pacientes do ambulatório do HUWC-UFC.

Tabela IV - Soropositividade de anticorpos anti-HTLV, pelo WESTERN BLOT, segundo sexo de 11 pacientes do ambulatório do HUWC-UFC, sororreativos pelo ELISA.

ANTICORPOS	MASC.	FEM.	TOTAL	%
anti-HTLV-I	1	3	4	36,4
anti-HTLV-II	1	3	4	36,4
anti-HTLV	1	0	1	9,1
NEGATIVO	1	1	2	18,1
TOTAL	4	7	11	100,0
%	9,1 (-) 27,3 (+)	9,1 (-) 54,5 (+)		

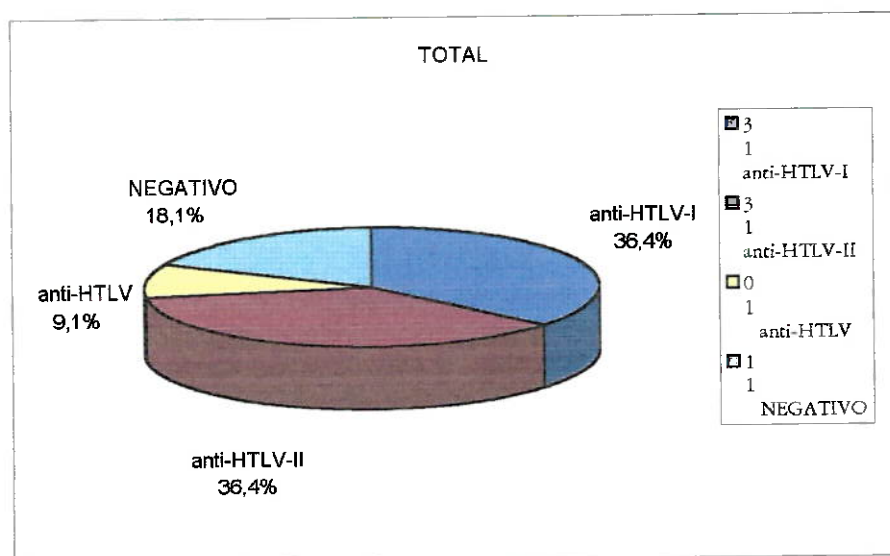


Figura 5 - Percentual de soropositividade do WESTERN BLOT segundo o tipo de anticorpos anti-HTLV em 11 pacientes sororreativos pelo ELISA.

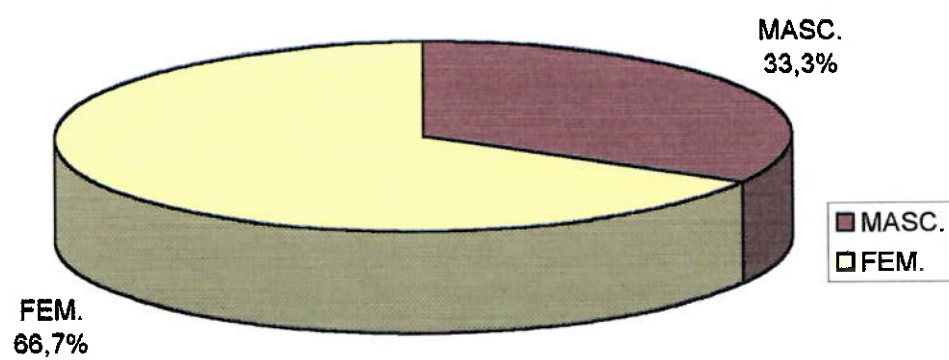


Figura 6 - Soropositividade de anti-HTLV, segundo sexo, em 09 amostras sororreativas pelo WESTERN BLOT.

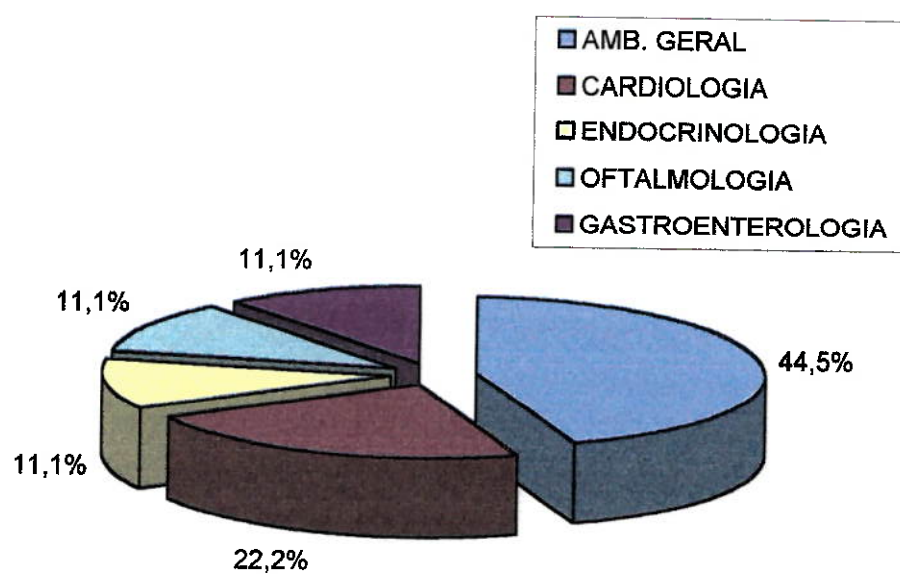


Figura 7 - Nº relativo de 09 pacientes sororreativos pelo WESTERN BLOT, segundo a procedência do ambulatório.

DISCUSSÃO

O estudo mostrou a prevalência da infecção por HTLV I e II, através do imunodiagnóstico, pela detecção de anticorpos séricos da população estudada.

A distribuição dos pacientes mostrou uma elevada frequência (73,5%) do sexo feminino (Figura 1), o que pode ser explicado pelo maior número de mulheres entrevistadas em relação aos homens.

Dos 1.013 soros analisados, 11(1,08%) foram reativos pelo ELISA e desses, 09 (0,89%) foram confirmados pelo WESTERN BLOT. Essa frequência é indicativa da prevalência da infecção por HTLV-I/II na população estudada, que é mais elevada que a relatada na literatura. Esse percentual alcançado, provavelmente se deva ao número insuficiente da população estudada.

O teste de triagem ELISA, mostrou resultados comparáveis ao teste confirmatório WESTERN BLOT, discordando em 18,2%, talvez devido a alta sensibilidade do teste de ELISA utilizado. No entanto, o teste de ELISA detectando apenas anticorpos anti-HTLV, não determinando o tipo envolvido, não atende as normas para a pesquisa de anticorpos anti-HTLV que se justifica pela busca de casos com novos perfis epidemiológicos.

A distribuição dos pacientes soropositivos pelo WESTERN BLOT (Tabela III), mostrou predominância do sexo feminino (55,6%) e confirmou que a faixa etária dos pacientes de 60 anos ainda é a mais afetada.

Considerando a importância do diagnóstico precoce da infecção por HTLV-I/II, os métodos de triagem devem permanecer de elevada sensibilidade e os resultados positivos nessa etapa devem ser analisados somente após a realização de métodos mais específicos, tais como WESTERN BLOT e PCR (Reação em Cadeia da Polimerase).

CONCLUSÃO

O estudo mostrou uma prevalência da infecção por HTLV I e II, através do imunodiagnóstico e constatou uma soropositividade de 0,89% pela detecção de anticorpos séricos na população estudada de 1.013 indivíduos.

SUMMARY

To assess the prevalence of HTLV-I and HTLV-II infection in patients of the Hospital Universitário Walter Cantídio-UFC ambulatory, serum specimens were collected from 1.013 patients no transfused were assayed by ELISA reaction and the positive cases by WESTERN BLOT, confirmatory test.

The group of patients were distributed as follows: 268 (26,5%) males with aged among 05-83 years old, 745 (73,5%) females with aged among 06-86 years old, 27 (2,7%) children (< 15 years old) and 986 (97,3) adults.

Of the 1.013 sera analysed, 11 (1,08%) were reactive to ELISA immunoassay, 09 (0,89%) of them reactive results and 02 (0,2%) seronegative by WESTERN BLOT analyse.

The frequency of the seropositive patients by WESTERN BLOT , indicated the prevalence females (55,6%) and aged of the patients more affected was 60 years old.

Of the 09 seroreactive patients by WESTERN BLOT, 04 (44,4%) were infected for HTLV-I, one male and three females; 04 (44,4%), infected for HTLV-II, one male and three females, and 01 (9,1%), a male patient, was seropositive for anti-HTLV antibody.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01 - CANAVAGGIO, M., LECKIE, G., ALLAIN, J.P., STEAFFEN, J.W., LAURIAN, Y., BRETTLE, D., LEE, H. The prevalence of antibody to HTLV-I/II in United States plasma donors and in United States and French hemophiliacs. *Transfusion*, v.30, p.780-2, 1990.
- 02 - EHRLICH, G.D., GLASER, J.B., LA VIGNE K., QUAN, D., MILDVAN, D., SNINSKY, J.J., KNOK, s., PAPSIDERO, L., POIESZ, B.J. Prevalence of human T-cell leukemia/lymphoma virus (HTLV) type II infection among high-risk individuals: type-specific identification of HTLVs by polymerase chain reaction. *Blood*, v.74, p.1658-64, 1989.
- 03 - FROMENT, A., DELAPORTE, E., DAZZA, M. C., LAROUZE, B. HTLV-II among pygmies from Cameroon. *AIDS Res. Hum. Retrov.*, v.8, p. 707, 1993.
- 04 - GESSAIN, A., BARIN, F., VERNANT, J.C., GOUT, O., MAURS, L., CALLENDER, A., DE-THE, G. Antibodies to human T-cell lymphotropic virus type I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet*, v.2, p.407-10, 1985.
- 05 - GOUBAU, P., DESMYTER, J., GHESQUIERE, J., KASEREKA, B. HTLV-II among pygmies. *Nature*, v.359, p.201, 1992.
- 06 - GOUBAU, P., LIU, H. F., DE LANGE, G.G., VANDAMME, A.M., DESMYTER, J. HTLV-II seroprevalence in pygmies across Africa since 1970. *AIDS Res. Hum. Retrov.*, v.9, p.709-13, 1993.
- 07 - GRACIA, F. HTLV-II among Guaymí Indians - Panama. *JAMA*, v.267, p.2163-4, 1992.

- 08 - HJELLE, B., MILLS, R., MERTZ, G., SWENSON, S.
Transmission of HTLV-II via blood transfusion. *Vox Sang*, v.59,
p.119-22, 1990.
- 09 - HJELLE, B., APPENZELLER, O., MILLS, R., ALEXANDER, S.,
TORREZ-MARTINEZ, N., JAHNKE, R., ROSS, G. Chronic
neurodegenerative disease associated with HTLV-II infection.
Lancet, v.339, p.645-6, 1992.
- 10 - JACOBSON, S., LEHKY, T., NISHIMURA, M., ROBINSON, S.,
MCFARLIN, D., DHIB-JALBUT, S. Isolation of HTLV-II
from a patient with chronic, progressive neurological disease
clinically indistinguishable from HTLV-I associated
myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Ann. Neurol.*, v.33,
p.392-6, 1993.
- 11 - JOHNSON, R.T., MCARTUR, Y.C., NARAYAN, O.
Retroviruses: classification biology and disease capacity. *FASEB*,
v.2, p.2970-2981, 1988.
- 12 - KALYANARAMAN, V.S., SARNGADHARAN, M.G.,
ROBERT-GUROFF, M., MIYOSHI, I., BLAYNEY, D.,
GOLDE, D., GALLO, R.C., A new subtype of Human T-cell
Leukemia Virus (HTLV-II) associated with a T-cell variant of
hairy cell leukemia. *Science*, v.218, p.571-3, 1982.
- 13 - KAPLAN, J.E., OSAME, M., KUBOTA, H. The risk of
development of HTLV-I associated myelopathy-tropical spastic
paraparesis among persons infected with HTLV-I. *J. Acquir.
Immun. Defic. Synd.*, v.3, p.1096-101, 1990.
- 14 - KHABBAZ, R.F., HARTEL, D., LAIRMORE, M.,
HORSBURGH, C.R., SHOENBAUM, E.E., ROBERTS, B.,
HARTLEY, T.M., FRIEDLAND, G., Human T Lymphotropic
Virus type II (HTLV-II) infection in a cohort of New York
intravenous drug users: an old infection? *J. Infect. Dis.*, v.163,
p.252-6, 1991.

- 15 - KONDO, T., NONAKA, K., MIYAMOTO, N. Incidence of adult T-cell leukemia-lymphoma and its familial clustering. *Int. J. Cancer*, v.35, p.749-51, 1985.

- 16 - LAL, R.B., RUDOLPH, D.L., COLIGAN, J.E., BRODINE, S.K., ROBERTS, C.R. Failure to detect evidence of Human T-cell Lymphotropic Virus (HTLV) type I and type II in blood donors with isolated gag antibodies to HTLV-I/II. *Blood*, v.80, p.544-50, 1992.

- 17 - LAL, R.B., OWEN, S.M., SEGURADO, A.A.C., GONGORA-BIANCHI, R.A. Mother-to-child transmission of Human T-cell Lymphotropic Virus type II (HTLV-II). *Arch. Intern. Med.*, v.120, p.300-1, 1994.

- 18 - LIPKA, J.J., MIYOSKI, I., HADLOCK, K.G., REYES, G.R., CHOW, T.P., BLATTNER, W.A., SHAW, G.M., HANSON, C.V., GALLO, D., CHAN, L., FOUNG, S.K.H. Segregation of Human T-cell Lymphotropic Virus types I and II infections by antibody reactivity to unique viral epitopes. *J. Infect. Dis.*, v.165, p.268-72, 1992.

- 19 - MALONEY, E.M., BIGGAR, R.J., NEEL, M.E. Endemic Human T-cell Lymphotropic Virus type II. Infection among isolated Brazilian Ameridians. *J. Infect. Dis.*, v.166, p.100-7, 1992.

- 20 - MOCHIZUKI, M., WATANABE, T., YAMAGUCHI, K., YOSHIMURA, K., NAKASHIMA, S., SHIRAO, M., ARAKI, S., TAKATSUKI, K., MORI, S., MIYATA, N. Uveitis associated with Human T-cell Lymphotropic Virus type I. *Am. J. Ophthalmol.*, v.114, p.123-9, 1992.

- 21 - MOROFUJI-HIRATA, M., KAJIYAMA, W., NAKASHIMA, K., NOGUCHI, A., HAYASHI, J., KASHIWAGI, S. Prevalence of antibody to Human T-cell Lymphotropic Virus type I Okinawa, Japan, after an interval of 9 years. *Am. J. Epidemiol.*, v.137, p.43-48, 1993.

- 22 - MURPHY, E.L., FIGUEROA, J.P., GIBBS, W.N.,
BRATHWAITE, A., HOLDING-COBHAM, M.,
WATERS, D., CRANSTON, B., HANCHARD, B.,
BLATTNER, W.A. Sexual transmission of Human T-cell
Lymphotropic Virus type I (HTLV-I). *Ann. Inter. Med.*,
v.111, p.555-60, 1989.
- 23 - MURPHY, E.L., HANCHARD, B., FIGUEROA, J.P., GIBBS,
W.N., LOFTER, W.S., CAMPBELL, M. Modeling the risk
of adult T-cell leukemia-lymphoma in persons infected with
Human T-cell Lymphotropic Virus type I. *Int. J. Cancer*, v.43,
p.250-3, 1989.
- 24 - OSAME, M., USUKU, K., IZUMO, S., IJICHI, N., AMITANI,
H., IGATA, A., MATSUMOTO, M., TARA, M. HTLV-I
associated mielopathy, a new clinical entity. *Lancet*, v.1,
p.1031-2, 1996.
- 25 - POIESZ, B.J., RUSCETTI, F.W., GAZDAR, A.F., BUNN,
P.A., MINNA, J.D., GALLO, R.C. Detection and isolation of
type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes
of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc. Natl. Acad.
Sci. USA*, v.77, p.7415-19, 1980.
- 26 - ROSENBLATT, J.D., PLAEGER-MARSHALL, S., GIORGI,
J.V., SWANSON, P., CHEN, I.S.Y., CHIN, E., WANG,
H.J., CANAVAGGIO, M., BLACK, A.C., LEE, H.
A clinical, hematologic and immunologic analysis of 21 HTLV-
II infected intravenous drug users. *Blood*, v.76, p.409-17,
1990.
- 27 - SAGI, F., OHASHI, K., TOKUGAWA, Y., KAMIURA, S.,
AZUMA, C., TANIZAWA, O. Perinatal infection of Human
T-cell Lymphotropic Virus type I, the etiologic virus of ATL/L.
DNA amplification of specific HTLV-I sequences. *Cancer*,
v.66, p.1933-7, 1990.

- 28 - SHAW, G.M., WONG-STALL, F., GALLO, C.R. Etiologia AIDS: Virologia, Biologia Molecular e Evolução dos Virus da Imunodeficiência Humana em AIDS, 2. ed., Editado por De Vita Jr, V.T., Hellman, S., Rosemberg, S.A. *Revinter*, p.12-13, 1991
- 29 - SODROSKI, J., PATARCA, R., PERKINS, D., BRIGGS, D., LEE, T.H., ESSEX, M., COLIGAN, J., WONG-STAL, F., GALLO, R.C., HASELTINE, W.A. Sequence of the envelope glycoprotein gene of type II Humann T-cell Lymphotropic Virus. *Science*, v.225, p.421-4, 1984.
- 30 - SULLIVAN, M.T., WILLIAMS, A.E., FANG, C.T., GRANDINETTI, T., POIESZ, B.J., EHRLICH, G.D. Transmission of Human T-cell Lymphotropic Virus types I and II bt blood transfusion. A retrospective study of blood recipients (1983 through 1988). *Arch. Intern. Med.*, v.151, p.2043-8, 1991.
- 31 - TAKATSUKI, K., YAMAGUCHI, K., KAWANO, F., HATTORI, T., NISHIMURA, H., TSUDA, H., SANADA, I., NAKADA, K., ITAI, Y. Clinical diversity in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Cancer Res.*, v.45 (suppl.), p.4644-5, 1985.
- 32 - TRUJILLO, J.M., CONCHA, M., MUNOZ, A., BERGONZOLLI, G., MORA, C., BARRETO, I., GIBBS, C.J. Jr., ARANGO, C. Seroprevalence and cofactors of HTLV-I infection in Tumaco, Colombia. *AIDS Res. Hum. Retrov.*, v.5, p.651-7, 1992.
- 33 - WATTEL, E., MARIOTTI, M., AGIS, F., GARDIEN, E., PROU, O., COUROUCE, A.M., ROUGER, P., WAIN-HOBSON, S., CHEN, I.S.Y., LEFRERE, J.J. Human T-cell Lymphotropic Virus (HTLV) type I and II DNA amplification in French West Indies. *J. Infect. Dis.*, v.165, p.369-72, 1992.

- 34 - YANAGIHARA, R., GARRUTO, R.M., MILLER, M.A.,
LEON-MONZON, M., LIBERSKI, P.P., GAJDUSEK, D.C.,
JENKINS, C.L., SANDERS, R.C., ALPERS, M. P. Isolation
of HTLV-I from members of a remote tribe in New Guinea,
N. Engl. J. Med., v.323, p. 993-4, 1990.
- 35 - YOSHIDA, M., SEIKI, M., YAMAGUCHI, K. Monoclonal
integration of human T-cell leukemia provirus in all primary
tumors of adult T-cell leukemia suggests causative role of
human T-cell virus in the disease. *Proc. Natl. Acad. Sci.*
USA, v.77, p.7415-19, 1980.
- 36 - ZANETTI, A.R., GALLI, C. Seroprevalence of HTLV-I and
HTLV-II. *N. Engl. J. Med.*, v.326, p.1783-4, 1992.

A N E X O S

ANEXO 1

**PESQUISA DE HTLV /III EM PACIENTES NÃO TRANSFUNDIDOS DO AMBULATÓRIO DO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO WALTER CANTÍDIO - UFC - HEMOCE**

Nº ORDEM SOROLOGIA: _____

1. DADOS PESSOAIS:

DATA DA COLETA: ____/____/____

NOME: _____

AMB. PROCEDÊNCIA: _____ Nº PRONTUÁRIO: _____

LOCAL E DATA DO NASC.: _____ - ____/____/____ IDADE: _____

DADOS CLÍNICOS: _____

OCUPAÇÃO: _____

ESTADO CIVIL: _____ SEXO: M () F ()

ENDEREÇO RESIDENCIAL: _____

CIDADE: _____ ESTADO: _____ TELEFONE (CONTATO): _____

FOI AMAMENTADO(A)? SIM () NÃO () AMAMENTOU(A)? SIM () NÃO ()

ATIVIDADE SEXUAL? SIM () NÃO () MONOGAMIA () POLIGAMIA ()

USO DE DROGAS? SIM () NÃO () JÁ FEZ USO ()

3. REAÇÃO SOROLÓGICA:

ELISA: REATIVO () NÃO REATIVO () INDETERMINADO () DATA: ____/____/____

LOTE: _____ FABRICANTE: _____

WESTERN BLOT: BANDAS PRESENTES: _____ CONCLUSÃO: _____

LOTE: _____ FABRICANTE: _____ DATA: ____/____/____

FRAÇÕES ANTIGÊNICAS:

GAG: p19, p24, p15 (Prot. Codificadoras), p28, p26, p32 (Intermediárias) e p53 (Precursor);

ENV: gp46 (Externa), gp21 (Transmembranária), rgp21, rgp46-I, rgp 46-II e gp 61/68 (Precursor).

CRITÉRIOS DE REATIVIDADE:

SOROPOSITIVO PARA HTLV: p19 ou p24, e GD21

SOROPOSITIVO PARA HTLV I: p19 ou p24, GD21 e rgp46-I

SOROPOSITIVO PARA HTLV II: p24, GD21 e rgp46-II

NEGATIVO: AUSÊNCIA DE BANDAS

INDETERMINADO - bandas específicas presentes sem critérios para determinar o tipo de HTLV.